

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 639 812**

51 Int. Cl.:

C07H 15/04 (2006.01)

C07H 5/02 (2006.01)

C07H 11/04 (2006.01)

C07H 13/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.01.2004 E 15161799 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.08.2017 EP 2940028**

54 Título: **Ciertos compuestos de fosfato de aminoalquil glucosaminida y sus usos**

30 Prioridad:

06.01.2003 US 438585 P

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

30.10.2017

73 Titular/es:

**CORIXA CORPORATION (100.0%)
Corporation Service Company 251 Little Falls
Drive
Wilmington, DE 19808, US**

72 Inventor/es:

JOHNSON, DAVID A.

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 639 812 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

Ciertos compuestos de fosfato de aminoalquil glucosaminida y sus usos

Referencia cruzada a aplicaciones relacionadas

5 Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud provisional de los Estados Unidos 60/438,585 presentada el 6 de enero de 2003, cuyo contenido se incorpora en este documento en su totalidad.

Antecedentes de la invención

10 Los receptores tipo Toll (TLR), se han relacionado con la potente respuesta inmune innata y reconocen los distintos componentes estructurales que son únicos a los patógenos; esta interacción impulsa al sistema inmune a un estado activado, con consecuencias a corto y largo plazo. Existe un interés significativo en el desarrollo de agonistas y antagonistas de TLR ya que la manipulación farmacológica de las respuestas inmunes innatas puede conducir a vacunas más efectivas y con novedosas metodologías terapéuticas para enfermedades autoinmunes, atópicas, malignas e infecciosas. El primer producto microbiano que se descubrió que era un agonista del receptor tipo Toll fue LPS, un componente de la membrana bacteriana específico de las bacterias gramnegativas, que activa el receptor tipo Toll 4 (TLR-4). Aunque el LPS es un potente agente inmunomodulador, su uso medicinal es limitado debido a su extrema toxicidad, incluyendo la inducción del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. La unidad subestructural endotóxica biológicamente activa de LPS es el lípido A, un disacárido de glucosamina acilado con ácido graso de forma múltiple, fosforilado que sirve para anclar toda la estructura en la membrana externa de bacterias gramnegativas. Los efectos tóxicos del lípido A se pueden mejorar mediante la modificación química selectiva del lípido A para producir compuestos monofosforilados del lípido A (MPL™ inmunostimulante; Corixa Corporation; Seattle, WA). Se han descrito métodos para fabricar y usar un inmunostimulante MPL™ y compuestos de estructura similar en un adyuvante de vacuna y otras aplicaciones (véanse, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos Nos. 4,436,727; 4,877,611; 4,866,034 y 4,912,094; 4,987,237; Johnson et al., J Med Chem 42:4640-4649 (1999); Ulrich and Myers, in Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach; Powell and Newman, Eds.; Plenum: New York, 495-524, 1995). En particular, estas y otras referencias demostraron que el inmunostimulante MPL™ y los compuestos relacionados tenían actividades adyuvantes significativas cuando se usaban en formulaciones de vacunas con antígenos de proteínas y carbohidratos para mejorar la inmunidad humoral y/o mediada por células a los antígenos e interactuar con receptores tipo Toll.

30 Basándose en la experiencia con el inmunostimulante MPL™ y otros componentes de la pared celular bacteriana, se desarrollaron una familia de nuevos compuestos sintéticos, los fosfatos de aminoalquil glucosaminida (AGP). Los compuestos AGP también interactúan con TLR-4, como agonistas y antagonistas. Los AGP incluyen tanto compuestos acíclicos como cíclicos (Patentes de los Estados Unidos Nos. 6,113,918, y 6,303,347, WO 98/50399 publicadas el 12 de octubre de 1998, WO 01/34617, publicada el 17 de mayo de 2001, WO 01/90129, publicada el 29 de noviembre de 2001, y WO 02/12258, publicada el 14 de febrero de 2002). Al igual que el inmunostimulante MPL™, se ha demostrado que estos compuestos conservan características adyuvantes significativas cuando se formulan con antígenos en composiciones de vacunas y, además, tienen perfiles de toxicidad similares o mejorados en comparación con el inmunostimulante MPL™. Los AGP también demuestran actividad adyuvante de la mucosa y son eficaces en ausencia de antígeno, haciéndolos compuestos atractivos para el uso profiláctico y/o terapéutico.

40 Otra ventaja significativa ofrecida por las AGP sobre el inmunostimulante MPL™ y similares es que las AGP se pueden producir fácilmente a escala comercial por medios sintéticos. Dado que se producen sintéticamente AGP están libres de contaminantes biológicos de trazas encontrados en MPL. Como tales AGP tendrían una ventaja sobre MPL como adyuvantes de vacunas en ciertos entornos, tales como en los protocolos de inmunización pediátrica en los que se debe minimizar la pirogenicidad del adyuvante. Sin embargo, debido a que las AGP son sintetizadas químicamente, una estabilidad del compuesto menor que la óptima puede conducir a la acumulación de productos de degradación que pueden resultar en una actividad biológica variable y estabilidad de un lote a otro lote. Desde el punto de vista del desarrollo de procedimientos GMP para la fabricación de materiales para ensayos clínicos en seres humanos, la estabilidad del lote y la variabilidad de un lote a otro lote son cuestiones importantes. Por lo tanto, son deseables los compuestos que tienen actividad biológica aumentada en comparación con el inmunostimulante MPL™ y similares, interactúan con receptores tipo toll y/o están optimizados para la síntesis de GPL a gran escala. La presente invención responde a estas necesidades y más proporcionando compuestos modificados para mejorar la actividad biológica, estabilidad con mayor resistencia a la degradación enzimática y química, y/o perfiles de seguridad mejorados.

Resumen de la invención

En un aspecto, esta invención comprende ciertos nuevos compuestos de fosfato aminoalquil glucosaminida, como se definen en este documento, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Descripción detallada de la invención

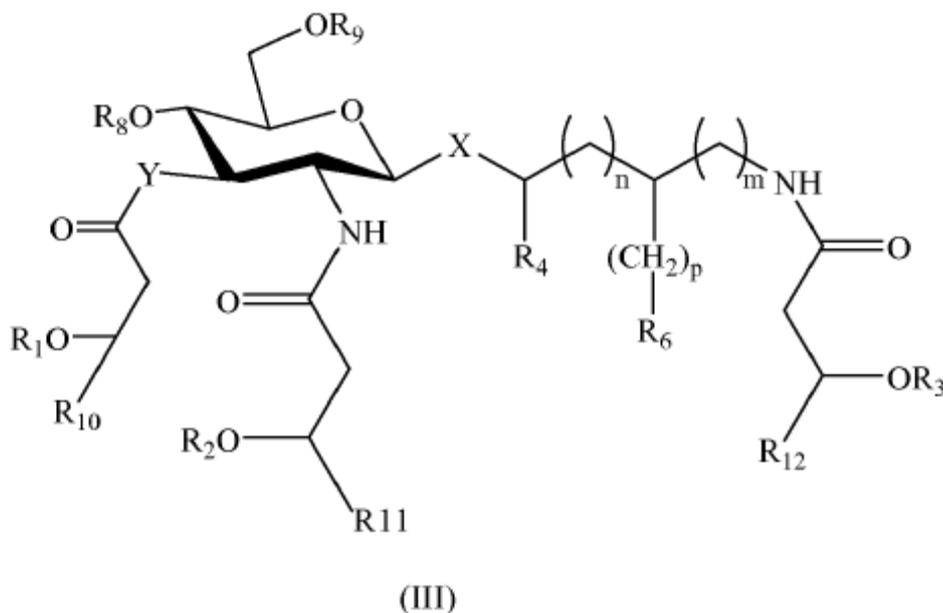
Los compuestos de la presente invención son miembros de la familia 4-fosfato aminoalquil glucosaminida (AGP). Como se describe a continuación, los compuestos de la invención presentan diversas modificaciones de las longitudes de las seis cadenas acilo (primarias y secundarias), modificaciones estructurales del brazo alquilo para incluir una unidad estructural fosfato, modificación estructural para incluir un lípido éter primario en la posición de azúcar C-3, así como tres lípidos de éteres secundarios, y/o un grupo de bloqueo 6-hidroxilo.

Conocidos químicamente como ω -aminoalquil 2-amino-2-desoxi-4-fosfono- β -D-glucopiranosidos las AGP son una clase de miméticos del lípido A sintéticos que está estructuralmente relacionado con el componente biológicamente activo principal del componente en lípido A monofosforilo. En las AGP el azúcar reductor ha sido reemplazado con una unidad aglicona de N-[(R)-3-n-alcanoiloxitetradecanoil] aminoalquilo. Al igual que otros derivados de lípidos A de disacárido, las AGP comprenden seis ácidos grasos para una actividad biológica máxima, pero a diferencia de los derivados de disacáridos, las AGP contienen una unidad de aglicona unida con β conformacionalmente flexible que permite el empaquetamiento cerrado energicamente favorable de las seis cadenas de acilo grasas. Se cree que un empaquetamiento apretado de seis ácidos grasos en una disposición hexagonal desempeña un papel esencial en la bioactividad de moléculas tipo lípido A (Seydel et al., Immunobiol; 187(3-5):191-211, 1993).

Los compuestos de la presente invención se consideran miembros de la familia AGP. Estos compuestos incluyen modificaciones de las longitudes de las seis cadenas acilo (primaria y secundaria).

Los compuestos de la invención son derivados del ácido (R)-3-alkiloxitetradecanoico. R_1 , R_2 y R_3 no son grupos acilo, sino son grupos alquilo de cadena lineal, haciendo los grupos R_1O -, R_2O - y R_3O - éter en lugar de los derivados del ácido carboxílico. En los compuestos de fórmula (III), R_1 , R_2 y R_3 son preferiblemente grupos alquilo C_6 - C_{10} . Pueden ser grupos iguales o diferentes, pero más preferiblemente son idénticos.

Tales compuestos tienen la fórmula general (III):



en la que X se selecciona del grupo que consiste en O y S en la posición axial o ecuatorial; Y se selecciona del grupo que consiste en O y NH; n y m son 0; R_1 , R_2 y R_3 son iguales o diferentes y son grupos alquilo de cadena lineal que tienen desde 1 a aproximadamente 20 átomos de carbono y donde uno de R_1 , R_2 o R_3 es opcionalmente hidrógeno; R_4 se selecciona del grupo que consiste en H y metilo; p es 1 y R_6 es COOH o p es 2 y R_6 es OPO₃H₂; R_8 y R_9 son iguales o diferentes y se seleccionan del grupo que consiste en fosfono e H, y al menos uno de R_8 y R_9 es fosfono; y R_{10} , R_{11} y R_{12} se seleccionan independientemente de grupos alifáticos saturados no sustituidos de cadena lineal que tienen desde 1 a 11 átomos de carbono;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

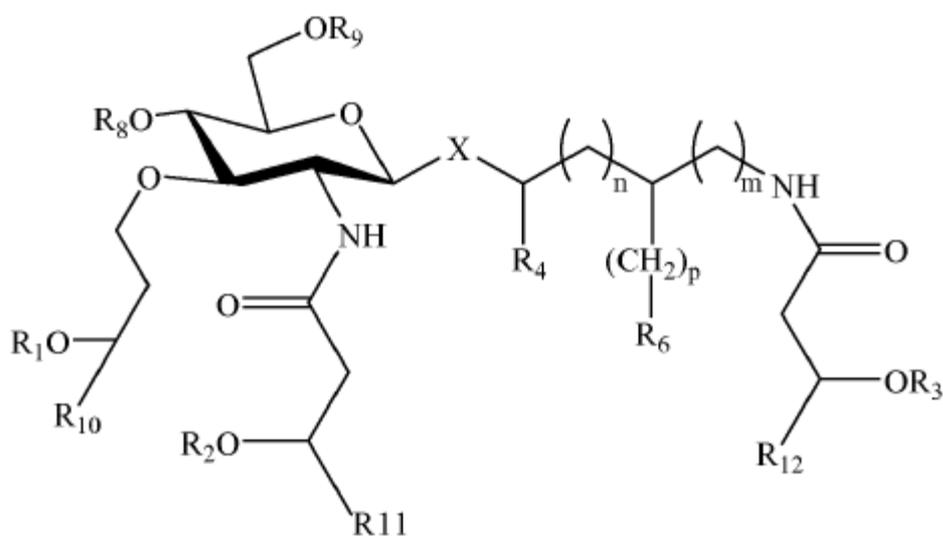
En realizaciones preferidas de los compuestos (III) de la invención,

- X y Y ambos son preferiblemente átomos de oxígeno;

- R_1 , R_2 y R_3 son más preferiblemente de forma independiente seleccionados de grupos alquilo de cadena lineal C_6 - C_{10} no sustituidos;

- grupos R_{10} , R_{11} y R_{12} son preferiblemente grupos alifáticos (esto es, alquilo) saturados no sustituidos que tienen desde 1 a 11, preferiblemente desde 3 a 9, más preferiblemente desde 3 a 7, átomos de carbono, y más preferiblemente son grupos alifáticos saturados no sustituidos idénticos que tienen desde 3 a 7 átomos de carbono.

Otro tipo más de compuesto de esta invención tiene la fórmula (IV):



(IV)

en la que Y ahora está fija como oxígeno; X se selecciona del grupo que consiste en O y S en la posición axial o ecuatorial; n y m son 0; R_1 , R_2 y R_3 son iguales o diferentes y son grupos alquilo de cadena lineal que tienen desde 1 a aproximadamente 20 átomos de carbono y donde uno de R_1 , R_2 o R_3 es opcionalmente hidrógeno; R_4 se selecciona del grupo que consiste en H y metilo; p es 1 y R_6 es $COOH$ o p es 2 y R_6 es OPO_3H_2 ; R_8 y R_9 son iguales o diferentes y se seleccionan del grupo que consiste en fosfona e H , y

al menos uno de R_8 y R_9 es fosfona; y R_{10} , R_{11} y R_{12} se seleccionan independientemente de grupos alifáticos saturados de cadena lineal no sustituida que tienen desde 1 a 10 átomos de carbono; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Estos compuestos tienen de este modo dos cadenas aciladas y una cadena éter no acilada.

En las realizaciones preferidas de los compuestos (IV) de la invención,

- X es preferiblemente oxígeno;

- R_1 , R_2 y R_3 son más preferiblemente de forma independiente seleccionados de grupos alquilo de cadena lineal C_6 - C_{10} no sustituidos;

- grupos R_{10} , R_{11} y R_{12} son preferiblemente grupos alifáticos (esto es, alquilo) saturados no sustituidos que tienen desde 1 a 10, preferiblemente desde 3 a 9, más preferiblemente desde 3 a 7, átomos de carbono, y más preferiblemente son grupos alifáticos saturados no sustituidos idénticos que tienen desde 3 a 7 átomos de carbono.

Estos compuestos tienen atributos que permiten la resistencia a un metabolismo desfavorable y/o hidrólisis acuosa. Se ha postulado que la eliminación selectiva de los ácidos grasos normales en moléculas de lípido A estructuralmente diversas por la aciloxiacilhidrolasa humana (AOAH) para producir el lípido IVa antagonista ha evolucionado como un mecanismo de defensa para reducir la toxicidad del lípido A (Erwin and Munford., J Biol Chem 265(27):16444-16449, 1990). Sin embargo, la mayor toxicidad del 3-D-MPL derivada naturalmente con respecto a la del componente hexaacil principal es probablemente debido a la presencia de componentes menos altamente acilados con estructuras distintas del lípido IVa (Ulrich and Myers, Monophosphoryl lipid A as an Adjuvant. Past experiences and new directions. In: Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach. Ed. Powell M.F., Newman M.J. Plenum Press, New York, 1995; p. 495-524, Johnson et al., J Med Chem; 42:4640-4649, 1999). La variabilidad estructural en 3-D-MPL y otras preparaciones de lípido A surge inherentemente de los LPS afines, así como de la escisión de éster durante los

procedimientos semisintéticos y de aislamiento. De hecho, se ha informado que la escisión hidrolítica fácil de grupos acilo unidos a éster durante la síntesis química de un lípido A de *R. capsulatus* putativo, un potente antagonista de la producción de TNF- α inducida por LPS, produce cantidades menores de subproductos agonistas indeseables, (Christ et al., Science; 268:80-83, 1995). De este modo, la inestabilidad química y/o enzimática puede ser el talón de Aquiles de un fármaco potencial basado en lípido A que contiene enlaces ésteres lábil. La inestabilidad química y metabólica de los ácidos grasos unidos a éster presentes tanto en las moléculas agonistas del lípido A como en las moléculas antagonistas se ha superado con análogos hidrolíticamente estables que llevan enlaces éter en lugar de ácidos grasos unidos a éster primario y/o secundario (Christ et al. supra, Lien et al., J Biol Chem; 276(3):1873-1880,2001).

El término "grupo protector" (representado en este documento por "PG") se refiere a cualquiera de un gran número de grupos usados para reemplazar el hidrógeno de un grupo hidroxilo, con el fin de bloquear, prevenir o reducir la reactividad del grupo. Ejemplos de grupos protectores (y una lista de abreviaturas comúnmente usadas para ellos) se pueden encontrar en T. W. Greene and P. G. Futs, "Protective Groups in Organic Chemistry" (Wiley), Beaucage and Iyer, Tetrahedron 48:2223 (1992) and Harrison et al., Compendium of Synthetic Organic Methods, vols. 1-8 (Wiley). Los grupos protectores de hidroxilo representativos incluyen aquellos en los que el grupo hidroxilo está ya sea acilado o alquilado, tal como mediante la formación de éteres o ésteres usando, por ejemplo, grupos metilo, acetilo, bencilo, tritilo, alquilo, tetrahidropiraniilo, alilo y siliilo trisustituídos o en el cual el grupo hidroxilo se reemplaza por flúor.

La elección de un grupo protector para un compuesto dado, propósito o conjunto de condiciones está dentro de la habilidad de los expertos en el arte, y se realiza para proteger, de forma general o selectiva, el grupo reactivo en cuestión en las condiciones imperantes (presencia de otros compuestos reactivos, pH, temperatura, etc.). Los grupos protectores que se pueden usar en esta invención incluyen grupos metilo, ftaloilo, acetilo (Ac), bencilo (Bn), 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo (Troc), t-butildimetilsililo (TBS), t-butildifenilsililo (TBDPS), y 2,2,2-tricloro-1,1-dimetiletil-cloroformilo (TCBOC). También se puede usar un átomo de flúor como grupo protector. Como es sabido en la técnica, un cierto grupo protector o tipo de grupo puede ser más apropiado que otros para uso con un compuesto particular o en una situación dada, y se aprovecha estas aptitudes en procedimientos de desarrollo que implican compuestos con grupos reactivos tales como hidroxilo.

Como se discute en este documento, el término "alifático" por sí mismo o como parte de otro sustituyente, significa, a menos que se indique lo contrario, un radical hidrocarburo cíclico o de cadena lineal o ramificada, o combinación de los mismos, que puede estar completamente saturado, mono- o poliinsaturado y puede incluir radicales di y multivalentes, teniendo el número de átomos de carbono designado (esto es, C₁-C₁₀ significa uno a diez carbonos). Ejemplos de radicales hidrocarburos saturados incluyen grupos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, sec-butilo, ciclohexilo, (ciclohexil) metilo, ciclopropilmetilo, homólogos e isómeros de, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo y similares. Un grupo alifático insaturado es uno que tiene uno o más dobles enlaces o triples enlaces. Ejemplos de grupos alifáticos insaturados incluyen vinilo, 2-propenilo, crotilo, 2-isopentenilo, 2-(butadienilo), 2,4-pentadienilo, 3-(1,4-pentadienilo), etinilo, 1- y 3-propinilo, 3-butinilo y los homólogos e isómeros superiores. Por lo general, un grupo alifático tendrá desde 1 a 24 átomos de carbono. Un grupo "alifático inferior" es un grupo alifático de cadena más corta, que generalmente tiene ocho o menos átomos de carbono.

El término "acilo" se refiere a un grupo derivado de un ácido orgánico por eliminación del grupo hidroxilo. Ejemplos de grupos acilo incluyen acetilo, propionilo, dodecanoilo, tetradecanoilo, isobutirilo y similares. De acuerdo con lo anterior, el término "acilo" como se usa en este documento pretende incluir un grupo definido de otra forma como -C(O)-alifático, donde el grupo alifático es preferiblemente un grupo alifático saturado.

Se entiende que el término "sales farmacéuticamente aceptables" incluye sales de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, dependiendo de los sustituyentes particulares encontrados en los compuestos descritos en este documento. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funciones relativamente ácidas, se pueden obtener sales de adición de bases poniendo en contacto la forma neutra de tales compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, ya sea pura o en un solvente inerte apropiado. Ejemplos de sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables incluyen sales de sodio, potasio, calcio, amonio, amino orgánico o magnesio, o una sal similar. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funciones relativamente básicas, se pueden obtener sales de adición de ácido poniendo en contacto la forma neutra de tales compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, ya sea puro o en un solvente inerte apropiado. Ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen aquellos derivados de ácidos inorgánicos como los ácidos clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrogenocarbónico, fosfórico, monohidrogenofosfórico, dihidrogenofosfórico, sulfúrico, monohidrogenosulfúrico, yodhídrico o fosforoso y similares, así como las sales derivadas de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos como los ácidos acético, propiónico, isobutírico, maleico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, láctico, mandélico, ftálico, bencenosulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, metanosulfónico y similares. También se incluyen sales de aminoácidos tales como arginato y similares, y sales de ácidos orgánicos como ácidos glucurónico o galacturónico y similares (véase, por ejemplo, Berge, S.M., et al, "Pharmaceutical Salts," Journal of Pharmaceutical Science, 66, 1-19, 1977). Ciertos compuestos específicos de la presente invención contienen funciones tanto básicas como ácidas que permiten que los compuestos se conviertan en ya sea sales de adición de base o de ácido.

Las formas neutras de los compuestos se pueden regenerar poniendo en contacto la sal con una base o un ácido y aislando el compuesto original de la manera convencional. La forma original del compuesto difiere de las diversas formas de sal en ciertas propiedades físicas, tales como la solubilidad en solventes polares, pero de otro modo las sales son equivalentes a la forma original del compuesto para los propósitos de la presente invención.

5 Además de las formas de sal, la presente invención proporciona compuestos que están en una forma de profármaco. Los profármacos de los compuestos descritos en este documento son aquellos compuestos que experimentan fácilmente cambios químicos en condiciones fisiológicas para proporcionar los compuestos de la presente invención. Además, los profármacos pueden convertirse en los compuestos de la presente invención mediante métodos químicos o bioquímicos en un entorno *ex vivo*. Por ejemplo, los profármacos se pueden convertir lentamente en los compuestos de la presente invención cuando se colocan en un depósito de parche transdérmico con una enzima o reactivo químico apropiado.

15 Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas, así como formas solvatadas, incluyendo formas hidratadas. En general, las formas solvatadas son equivalentes a formas no solvatadas y se pretende que estén incluidas dentro del alcance de la presente invención. Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son equivalentes para los usos contemplados por la presente invención y están destinadas a estar dentro del alcance de la presente invención.

Ciertos compuestos de la presente invención poseen átomos de carbono asimétricos (centros ópticos) o dobles enlaces; los racematos, diastereómeros, isómeros geométricos e isómeros individuales están destinados a estar comprendidos dentro del alcance de la presente invención.

20 Los compuestos de la presente invención también pueden contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más de los átomos que constituyen tales compuestos. Por ejemplo, los compuestos se pueden radiomarcarse con isótopos radiactivos, tales como por ejemplo tritio (^3H), yodo-125 (^{125}I) o carbono-14 (^{14}C). Se pretende que todas las variaciones isotópicas de los compuestos de la presente invención ya sean radiactivas o no, estén incluidas dentro del alcance de la presente invención.

25 Los compuestos de la presente invención se pueden preparar por cualquier medio apropiado; véase la sección de ejemplo a continuación, muchos de los cuales han sido descritos. Por ejemplo, los procedimientos para preparar ciertos compuestos útiles en la presente invención se describen en la Patente de los Estados Unidos No. 6,113,918; la Patente de los Estados Unidos No. 6,303,347; y PCT/US98/09385 (WO 98/50300, 12 de octubre de 1988). Otros compuestos más se pueden preparar usando los métodos descritos en Johnson, et al., *J. Med. Chem.* 42:4640-4649 (1999), Johnson, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9:2273-2278 (1999), y PCT/US98/50399 (WO 98/50399, 12 de noviembre de 1998). En general, los métodos sintéticos descritos en las referencias anteriormente mencionadas y otros métodos sintéticos de otro modo conocidos en la técnica son ampliamente aplicables a la preparación de estos compuestos. Por ejemplo, al preparar compuestos que tienen diferentes grupos acilo y sustituciones, los expertos en el arte apreciarán que los métodos convergentes descritos en el mismo se pueden modificar para utilizar agentes acilantes alternativos, o se pueden iniciar con materiales comercialmente disponibles que tienen grupos acilo apropiados unidos.

30 En las composiciones para provocar o potenciar una respuesta inmune, los compuestos de la presente invención se administran a un animal de sangre caliente, incluyendo seres humanos, con un antígeno tal como una proteína o antígeno polipéptido o un polinucleótido que expresa una proteína o antígeno polipéptido. La cantidad de antígeno administrado para obtener una respuesta deseada puede ser determinada fácilmente por un experto en el arte y variará con el tipo de antígeno administrado, ruta de administración y programa de inmunización.

35 Los compuestos de la presente invención también se pueden administrar sin un antígeno exógeno, para obtener protección inmediata mediante un efecto de resistencia no específico, como se describe a continuación; véase Persing *et al.*, WIPO Publication WO 01/90129, 29 de noviembre de 2001. Se pueden usar compuestos que tienen la capacidad de estimular una resistencia no específica y/o provocar un efecto adyuvante en la formulación rápida de vacuna. La administración de compuestos de la presente invención con antígeno conduce a una respuesta inmune de mucosa adquirida dentro de tres a cuatro semanas. La administración semanal de tales compuestos, por vía intranasal, por ejemplo, durante un período de cuatro semanas proporcionaría una protección rápida y duradera combinando la protección proporcionada por la respuesta inmune innata inicial, seguida por la respuesta inmune adquirida al antígeno de interés.

40 Los compuestos de la presente invención se pueden evaluar en una variedad de formatos de ensayo para identificar y seleccionar aquellos que tienen las características más adecuadas para una aplicación dada de la invención. Por ejemplo, se puede usar modelos animales para identificar y evaluar perfiles de liberación de citoquinas en circulación sistémica tras la administración de un compuesto de la presente invención. Además, existen varios modelos *in vitro* e *in vivo* para examinar cambios en uno o más aspectos de una respuesta inmune a diferentes componentes antigénicos con el fin de identificar los compuestos más adecuados para provocar una respuesta inmune específica de interés. Por ejemplo, un compuesto se puede poner en contacto con células diana, tales como macrófagos, células dendríticas o células de Langerhans *in vitro*, y se pueden medir citoquinas elaboradas. Además, las matrices de expresión génica se pueden usar para identificar vías específicas activadas o inhibidas por un compuesto particular de interés.

- La inducción/producción de citoquinas se puede determinar usando tratamiento de sangre humana y/o células con compuestos de la presente invención y medición de inducción por ELISA (R & D Systems). Tales métodos también se pueden usar para determinar si la inducción es dependiente del receptor Toll. La respuesta de linfocitos T citotóxicos después de la administración de los compuestos de la presente invención se determina mediante un ensayo de citotoxicidad basado en ⁵¹Cr. Si se desea, el rendimiento del compuesto de la invención a este respecto se puede comparar con otros compuestos conocidos por ser funcionales a este respecto, tales como lípido A, MPL, AGP o similares. Además, los compuestos de la invención se pueden evaluar en combinación con uno o más agentes adyuvantes y/o inmunomoduladores para identificar efectos sinérgicos (véanse por ejemplo las Patentes de los Estados Unidos Nos: 6,303,347 y 6,113,918, y WO 01/90129, publicadas el 29 de noviembre de 2001).
- Modelos animales tales como el modelo de desafío de influenza de murino y el modelo de desafío de *Listeria monocytogenes* de murino son útiles para evaluar la actividad adyuvante e inmunomoduladora. En resumen, el compuesto se administra seguido de un desafío de influenza o *L. monocytogenes*. El índice de enfermedad (pelo rizado, postura encorvada y respiración laboriosa), pérdida de peso y mortalidad, en el caso de influenza o número de unidades formadoras de colonias en los bazos de ratones tratados/no tratados, en el caso de *L. monocytogenes* se controla como indicación de protección proporcionada por la administración del compuesto de la invención (véase, por ejemplo, WO 01/90129 publicado el 29 de noviembre de 2001).

Composiciones farmacéuticas y métodos

- Se entenderá que, si se desea, los compuestos descritos en este documento se pueden administrar en combinación con otras modalidades terapéuticas, tales como compuestos o terapias antimicrobianas, antivirales y antifúngicos, diversos agentes terapéuticos basados en ADN, agentes terapéuticos basados en ARN, y/o con otros inmunofactores. De hecho, también se puede incluir esencialmente cualquier otro componente, dado que el componente o componentes adicionales no producen un efecto adverso significativo al contacto con las células diana o tejidos huésped. Las composiciones de este modo se pueden entregar junto con varios otros agentes según se requiera o se desee para la(s) realización(es) específica(s) de la invención que se está implementando. Ilustrativamente, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden incluir, o se pueden usar conjuntamente con, ADN que codifica una o más proteínas terapéuticas, ARN antisentido, ribozimas o similares.

- Los compuestos de la invención y composiciones que los comprenden se pueden administrar conjuntamente con un antígeno, para proporcionar un efecto adyuvante o potenciador del antígeno, esto es, para potenciar la respuesta inmune del paciente o sujeto. También, los compuestos y composiciones se pueden administrar en ausencia de antígeno exógeno, para el efecto terapéutico del propio compuesto.

- Cuando el compuesto o composición se administra sin antígeno exógeno, se proporcionan métodos para tratar, mejorar y/o prevenir sustancialmente enfermedades infecciosas en sujetos eucariotas, particularmente en animales, preferiblemente en seres humanos. Dada la importancia de la señalización mediada por TLR en la respuesta inmune innata a la estimulación microbiana, la capacidad para estimular tales vías de forma selectiva y con toxicidad mínima representa un enfoque potente para las modalidades de tratamiento profiláctico y/o terapéutico frente a una amplia gama de agentes infecciosos.

- Los métodos descritos en este documento son aplicables contra esencialmente cualquier tipo de agente infeccioso, incluyendo bacterias, virus, parásitos y hongos. Ilustrativamente, la invención es útil para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de infecciones bacterianas por especies de *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Serratia*, *Candida*, *Staphylococci*, *Streptococci*, *Chlamydia*, *Mycoplasma* y muchos otros. Las condiciones víricas ilustrativas que se pueden tratar de acuerdo con la invención incluyen las causadas, por ejemplo, por virus influenza, Adenovirus, virus parainfluenza, Rhinovirus, virus sincitial respiratorio (RSV), virus Herpes, Citomegalovirus, virus de Hepatitis, por ejemplo, virus de Hepatitis B y C, y otros. Los hongos ilustrativos incluyen, por ejemplo, *Aspergillus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides immitis*, y otros.

- Se describen en este documento métodos para el tratamiento de sujetos, particularmente sujetos inmunocomprometidos que se han desarrollado o están en riesgo de desarrollar infecciones, tales como infecciones nosocomiales bacterianas y virales. Aproximadamente 2 millones de los 40 millones de personas hospitalizadas cada año desarrollan infección nosocomial durante su estancia y aproximadamente 1% de estos, o aproximadamente 400,000 pacientes, desarrollan neumonía nosocomial, de los cuales más de 7000 mueren. Esto hace que la neumonía nosocomial sea la principal causa de muerte en las infecciones hospitalarias. De este modo, esta realización satisface una necesidad significativa de enfoques profilácticos eficaces en el tratamiento de infecciones nosocomiales.

- Se describen en este documento tratamientos profilácticos para pacientes inmunocomprometidos, tales como pacientes VIH positivos, que han desarrollado o están en riesgo de desarrollar neumonía por una infección oportunista o por la reactivación de una infección suprimida o latente. En 1992, aproximadamente 20,000 casos de infecciones por *Pneumocystis carinii* en pacientes con AIDS se informaron sólo en los Estados Unidos. Además, el 60-70% de todos los pacientes con AIDS reciben *P. carinii* en algún momento durante su enfermedad. De este modo, la presente invención en esta realización proporciona métodos profilácticos eficaces para esta población en riesgo.

Se describen en este documento métodos para tratar otras poblaciones de pacientes que pueden estar inmunocomprometidos y/o en riesgo de desarrollar enfermedades infecciosas, incluyendo, por ejemplo, pacientes con fibrosis quística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y otros pacientes inmunocomprometidos y/o institucionalizados.

5 Los compuestos y composiciones descritos en este documento se pueden emplear (sin un antígeno exógeno) en métodos para tratar, mejorar o prevenir sustancialmente trastornos y condiciones alérgicas, tales como sinusitis, rinosinusitis crónica, asma, dermatitis atópica y psoriasis. Este enfoque se basa al menos en parte en la capacidad de los compuestos para activar la producción de citoquinas a partir de células diana que pueden competir con respuestas estereotípicas de citoquinas de tipo alérgico caracterizadas por la producción de IL-4 o hiperreactividad a la actividad de
10 IL-4. La administración de algunos de los compuestos mono- y disacáridos descritos en la presente invención resultan en la expresión de IFN-gamma e IL-12 a partir de células que procesan y presentan el antígeno, así como otras células, dando como resultado una expresión inhibida de citoquinas asociadas con respuestas alérgicas tales como IL-4, 5, 6, 10 y 13.

15 Los compuestos y composiciones descritos en este documento se emplean (sin antígeno exógeno) en métodos para tratar enfermedades y afecciones autoinmunes. Los compuestos para uso en esta realización se seleccionarán por lo general entre aquellos capaces de antagonizar, inhibir o modular de otro modo negativamente uno o más receptores de tipo Toll, en particular Tlr2 y/o Tlr4, de manera que una respuesta autoinmune asociada con una condición dada sea mejorada o sustancialmente impedida. Ilustrativamente, los métodos proporcionados por esta realización se pueden usar en el tratamiento de afecciones tales como enfermedad inflamatoria intestinal, artritis reumatoide, artritis crónica,
20 esclerosis múltiple y psoriasis.

Los compuestos de la presente invención también se pueden usar como adyuvantes e inmunoefectores que mejoran la generación de anticuerpos en animales inmunizados, estimulan la producción de citoquinas y estimulan una respuesta inmune mediada por células incluyendo una respuesta de linfocitos T citotóxicos.

25 En los métodos, por ejemplo, para causar la respuesta inmune de un individuo, los compuestos y composiciones descritos en este documento se pueden formular con un portador farmacéuticamente aceptable para inyección o ingestión. Como se usa en este documento, "portador farmacéuticamente aceptable" significa un medio que no interfiere con la actividad inmunomoduladora del ingrediente activo y no es tóxico para el paciente al que se administra. Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen emulsiones de aceite en agua o de agua en aceite, composiciones acuosas, liposomas, micropelotas y microsomas. Por ejemplo, el portador puede ser una microesfera o micropartícula que tiene un compuesto de esta invención dentro de la matriz de la esfera o partícula o adsorbida sobre la superficie de la esfera o partícula. El portador puede ser también una solución acuosa o dispersión micelar que contiene trietilamina, trietanolamina u otro agente que hace que la formulación sea de naturaleza alcalina, o una suspensión que contenga hidróxido de aluminio, hidróxido de calcio, fosfato de calcio o adsorbato de tirosina. Los portadores también pueden incluir todos los solventes, medios de dispersión, vehículos, recubrimientos, diluyentes, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción, soluciones reguladoras, soluciones portadoras, suspensiones, coloides y similares. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticas activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas.

40 Las formulaciones de los compuestos de la presente invención que se pueden administrar por vía parenteral, esto es, por vía intraperitoneal, subcutánea o intramuscular, incluyen los siguientes portadores preferidos. Ejemplos de portadores preferidos para uso subcutáneo incluyen una solución salina reguladora de fosfato (PBS) y 0.01-0.1% de trietanolamina en agua USP para inyección. Los portadores apropiados para inyección intramuscular incluyen etanol USP al 10%, propilenglicol al 40% y el resto una solución isotónica aceptable tal como dextrosa al 5%.

45 Ejemplos de portadores preferidos para uso intravenoso incluyen etanol USP al 10%, propilenglicol USP al 40% y el resto agua USP para inyección. Otro portador aceptable incluye etanol USP al 10% y agua USP para inyección; otro portador aceptable más es 0.01-0.1% de trietanolamina en agua USP para inyección. Los solventes parenterales farmacéuticamente aceptables son tales que proporcionan una solución o la dispersión se puede filtrar a través de un filtro de 5 micras sin eliminar el ingrediente activo.

50 Un método preferido de administración de las composiciones de esta invención es la administración a través de la mucosa, particularmente la administración intranasal o la administración por inhalación (administración pulmonar). La administración pulmonar de fármacos se puede conseguir mediante varios enfoques diferentes, incluyendo nebulizadores líquidos, inhaladores de dosis medidas a base de aerosoles (MDI), y dispositivos de dispersión en polvo seco. Las composiciones para uso en administraciones de este tipo son por lo general polvos secos o aerosoles. Para la administración de aerosoles, que es el método preferido de administración de esta invención, las composiciones se suministran por inhaladores, algunos de los cuales se describen a continuación.
55

Los polvos secos contienen, además del ingrediente activo, un portador, un potenciador de la absorción, y opcionalmente otros ingredientes. El portador es, por ejemplo, un mono-, di- o polisacárido, un alcohol de azúcar u otro poliol. Los portadores apropiados incluyen lactosa, glucosa, rafinosa, melezitosa, lactitol, maltitol, trehalosa, sacarosa,

manitol; y almidón. La lactosa es particularmente preferida, especialmente en forma de su monohidrato. También se incluyen agentes mejoradores de la absorción tales como polipéptidos, surfactantes, alquil glucósidos, sales de amina de ácidos grasos o fosfolípidos. Los ingredientes de la formulación deben estar por lo general en una forma finamente dividida, esto es, su diámetro medio en volumen debe ser generalmente de aproximadamente 30 a aproximadamente 200 micras, medido por un instrumento de difracción de láser o un contador de cuchillas. El tamaño de partícula deseado se puede producir usando métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, molienda, micronización o precipitación directa.

La vía de administración intranasal proporciona numerosas ventajas sobre muchas otras formas de administración para los compuestos de esta invención. Por ejemplo, una ventaja de la administración intranasal es la conveniencia. Un sistema inyectable requiere la esterilización de la jeringa hipodérmica y en el marco institucional, conduce a las preocupaciones entre el personal médico sobre el riesgo de contraer la enfermedad por ser accidentalmente atascado por una aguja contaminada. También se deben imponer requisitos estrictos para la eliminación segura de la aguja y la jeringa usadas en el entorno institucional. Por el contrario, la administración intranasal requiere poco tiempo por parte del paciente y del personal médico asistente, y es mucho menos onerosa en la institución que los inyectables.

Una segunda ventaja importante de la administración intranasal es la aceptación por parte del paciente del sistema de administración de fármacos. La administración intranasal se percibe como no invasiva, no se acompaña de dolor, no tiene efectos secundarios significativos y produce la gratificación del alivio inmediato en el paciente que presenta el síntoma. Esto es particularmente ventajoso cuando el paciente es un niño. Otra consideración importante es que el paciente puede autoadministrarse la(s) dosis prescrita(s) de pulverización nasal.

Para la administración intranasal, las composiciones de esta invención se pueden formular como líquidos o como sólidos. Dichas composiciones pueden contener uno o más adyuvantes, agentes para aumentar la absorción de los ingredientes activos por permeación a través de la membrana nasal, y (para composiciones líquidas) un diluyente acuoso, por ejemplo, agua. Alternativamente, el diluyente puede comprender una solución reguladora acuosa tal como solución reguladora de fosfato. La composición puede además opcionalmente incluir uno o más alcoholes polihídricos y uno o más agentes conservantes tales como, por ejemplo, gentamicina, bacitracina (0.005%) o cresol. Las composiciones se pueden administrar a la cavidad nasal en forma de pulverización usando un atomizador, nebulizador, pulverizador, cuentagotas u otro dispositivo que asegure el contacto de la solución con la membrana mucosa nasal. El dispositivo puede ser simple, tal como un pulverizador nasal simple que puede ser usado por el paciente, o puede ser un instrumento más elaborado para una dispensación más precisa de las composiciones, que se puede usar en el consultorio de un médico o en un centro médico.

Las composiciones de polvo nasal se pueden preparar mezclando el agente activo y el excipiente, ambos que poseen el tamaño de partícula deseado. En primer lugar, se prepara una solución del agente activo y los excipientes de ciclodextrina, seguido de precipitación, filtración y pulverización. También es posible eliminar el solvente por liofilización, seguido por la pulverización del polvo en el tamaño de partícula deseado usando técnicas convencionales, conocidas de la literatura farmacéutica. La etapa final es la clasificación por tamaño, por ejemplo, mediante tamizado, para obtener partículas que tienen preferiblemente entre 30 y 200 micras de diámetro. Los polvos se pueden administrar usando un insuflador nasal, o se pueden colocar en una cápsula fijada en un dispositivo de inhalación o de insuflación. Se penetra una aguja a través de la cápsula para hacer poros en la parte superior y el fondo de la cápsula y se envía aire para soplar las partículas de polvo. La formulación en polvo también se puede administrar en una pulverización por chorro de un gas inerte o suspendido en fluidos orgánicos líquidos.

La composición farmacéutica se puede administrar en un sistema de liberación controlada o sostenida. En una realización, se puede usar una bomba para conseguir una liberación controlada o sostenida (véase Langer, Science, 249:1527-1533 (1990); Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:10; Buschwald et al., 1980, Surgery 88:507; Saudek et al., 1989 N. Engl. J. Med. 321:574). En otra realización, se pueden usar materiales poliméricos para conseguir la liberación controlada o sostenida del agonista del receptor opioide κ y/o antagonista opioide (véase, por ejemplo, Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Florida 1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, 1983, J. Macromol. Sci. Rev. Macrol. Chem. 23:61; véase también Levy et al., 1985 Science 228:190; During et al., 1989, Ann. Neurol. 25:351; Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 7 1:105; la Patente de los Estados Unidos No. 5,679,377; la Patente de los Estados Unidos No. 5,916,597, la Patente de los Estados Unidos No. 5,912,015; la Patente de los Estados Unidos No. 5,989,463; la Patente de los Estados Unidos No. 5,128,326; Publicación PCT No. WO 99/12154; y Publicación PCT No. WO 99/20253). Ejemplos de polímeros usados en formulaciones de liberación sostenida incluyen, pero no se limitan a, poli(2-hidroxi metacrilato de etilo), poli(metacrilato de metilo), poli(ácido acrílico), poli(acetato de etileno-co-vinilo), poli(ácido metacrílico), poliglicólidos (PLG), polianhídridos, poli(pirrolidona de N-vinilo), poli(alcohol de vinilo), poli(acrilamida), poli(etileno glicol), poliláctidos (PLA), poli(láctido-co-glicólidos)(PLGA), y poliortoésteres. En una realización preferida, el polímero usado en una formulación de liberación sostenida es inerte, libre de impurezas lixiviables, estable al almacenamiento, estéril y biodegradable. En otra realización más, se puede colocar un sistema de liberación controlada o sostenida en la proximidad de la diana terapéutica, requiriendo de este modo sólo una fracción de la dosis sistemática (véase, por ejemplo, Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138 (1984)).

Los portadores para uso con tales composiciones farmacéuticas son biocompatibles, y también pueden ser biodegradables. En ciertas realizaciones, la formulación proporciona preferiblemente un nivel relativamente constante de liberación del componente activo. En otras realizaciones, sin embargo, se puede desear una velocidad de liberación más rápida inmediatamente después de la administración. La formulación de tales composiciones está perfectamente dentro del nivel de conocimientos ordinarios en el arte usando técnicas conocidas. Los portadores ilustrativos útiles a este respecto incluyen micropartículas de poli(láctido-co-glicólido), poliacrilato, látex, almidón, celulosa, dextrano y similares. Otros portadores ilustrativos de liberación retardada incluyen biovectores supramoleculares, que comprenden un núcleo hidrofílico no líquido (por ejemplo, un polisacárido reticulado u oligosacárido) y, opcionalmente, una capa externa que comprende un compuesto anfílico, tal como un fosfolípido (véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos No. 5,151,254 y solicitudes PCT WO 94/20078, WO/94/23701 y WO 96/06638). La cantidad de compuesto activo contenida dentro de una formulación de liberación sostenida depende del sitio de implantación, de la velocidad y de la duración esperada de la liberación y de la naturaleza de la afección que se va a tratar o prevenir.

Los compuestos de la presente invención se administran a un individuo en una cantidad eficaz o una cantidad farmacéuticamente eficaz, para causar o mejorar la respuesta inmune del individuo. Como se usa en este documento, "cantidad eficaz" o "cantidad farmacéuticamente eficaz" es la cantidad que muestra una respuesta sobre y por encima del vehículo o controles negativos. Una "cantidad eficaz de adyuvante" es la cantidad del compuesto en cuestión que, cuando se administra junto con un antígeno, muestra una respuesta sobre y por encima de la producida por el antígeno solo. La dosificación precisa de los compuestos de la presente invención que se va a administrar a un paciente dependerá del compuesto particular usado, de la ruta de administración, de la composición farmacéutica y del paciente. Por ejemplo, cuando se administra subcutáneamente para mejorar una respuesta de anticuerpo, la cantidad de compuesto usado es desde 1 a aproximadamente 250 microgramos, preferiblemente desde aproximadamente 25 a aproximadamente 50 microgramos basado en la administración a un típico paciente adulto de 70 kg.

La composición farmacéutica es preferiblemente una que induce una respuesta inmune predominantemente del tipo Th1. Los niveles altos de citoquinas de tipo Th1 (por ejemplo, IFN- γ , TNF α , IL-2 e IL-12) tienden a favorecer la inducción de respuestas inmunes mediadas por células a un antígeno administrado. Por el contrario, los niveles elevados de citoquinas de tipo Th2 (por ejemplo, IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10) tienden a favorecer la inducción de respuestas inmunes humorales. Después de la aplicación de una composición inmunogénica como se proporciona en este documento, un paciente soportará una respuesta inmune que incluye respuestas de tipo Th1 y Th2. En una realización preferida, en la que una respuesta es predominantemente de tipo Th1, el nivel de citoquinas de tipo Th1 aumentará en mayor medida que el nivel de citoquinas de tipo Th2. Los niveles de estas citoquinas pueden ser fácilmente evaluados usando ensayos estándar. Alternativamente, o, además, pueden ser deseados altos niveles de citoquinas de tipo Th2 (por ejemplo, IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10) para ciertas aplicaciones terapéuticas. Los niveles de estas citoquinas pueden ser fácilmente evaluados usando ensayos estándar. Para una revisión de las familias de citoquinas, véase Mosmann and Coffman, Ann. Rev. Immunol. 7:145-173, 1989.

Las composiciones ilustrativas para uso en la inducción de citoquinas de tipo Th1 incluyen, por ejemplo, una combinación de oligonucleótidos que contienen CpG (en el cual el dinucleótido CpG no está metilado) como se describe, por ejemplo, en los documentos WO 96/02555, WO 99/33488 y las Patentes de los Estados Unidos Nos. 6,008,200 y 5,856,462. También se describen secuencias de ADN inmunoestimuladoras, por ejemplo, por Sato et al., Science 273:352, 1996. Otros inmunoestimulantes apropiados comprenden saponinas, tales como QS21 (Aquila Biopharmaceuticals Inc., Framingham, MA), y derivados de saponina relacionados y miméticos de la misma.

Cualquiera de una variedad de inmunoestimulantes adicionales se puede incluir en las composiciones de esta invención. Por ejemplo, citoquinas, tales como GM-CSF, interferones o interleucinas para modular adicionalmente una respuesta inmune de interés. Además, Montanide ISA 720 (Seppic, Francia), SAF (Chiron, California, Estados Unidos), ISCOMS (CSL), MF-59 (Chiron), la serie SBAS de adyuvantes (por ejemplo, SBAS-2 o SBAS-4, disponible de SmithKline Beecham, Rixensart, Bélgica), y el inmunoestimulante Enhanzyn™ (Corixa, Hamilton, MT). Los inmunoestimulantes de éter de polioxietileno, se describen en el documento WO 99/52549A1 y también se pueden usar.

Las composiciones farmacéuticas a menudo comprenderán además uno o más soluciones reguladoras (por ejemplo, solución salina reguladora neutra o solución salina reguladora de fosfato), carbohidratos (por ejemplo glucosa, manosa, sacarosa o dextranos), manitol, proteínas, polipéptidos o aminoácidos tales como glicina, antioxidantes, bacteriostáticos, agentes quelantes tales como EDTA o glutatión, adyuvantes (por ejemplo, hidróxido de aluminio), solutos que vuelven la formulación isotónica, hipotónica o débilmente hipertónica con la sangre de un receptor, agentes de suspensión, espesantes y/o conservantes. Alternativamente, las composiciones de la presente invención se pueden formular como un liofilizado.

Las composiciones farmacéuticas descritas en este documento se pueden presentar en envases de dosis unitaria o multidosis, tales como ampollas o viales sellados. Tales envases se cierran por lo general de tal manera que conservan la esterilidad y la estabilidad de la formulación hasta su uso. En general, las formulaciones se pueden almacenar como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos. Alternativamente, una composición farmacéutica se puede almacenar en una condición liofilizada que requiere solamente la adición de un portador líquido estéril inmediatamente antes del uso.

El desarrollo de regímenes de dosificación y tratamiento apropiados para el uso de las composiciones particulares descritas en este documento en una variedad de regímenes de tratamiento, incluyendo, por ejemplo, la administración y formulación oral, parenteral, intravenosa, intranasal e intramuscular, es bien conocido en la técnica, algunos de los cuales se discuten brevemente a continuación con fines generales de ilustración.

5 En ciertas aplicaciones, las composiciones farmacéuticas descritas en este documento se pueden administrar por administración oral a un animal. Como tales, estas composiciones se pueden formular con un diluyente inerte o con un vehículo comestible asimilable, o pueden estar contenidas en cápsulas de gelatina dura o blanda, o se pueden comprimir en forma de comprimidos, o se pueden incorporar directamente con el alimento de la dieta.

10 Los compuestos activos se pueden incorporar incluso con excipientes y usarse en forma de comprimidos ingeribles, comprimidos bucales, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas y similares (véase, por ejemplo, Mathiowitz et al., Nature 1997 Mar 27;386(6623):410-4; Hwang et al., Crit Rev Ther Drug Carrier Sits 1998;15(3):243-84; la Patente de los Estados Unidos 5,641,515; la Patente de los Estados Unidos 5,580,579 y la Patente de los Estados Unidos 5,792,451). Los comprimidos, trociscos, pastillas, cápsulas y similares pueden contener también cualquiera de una variedad de componentes adicionales, por ejemplo, un aglutinante, tal como goma tragacanto, acacia, almidón de maíz o gelatina; excipientes, tales como fosfato dicálcico; un agente desintegrante, tal como almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico y similares; un lubricante, tal como estearato de magnesio; y se puede adicionar un agente edulcorante, tal como sacarosa, lactosa o sacarina, o un agente aromatizante, tal como menta, aceite de gaulteria o aroma de cereza. Cuando la forma unitaria de dosificación es una cápsula, puede contener, además de materiales del tipo anterior, un portador líquido. Otros materiales pueden estar presentes como revestimientos o para modificar de otro modo la forma física de la unidad de dosificación. Por ejemplo, los comprimidos, píldoras o cápsulas se pueden recubrir con goma laca, azúcar o ambos. Por supuesto, cualquier material usado en la preparación de cualquier forma unitaria de dosificación debe ser farmacéuticamente puro y sustancialmente no tóxico en las cantidades empleadas. Además, los compuestos activos se pueden incorporar en la preparación y formulaciones de liberación sostenida.

15 Por lo general, estas formulaciones contendrán al menos aproximadamente 0.1% del compuesto activo o más, aunque el porcentaje del ingrediente o ingredientes activos puede, por supuesto, ser variado y puede estar convenientemente entre aproximadamente 1 o 2% y aproximadamente 60% o 70% o más del peso o volumen de la formulación total. Naturalmente, la cantidad de compuesto(s) activo(s) en cada composición terapéuticamente útil se puede preparar de tal manera que se obtenga una dosificación apropiada en cualquier dosis unitaria dada del compuesto. Factores tales como solubilidad, biodisponibilidad, semivida biológica, ruta de administración, vida útil del producto, así como otras consideraciones farmacológicas serán contemplados por un experto en el arte de preparación de tales formulaciones farmacéuticas, y como tal, pueden ser deseables una variedad de dosificaciones y regímenes de tratamiento.

20 Para la administración oral, las composiciones se pueden incorporar alternativamente con uno o más excipientes en forma de un enjuague bucal, una pasta dental, un comprimido bucal, una pulverización oral o una formulación sublingual administrada por vía oral. Alternativamente, el ingrediente activo se puede incorporar en una solución oral tal como una que contiene borato de sodio, glicerina y bicarbonato de potasio, o se dispersa en una pasta dental, o se adiciona en una cantidad terapéuticamente eficaz a una composición que puede incluir agua, aglutinantes, abrasivos, agentes aromatizantes, agentes espumantes, y humectantes.

25 Alternativamente, las composiciones se pueden formar en una forma de comprimido o solución que se puede colocar debajo de la lengüeta o disolverse de otro modo en la boca.

30 En ciertas circunstancias, será deseable entregar las composiciones farmacéuticas descritas en este documento parenteral, intravenosa, intramuscular o incluso intraperitoneal. Tales enfoques son bien conocidas para el experto en el arte, algunas de las cuales se describen adicionalmente, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos 5,543,158; la Patente de los Estados Unidos 5,641,515 y la Patente de los Estados Unidos 5,399,363. Las soluciones de los compuestos activos como base libre o sales farmacológicamente aceptables se pueden preparar en agua adecuadamente mezclada con un surfactante, tal como hidroxipropilcelulosa. Las dispersiones también se pueden preparar en glicerol, polietilenglicoles líquidos, y mezclas de los mismos y en aceites. Bajo condiciones ordinarias de almacenamiento y uso, estas preparaciones generalmente contendrán un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos.

35 Las formas farmacéuticas ilustrativas apropiadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles (por ejemplo, véase la Patente de los Estados Unidos 5,466,468). En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en que exista una facilidad de capacidad de inyección. Debe ser estable bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. El portador puede ser un solvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares), mezclas apropiadas de los mismos y/o aceites vegetales. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y/o mediante el uso de surfactantes. La prevención de la acción de microorganismos puede ser facilitada por diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será

preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede ser provocada por el uso en las composiciones de agentes retardadores de la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

5 Para la administración parenteral en una solución acuosa, la solución se debe regular adecuadamente si es necesario y el diluyente líquido se hace primero isotónico con suficiente solución salina o glucosa. Estas soluciones acuosas particulares son especialmente apropiadas para la administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. A este respecto, un medio acuoso estéril que se puede emplear será conocido para los expertos en el arte a la luz de la presente divulgación. Por ejemplo, se puede disolver una dosis en 1 ml de solución de NaCl isotónica y se adiciona a 1000 ml de fluido de hipodermocclisis o se inyecta en el sitio de infusión propuesto (véase, por ejemplo, 10 "Remington's Pharmaceutical Sciences" 15th Edition, páginas 1035-1038 y 1570-1580). Cierta variación en la dosificación necesariamente ocurrirá dependiendo de la condición del sujeto que se esté tratando. Además, para la administración humana, las preparaciones preferiblemente cumplirán con preferencia la esterilidad, pirogenicidad y los estándares generales de seguridad y pureza según lo requerido por the FDA Office of Biologies standards.

15 Las composiciones descritas en la presente invención se pueden formular en una forma neutra o de sal. Las sales farmacéuticamente aceptables ilustrativas incluyen las sales de adición de ácido (formadas con los grupos amino libres de la proteína) y que se forman con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, ácidos clorhídrico o fosfórico, o ácidos orgánicos tales como acético, oxálico, tartárico, mandélico, y similares. Las sales formadas con los grupos carboxilo libres también se pueden derivar de bases inorgánicas tales como, por ejemplo, hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio o férricos, y bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, histidina, procaína y similares. Tras la 20 formulación, las soluciones se administrarán de una manera compatible con la formulación de dosificación y en una cantidad tal que sea terapéuticamente eficaz.

25 Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar por pulverizaciones intranasales, inhalación, y/u otros vehículos de administración de aerosoles. Los métodos para suministrar genes, ácidos nucleicos y composiciones de péptidos directamente a los pulmones a través de aerosoles nasales se han descrito, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos 5,756,353 y la Patente de los Estados Unidos 5,804,212. Del mismo modo, la administración de fármacos que utilizan resinas de micropartículas intranasales (Takenaga et al., J Controlled Release 1998 Mar 2;52(1-2):81-7) y compuestos de lisofosfatidil-glicerol (la Patente de los Estados Unidos 5,725,871) son también bien conocidos en las artes farmacéuticas. Del mismo modo, la administración ilustrativa transmucosa del fármaco en forma de una matriz de soporte de politetrafluoroetileno se describe en la Patente de los Estados Unidos 5,780,045.

30 En ciertos casos, se utilizan liposomas, nanocápsulas, micropartículas, partículas lipídicas, vesículas y similares, para la introducción de las composiciones de la presente invención en organismos/células huéspedes apropiados. En particular, las composiciones descritas en el presente documento se pueden formular para su administración ya sea encapsuladas en una partícula lipídica, un liposoma, una vesícula, una nanosfera o una nanopartícula o similares. Alternativamente, las composiciones de la presente invención se pueden unir, ya sea covalentemente o no covalentemente, a la superficie 35 de tales vehículos portadores.

La formación y uso de preparaciones de liposomas y tipo liposomas como portadores potenciales de fármacos es generalmente conocido para los expertos en el arte (véase, por ejemplo, Lasic, Trends Biotechnol 1998 Jul; 16(7):307-21; Takakura, Nippon Rinsho 1998 Mar; 56(3):691-5; Chandran et al., Indian J Exp Biol. 1997 Aug; 35(8):801-9; Margalit, Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. 1995; 12(2-3):233-61; Patente de los Estados Unidos 5,567,434; Patente de los 40 Estados Unidos 5,552,157; Patente de los Estados Unidos 5,565,213; Patente de los Estados Unidos 5,738,868 y Patente de los Estados Unidos 5,795,587).

45 Los liposomas se han usado con éxito con un número de tipos celulares que son normalmente difíciles de transfectar mediante otros procedimientos, incluyendo suspensiones de células T, cultivos de hepatocitos primarios y células PC 12 (Renneisen et al., J Biol Chem. 1990 Sep 25;265(27):16337-42; Muller et al., DNA Cell Biol. 1990 Apr;9(3):221-9). Además, los liposomas están libres de las restricciones de longitud de ADN que son típicas de los sistemas de administración basados en virus. Los liposomas se han usado eficazmente para introducir genes, diversos fármacos, agentes radioterapéuticos, enzimas, virus, factores de transcripción, efectores alostéricos y similares, en una variedad de líneas celulares cultivadas y animales. Además, el uso de liposomas no parece estar asociado con respuestas autoinmunes o toxicidad inaceptable después de la administración sistémica.

50 En ciertos casos, los liposomas se forman a partir de fosfolípidos que se dispersan en un medio acuoso y forman espontáneamente vesículas de doble capa concéntricas multilamelares (también llamadas vesículas multilamelares (MLV)).

Alternativamente, se describen en este documento formulaciones de nanocápsulas farmacéuticamente aceptables de 55 las composiciones descritas en este documento. Las nanocápsulas generalmente pueden atrapar compuestos de una manera estable y reproducible (véase, por ejemplo, Quintanar-Guerrero et al., Drug Dev Ind Pharm. 1998 Dec;24(12):1113-28). Para evitar efectos secundarios debidos a la sobrecarga polimérica intracelular, tales partículas ultrafinas (dimensionadas alrededor de 0.1 μm) se pueden diseñar usando polímeros que son capaces de ser degradados in vivo. Tales partículas se pueden preparar como se describe, por ejemplo, por Couvreur et al., Crit Rev

Ther Drug Carrier Syst. 1988;5(1):1-20; zur Muhlen et al., Eur J Pharm Biopharm. 1998 Mar;45(2):149-55; Zambaux et al. J Controlled Release. 1998 Jan 2;50(1-3):31-40; y la Patente de los Estados Unidos 5,145,684.

Terapias contra el cáncer

5 Los enfoques inmunológicos para la terapia contra el cáncer se basan en el reconocimiento de que las células cancerosas pueden evadir a menudo las defensas del cuerpo frente a células y moléculas aberrantes o extrañas y que estas defensas pueden estimularse terapéuticamente para recuperar el terreno perdido, por ejemplo, páginas 623-648 en Klein, Immunology (Wiley-Interscience, New York, 1982). Numerosas observaciones recientes de que diversos efectores inmunes pueden inhibir directa o indirectamente el crecimiento de tumores han llevado a un interés renovado en este enfoque de la terapia contra el cáncer, por ejemplo, Jager, et al., Oncology 2001;60(1):1-7; Renner, et al., Ann Hematol 2000 Dec;79(12):651-9.

10 Los cuatro tipos de células básicas cuya función se ha asociado con la inmunidad de células antitumorales y la eliminación de células tumorales del cuerpo son: i) linfocitos B que secretan inmunoglobulinas en el plasma sanguíneo para identificar y marcar las células invasoras no propias; ii) monocitos que secretan las proteínas del complemento que son responsables de lisar y procesar las células invasoras diana recubiertas con inmunoglobulina; iii) linfocitos asesinos naturales que tienen dos mecanismos para la destrucción de células tumorales, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos y muerte natural; y iv) linfocitos T que poseen receptores específicos de antígeno y que tienen la capacidad de reconocer una célula tumoral que lleva moléculas marcadoras complementarias (Schreiber, H., 1989, in Fundamental Immunology (ed). W. E. Paul, pp. 923-955).

15 La inmunoterapia contra el cáncer generalmente se centra en inducir respuestas inmunes humerales, respuestas inmunes celulares, o ambas. Además, está bien establecido que la inducción de células T auxiliares CD4⁺ es necesaria para inducir secundariamente anticuerpos o células T CD8⁺ citotóxicas. Los antígenos polipeptídicos que son selectivos o idealmente específicos para las células cancerosas ofrecen un enfoque potente para inducir respuestas inmunes contra el cáncer, y son un aspecto importante de la presente invención.

20 Por lo tanto, en otros aspectos de la presente invención, las composiciones farmacéuticas descritas en este documento se pueden usar para estimular una respuesta inmune contra el cáncer. Dentro de tales métodos, las composiciones farmacéuticas descritas en este documento se administran a un paciente, por lo general un animal de sangre caliente, preferiblemente un ser humano. Un paciente puede o no estar afligido con cáncer. Las composiciones farmacéuticas y las vacunas se pueden administrar antes o después de la extirpación quirúrgica de tumores primarios y/o tratamiento tales como la administración de radioterapia o fármacos quimioterapéuticos convencionales. Como se discutió anteriormente, la administración de las composiciones farmacéuticas puede ser por cualquier método apropiado, incluyendo la administración por vía intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, intranasal, intradérmica, anal, vaginal, tópica y oral.

25 En ciertas realizaciones, la inmunoterapia puede ser inmunoterapia activa, en la que el tratamiento se basa en la estimulación in vivo del sistema inmune endógeno del huésped para reaccionar contra tumores con la administración de agentes modificadores de la respuesta inmune (tales como polipéptidos y polinucleótidos como se proporciona en este documento).

30 Las rutas y la frecuencia de administración de las composiciones terapéuticas descritas en este documento, así como la dosificación, variarán de individuo a individuo y pueden establecerse fácilmente usando técnicas estándar. En general, las composiciones farmacéuticas y las vacunas se pueden administrar por inyección (por ejemplo, intracutánea, intramuscular, intravenosa o subcutánea), intranasal (por ejemplo, por aspiración) u por vía oral. Preferiblemente, entre 1 y 10 dosis se pueden administrar durante un periodo de 52 semanas. Preferiblemente, se administran 6 dosis, a intervalos de 1 mes, y en lo sucesivo, se pueden administrar periódicamente vacunas de refuerzo. Los protocolos alternativos pueden ser apropiados para pacientes individuales. Una dosis apropiada es una cantidad de un compuesto que, cuando se administra como se ha descrito anteriormente, es capaz de promover una respuesta inmune antitumoral y está al menos 10-50% por encima del nivel basal (esto es, sin tratamiento). Tal respuesta se puede monitorizar midiendo los anticuerpos antitumorales en un paciente o mediante la generación dependiente de la vacuna de células efectoras citolíticas capaces de destruir las células tumorales del paciente in vitro. Tales vacunas también deben ser capaces de causar una respuesta inmune que conduce a un resultado clínico mejorado (por ejemplo, remisiones más frecuentes, supervivencia completa o parcial o más larga sin enfermedad) en pacientes vacunados en comparación con pacientes no vacunados. En general, para composiciones farmacéuticas y vacunas que comprenden uno o más polipéptidos, la cantidad de cada polipéptido presente en una dosis oscila entre aproximadamente 25 µg y 5 mg por kg de huésped. Los tamaños de dosis apropiados variarán con el tamaño del paciente, pero por lo general variarán de aproximadamente 0.1 mL a aproximadamente 5 mL.

35 En general, una dosis y un régimen de tratamiento apropiados proporcionan el compuesto o compuestos activos en una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico y/o profiláctico. Dicha respuesta puede monitorizarse estableciendo un resultado clínico mejorado (por ejemplo, remisiones más frecuentes, supervivencia completa o parcial o más larga sin enfermedad) en pacientes tratados en comparación con pacientes no tratados. Los aumentos en las respuestas inmunes preexistentes a una proteína tumoral generalmente se correlacionan con un resultado clínico

mejorado. Tales respuestas inmunes se pueden evaluar generalmente utilizando ensayos estándar de proliferación, citotoxicidad o citoquinas, que se pueden realizar utilizando muestras obtenidas de un paciente antes y después del tratamiento.

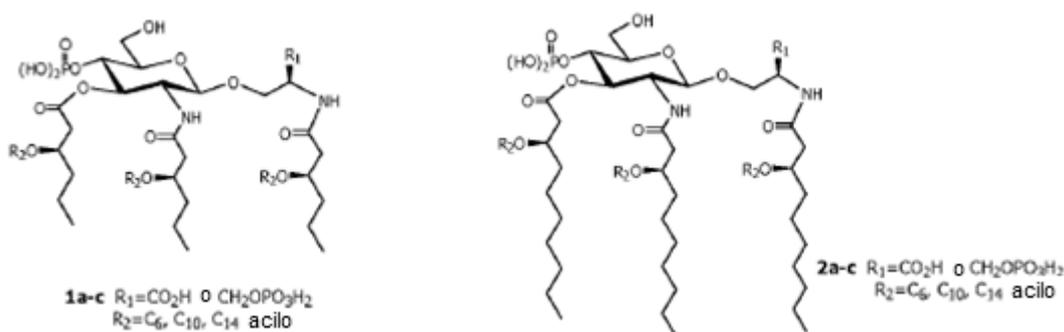
5 La presente invención se describe adicionalmente por medio de los siguientes ejemplos no limitantes y ejemplos de prueba que se dan solamente con fines ilustrativos.

Ejemplos

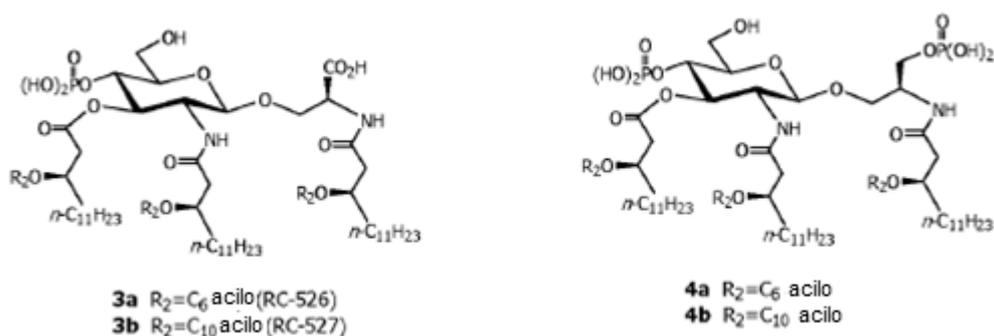
Ejemplo de referencia 1

Modificaciones de la cadena de acilo graso primario

10 Este ejemplo describe la preparación de derivados de ácidos grasos primarios que tienen cadenas acilo graso primario de longitud variable, solas o en combinación con cadenas de ácidos grasos secundarios variables. Por ejemplo, los compuestos 1a-c y 2a-c, en los que los ácidos grasos primarios de cadena corta (C₆) y media (C₁₀) se combinan con ácidos grasos secundarios de cadena corta, media o larga.

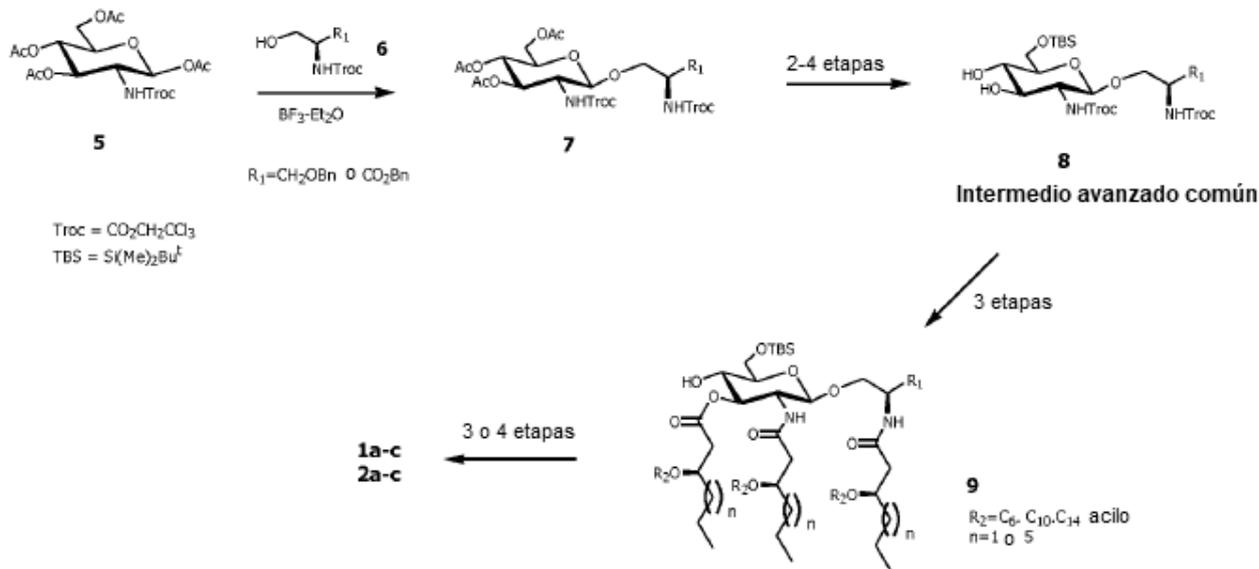


15 Estos compuestos se preparan ya sea utilizando el aglicona de serina bien establecido ($R_1 = \text{CO}_2\text{H}$) o, alternativamente, usando una unidad químicamente más estable e ionizable de aglicona fosfato de serinol ($R_1 = \text{CH}_2\text{OPO}_3\text{H}_2$). La selección de fosfato de serilo/serinol se basará en la comparación de las actividades biológicas de derivados de serilo conocidos 3a,b con nuevos fosfatos de serinol 4a,b.



20 Los derivados de los compuestos modificados de cadena primaria se sintetizan mediante una modificación de un método descrito anteriormente (B1 en Johnson et al., Johnson et al., Patente de los Estados Unidos No. 6,355,251) que emplea un intermedio avanzado común que permite la introducción de los ácidos aciloxi unidos con amida y éster cerca del final de la síntesis (Esquema I). La etapa inicial en la síntesis es la glicosilación del aceptor 6 con el tetraacetato 5 conocido (preparado en 4 etapas a partir de la glucosamina) para dar el β-glicósido 7 y la conversión de 7 en el intermedio avanzado común (CAI) 8, que está optimizado para $R_1 = \text{CO}_2\text{Bn}$. La 4-O-acilación selectiva y la N-desprotección/acilación resultan en el derivado de hexaacil 9, que se convierte en 3-4 etapas a 1a-c o 2a-c mediante fosforilación y desbloqueo.

25



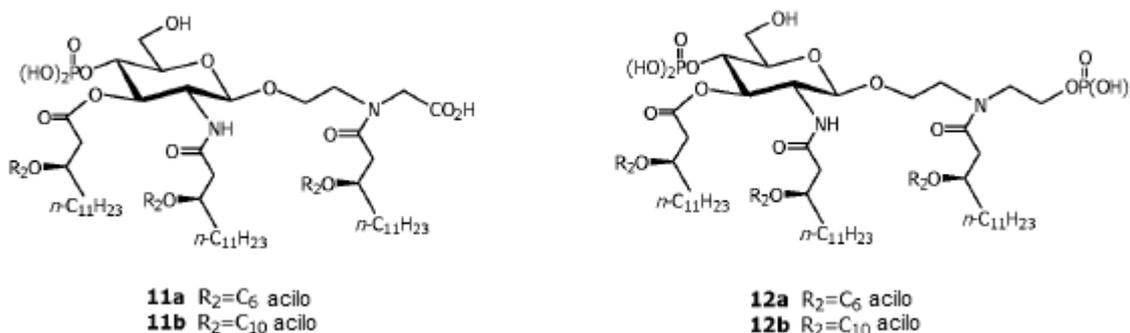
Esquema I

5 Los ácidos (R)-3-n-alcanoiloxialcanoicos requisito se preparan de acuerdo con Keegan et al., Tetrahedron: Asymmetry; 7(12):3559-3564, 1996, comenzando con los ésteres 3-oxo-metilo apropiados. La alta pureza química y diastereomérica de los productos 1 y 2 se consigue mediante ya sea cromatografía en fase normal sobre sílica gel o, alternativamente, mediante cromatografía de celulosa o cromatografía de partición líquido-líquido en gel Sephadex LH-20. La pureza de las sales de trietilamonio aisladas se establece mediante medios espectroscópicos (IR, ¹H y ¹³C RMN) y físicos (análisis de combustión, FABMS), así como por HPLC.

Ejemplo de referencia 2

Compuestos de glicilo y fosfonooxietil (PE)

10 Este ejemplo describe la síntesis de compuestos de glicilo 11a,b y compuestos fosfonooxietil (PE) 12a,b, que son casi regioisoméricos con 3a,b y 4a,b.

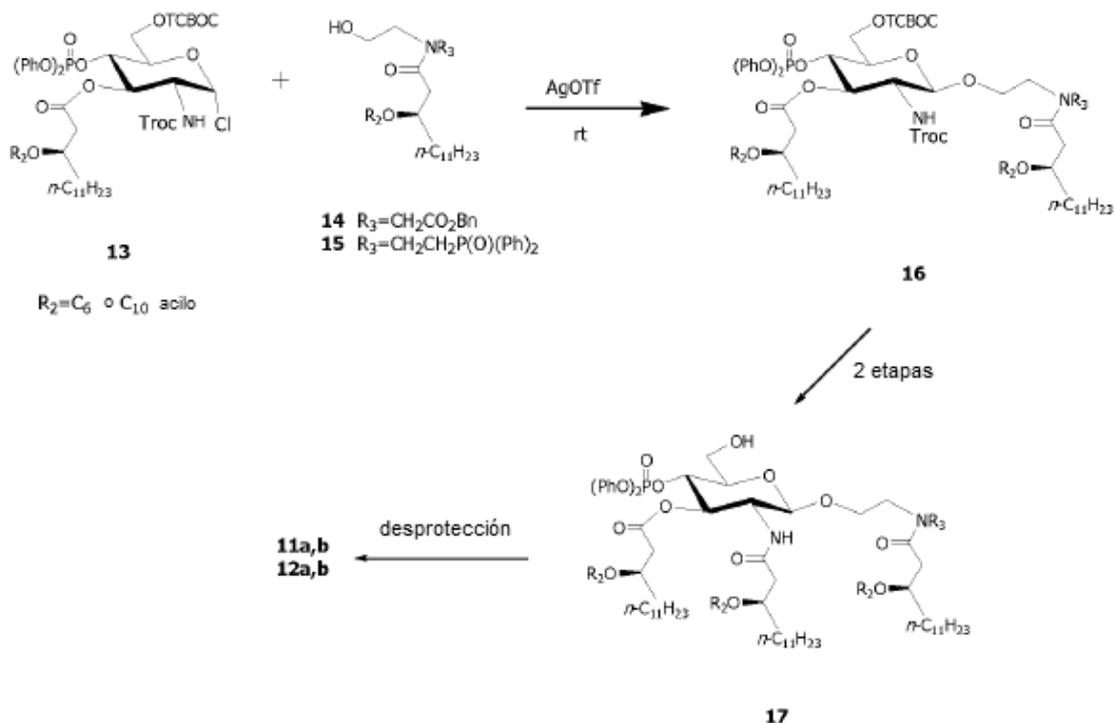


15 Estos compuestos se preparan más fácilmente mediante una síntesis más convergente que la descrita en el esquema I, en el cual se acopla un donador de glicosilo C₆ o C₁₀ común 13 con una unidad aceptora N-acilada apropiada (o, alternativamente, N-Troc protegido-no mostrado) 14 o 15 en presencia de ion plata para dar β-glicósidos 16 (esquema II). El aceptor de glicina 14 se prepara de acuerdo con Bulusu et al., J Med Chem; 35(19):3463-3469, 1992 a partir de etanolamina y bromoacetato de bencilo (o t-butilo) seguido de N-acilación o protección. El fosfato 15 se prepara mediante monofosforilación de dietanolamina N-acilada (o protegida). N-desprotección/acilación o N, N-diacilación en el caso de aglicona Troc-prottegida (Jiang et al., Tetrahedron; 58(43):8833-8842, 2002) de los β-glicósidos 16 y escisión del fenilo y otros grupos protectores del derivado hexaacilado resultante 17 se espera que proporcione los compuestos

20

deseados 11a,b y 12a,b, que se aíslan y caracterizan como sus sales de trietilamonio después de purificación cromatográfica sobre sílica o gel LH-20 o celulosa DEAE.

Los compuestos 16 son nuevos y forman otro aspecto más de esta invención.

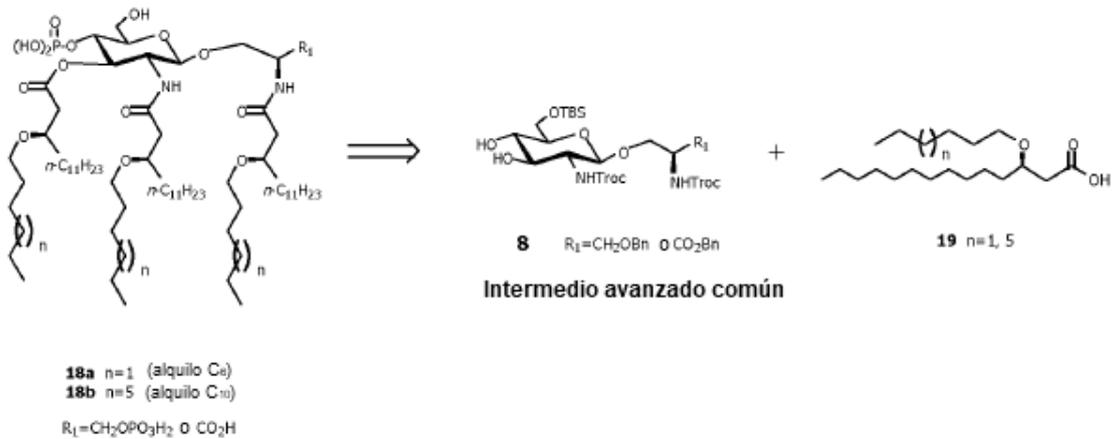


Esquema II

5 Ejemplo de referencia 3

Lípidos de éter secundarios

Este ejemplo describe la síntesis de derivados de ácido (R)-3-alkiloxitetradecanoico (18a,b) los cuales son resistentes a metabolismo desfavorable y/o hidrólisis acuosa. Para sintetizar los compuestos 18a,b, se deben hacer inicialmente los análogos de éter lípido de los compuestos de ácidos grasos secundarios 3a,b o los correspondientes fosfatos de serinol 5a,b. Como se muestra retrosintéticamente en el esquema III, la síntesis de las moléculas diana 18a,b se puede conseguir sustituyendo el ácido (R)-3-hexiloxitetradecanoico o el ácido (R)-3-deciloxitetradecanoico por los aciloxiácidos correspondientes comenzando con la 3-O-acilación selectiva del intermedio avanzado común 8 en el esquema I y procediendo a través del intermedio 9 ($R_2 = \text{alquilo } \text{C}_6 \text{ o } \text{C}_{10}, n=9$). Los alquiloxiácidos 19 requisito se sintetizan a partir del ácido (R)-3-hidroxitetradecanoico o su éster fenacílico, intermedios en las síntesis de aciloxiácidos, por métodos conocidos con un rendimiento total >50% (Keegan et al., *Tetrahedron: Asymmetry*; 7(12):3559-3564, 1996, Watanabe et al., *Carbohydr Res*; 332(3):257-277, 2001, Jiang., *Bioorg Med Chem Lett*; 12(16):2193-2196, 2002, Christ et al., Patente de los Estados Unidos No. 5,530,113. 1996).

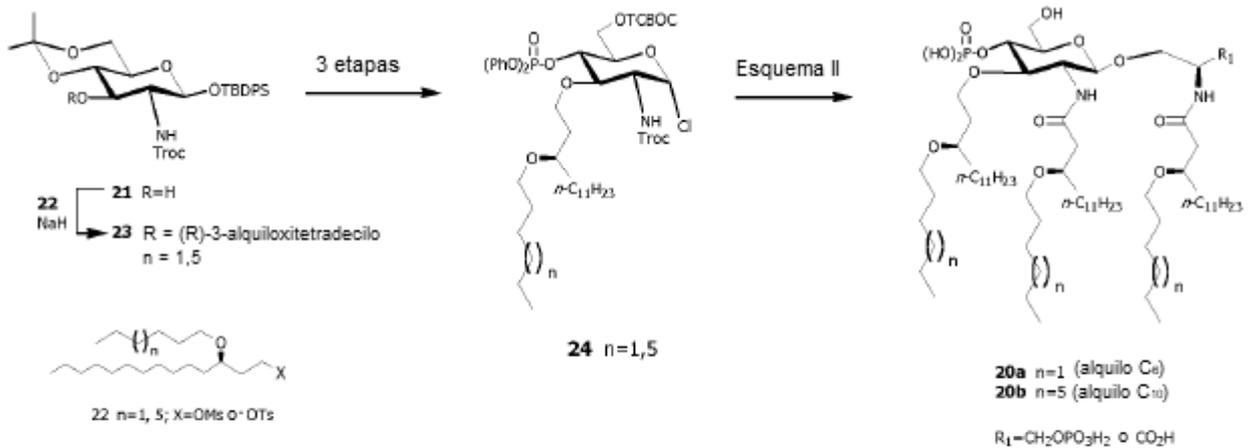


Esquema III

Ejemplo de referencia 4

Lípidos de éter primarios y secundarios

5 Este ejemplo describe compuestos (20a,b) que contienen un lípido éter primario en la posición de azúcar C-3 así como tres lípidos de éter secundarios. Estos compuestos se sintetizan por alquilación del acetoniado 21, un intermedio en la síntesis del donante de glicosilo 13 (esquema II), con sulfonato 22, que a su vez se genera en una etapa a partir del precursor de alcohol de 19, para dar el diéter 23 (esquema IV). La funcionalización 4,6 y la activación anomérica proporcionan el cloruro de glicosilo 24, el cual se procesa a continuación como en el esquema II usando los alquiloácidos correspondientes en las etapas de N-acilación. En un esquema alternativo, el derivado 2-azido⁴² o 2-trifluoroacetamido⁴⁵ se puede emplear en la etapa de 3-O-alquilación.

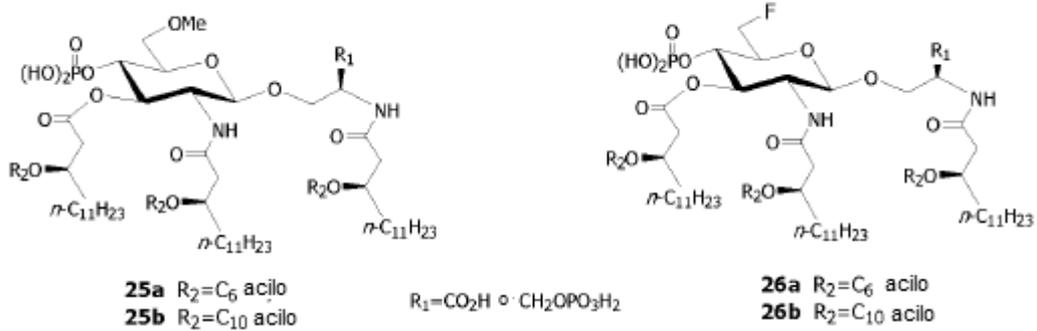


Esquema IV

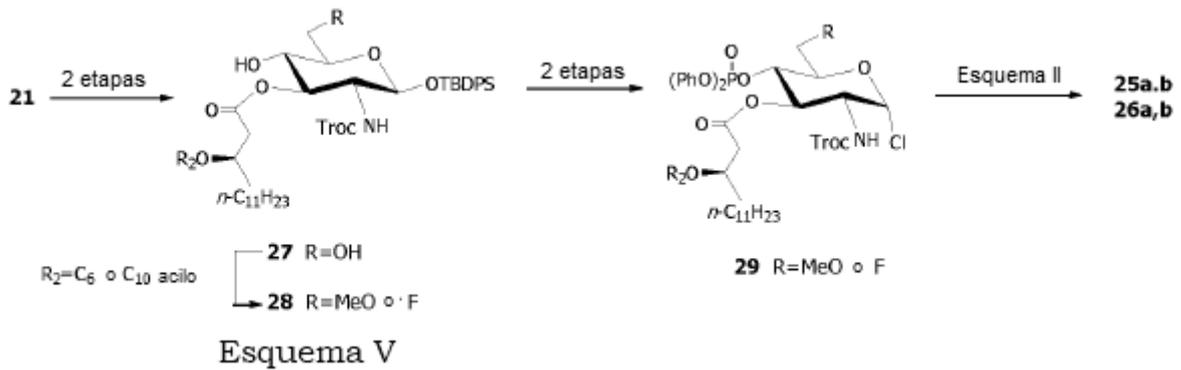
Ejemplo de referencia 5

Compuestos C-6 modificados

15 Este ejemplo describe los compuestos que tienen un 6-hidroxilo bloqueado. Este ejemplo, un éter metílico o un grupo fluoro, se utiliza junto con compuestos de fosfato de serilo o serinol 25a,b y 26a,b. Como se ha mencionado anteriormente, estos compuestos también forman un aspecto de la invención.



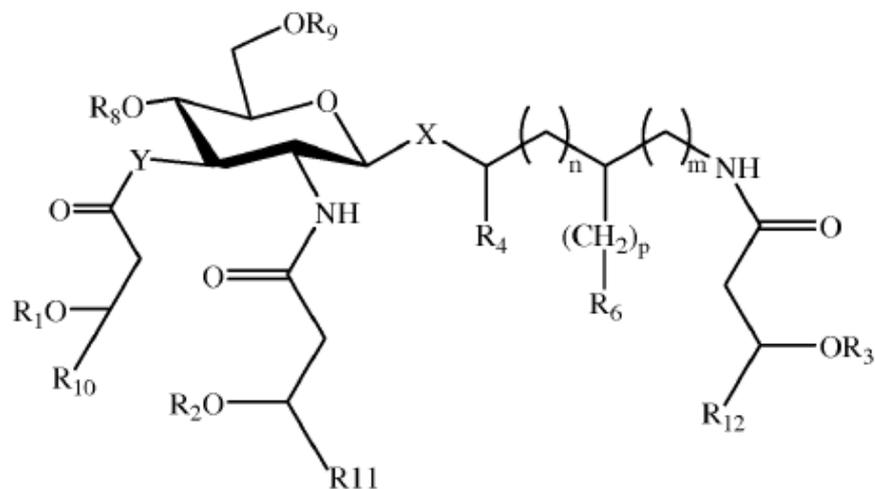
5 Los compuestos se preparan a partir del diol 27 tal como se muestra en el esquema V. El Intermedio 27, obtenido en dos etapas a partir del acetono 21, está funcionalizado en la posición 6 mediante métodos conocidos (Christ et al., Patente de los Estados Unidos No: 5,530,113, 1996; Watanabe et al., Carbohydr Res; 333(3):203-231, 2001) para proporcionar el alcohol 28. La conversión de 28 a los cloruros 29 en dos etapas y la elaboración según el Esquema II proporciona las moléculas diana 25a,b y 26a,b. Los compuestos con enlaces éter primarios y/o secundarios como se describe en el ejemplo 4 anterior se pueden modificar como se describe en este ejemplo para proteger adicionalmente las moléculas contra la degradación química y enzimática.



10 Se entiende que los ejemplos anteriores son solamente ilustrativos de la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula (III)



(III)

5 en la que X se selecciona del grupo que consiste en O y S en la posición axial o ecuatorial; Y se selecciona del grupo que consiste en O y NH; n y m son 0; R_1 , R_2 y R_3 son iguales o diferentes y son grupos alquilo de cadena lineal que tienen desde 1 a 20 átomos de carbono y donde uno de R_1 , R_2 o R_3 es opcionalmente hidrógeno; R_4 se selecciona del grupo que consiste en H y metilo; p es 1 y R_6 es $COOH$ o p es 2 y R_6 es OPO_3H_2 ; R_8 y R_9 son iguales o diferentes y se seleccionan del grupo que consiste en fosfona e H, y al menos uno de R_8 y R_9 es fosfona; y R_{10} , R_{11} y R_{12} se seleccionan independientemente de grupos alifáticos saturados no sustituidos de cadena lineal que tienen desde 1 a 11 átomos de carbono;

10

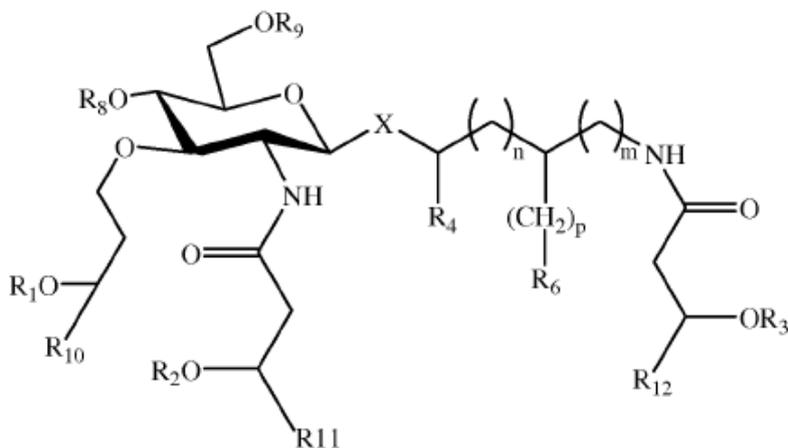
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que X y Y son oxígeno, R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan independientemente de grupos alquilo de cadena lineal C_6-C_{10} , y R_{10} , R_{11} y R_{12} son independientemente grupos alifáticos saturados no sustituidos de cadena lineal que tienen desde 3 a 9 átomos de carbono.

15 3. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que R_{10} , R_{11} y R_{12} son independientemente grupos alifáticos no sustituidos de cadena lineal que tienen desde 3 a 7 átomos de carbono.

15

4. Un compuesto que tiene la fórmula (IV):



(IV)

- 5 en la que X se selecciona del grupo que consiste en O y S en la posición axial o ecuatorial; n y m son 0; R₁, R₂ y R₃ son iguales o diferentes y son grupos alquilo de cadena lineal que tienen desde 1 a 20 átomos de carbono y donde uno de R₁, R₂ o R₃ es opcionalmente hidrógeno; R₄ se selecciona del grupo que consiste en H y metilo; p es 1 y R₆ es COOH o p es 2 y R₆ es OPO₃H₂; R₈ y R₉ son iguales o diferentes y se seleccionan del grupo que consiste en fosfona e H, y al menos uno de R₈ y R₉ es fosfona; y R₁₀, R₁₁ y R₁₂ se seleccionan independientemente de grupos alifáticos saturados no sustituidos de cadena lineal que tienen desde 1 a 10 átomos de carbono;
- o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 10 5. Un compuesto según la reivindicación 4, en el que X es oxígeno, R₁, R₂ y R₃ se seleccionan independientemente de grupos alquilo de cadena lineal C₆-C₁₀, y R₁₀, R₁₁ y R₁₂ son independientemente grupos alifáticos saturados no sustituidos de cadena lineal que tienen desde 3 a 9 átomos de carbono
6. Un compuesto según la reivindicación 5, en el que R₁₀, R₁₁ y R₁₂ son independientemente grupos alifáticos no sustituidos de cadena lineal que tienen desde 3 a 7 átomos de carbono.
7. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 15 8. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en la mejora de la respuesta inmune de un sujeto.