



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0608926-7 A2**

(22) Data de Depósito: 21/03/2006
(43) Data da Publicação: 03/11/2010
(RPI 2078)



(51) *Int.Cl.:*
A61P 35/00
C07F 9/02
A61K 31/66

(54) Título: **ATIVADOR DE CÉLULAS T GAMADELTA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UM ATIVADOR DE CÉLULAS T GAMADELTA, COMPOSIÇÃO DE VACINA, MÉTODO DE ATIVAÇÃO DE UMA CÉLULA T GAMADELTA, CÉLULA T GAMADELTA, E, USO DE UMA CÉLULA T GAMADELTA**

(57) Resumo: ATIVADOR DE CÉLULAS T GAMADELTA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UM ATIVADOR DE CÉLULAS T GAMADELTA, COMPOSIÇÃO DE VACINA, METODO DE ATIVAÇÃO DE UMA CÉLULA T GAMADELTA, CÉLULA T GAMADELTA, E, USO DE UMA CÉLULA T GAMADELTA. A presente invenção refere-se a uma nova classe de compostos tendo propriedades ativadoras das células $\gamma\delta$ T, referidos aqui como angelil ou tigilil fosfoésteres, composições compreendendo qualquer um destes compostos e métodos para regular uma resposta imune em um indivíduo, compreendendo a etapa de administrar estes compostos.

(30) Prioridade Unionista: 22/03/2005 US 60/663726

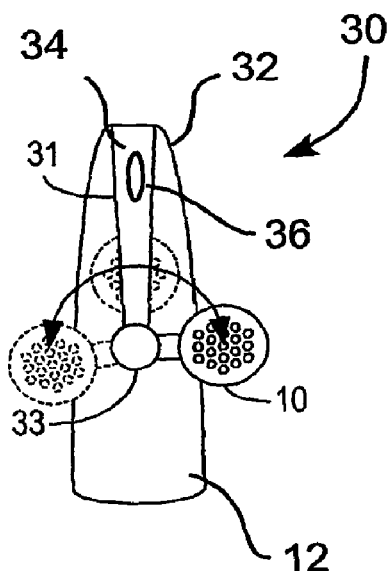
(73) Titular(es): INNATE PHARMA

(72) Inventor(es): Christian Belmant

(74) Procurador(es): Momsen, Leonardos & CIA.

(86) Pedido Internacional: PCT IB2006001206 de 21/03/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2006/130568 de 05/10/2006



“ATIVADOR DE CÉLULAS T GAMADELTA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UM ATIVADOR DE CÉLULAS T GAMADELTA, COMPOSIÇÃO DE VACINA, MÉTODO DE ATIVAÇÃO DE UMA CÉLULA T GAMADELTA, CÉLULA T GAMADELTA, E, USO DE UMA CÉLULA T GAMADELTA”

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a uma nova classe de compostos tendo propriedades ativadoras de células $\gamma\delta$ T, referidos aqui como angelil fosfoésteres, composições compreendendo qualquer um destes compostos e métodos para regular uma resposta imune em um indivíduo, compreendendo a etapa de administrar estes compostos.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

A maioria das células $\gamma\delta$ T sangüíneas periféricas humanas expressam um heterodímero $\gamma\delta$ TCR codificado por genes $V\gamma 9/V\delta 2$, alguns receptores de linhagem-NK para MHC classe I e quase nenhum CD4 nem CD8. Estas células mostrou exibir forte atividade citolítica, restringida-MHC, contra células infectadas por vírus (Poccia et al. (1997), células infectadas por parasita (Constant et al (1995)), ou células tumorais (Fournie et Bonneville (1996). Estas células são também fisiologicamente ampliadas no contexto de diversas doenças infecciosas não-relacionadas, tais como tuberculose, malária, tularemia, colibacilose e também por tumores de célula-B (para recapitulação, vide Hayday, 2000.

Além de sua atividade antiinfecciosa, foi mostrado em ensaios de citotoxicidade de curto termo que as células $V\gamma 9/V\delta 2$ T são capazes de lisar uma larga variedade de linhagens de células tumorais de origens muito diversas: linfoma e leucemia de linhagens de célula-B, célula-T ou mielóides (Fisch et al., 2000; Selin et al., 1992; Sicard et al., 2001; Sturm et al., 1990; Zheng et al., 2001a), carcinoma de mama (Bank et al., 1993), glioblastoma (Fujimiya et al., 1997; Yamaguchi et al., 1997), carcinoma de célula renal (Choudhary et al., 1995; Kobayashi et al., 2001; Mitropoulos et al., 1994),

carcinoma nasofaríngeo (Zheng et al., 2001b), adenocarcinoma de pulmão (Ferrarini et al., 1996).

Em micróbios, os linfócitos $V\gamma 9/V\delta 2^+$ reconhecem espontaneamente um conjunto de antígenos não-peptídicos estruturalmente relacionados, referidos como fosfoantígenos e alquilaminas naturais. Nos tumores de célula B, a natureza dos antígenos para as células T $\gamma\delta$ permanecem não identificados. Os linfócitos $V\gamma 9/V\delta 2^+$ são também responsivos a uma variedade de tipos de células viralmente infectadas, ativadas ou tumorais, sem exposição anterior. Repetindo, nestas situações, os antígenos responsáveis permanecem desconhecidos (para recapitulação, vide Fisch, 2000). Foi mostrado que, in vitro, os linfócitos $V\gamma 9/V\delta 2^+$ respondem a medicamentos sintéticos, tais como aminobisfosfonatos terapêuticos (recapitulado em Espinosa, 2001), resultando em sua ativação in vitro. O reconhecimento de antígenos não-peptídicos naturais é mediado por TCR $\gamma\delta$, através de resíduos amino ácidos localizados nas regiões CDR3 tanto $V\gamma 9$ - como $V\delta 2$ -. Embora não esteja envolvido processamento nem apresentação por moléculas CD1 ou MHC, a ativação de linfócito $V\gamma 9/V\delta 2^+$ por antígenos não-peptídicos parece requerer contato de célula-com-célula (Lang, 1995; Morita, 1995; Miyagawa, 2001, Rojas, 2002).

Os antígenos bacterianos estimulantes foram mostrados serem pequenos compostos não peptídicos, classicamente referidos como fosfoantígenos (Behr et al., 1996; Belmant et al., 2000; Constant et al., 1995; Poquet et al., 1998; Tanaka et al., 1995), devido à presença de grupos fosfato na maioria dos exemplos.

As células T $V\gamma 9/V\delta 2^+$ podem também ser ativadas através de metabólitos endógenos (atuando na faixa micromolar), tais como pirofosfato de isopentenila ou IPP (Espinosa et al., 2001b; Tanaka et al., 1995), que é produzido através o trajeto do mevalonato convencional, compartilhado por células tanto de microorganismos como de mamíferos. A produção de IPP nas

últimas células pode ser supra-reguladas em situações de estresse e transformação celular. Em particular, um estudo recente informou uma correlação entre os níveis de produção endógenos de IPP em células tumorais e sua susceptibilidade à lise mediada por célula T V γ 9/V δ 2 (Gober et al., 2003).

Também consistente com uma contribuição direta de metabólitos endógenos do trajeto de mevalonato para reconhecimento das células T V γ 9/V δ 2, o tratamento celular com agentes farmacológicos evitando a biossíntese de IPP (tal como estatinas) ou resultando no acúmulo de IPP (tal como aminobisfosfatos, vide abaixo) resultam respectivamente nas diminuídas ou aumentadas propriedades estimulantes das células V γ 9/V δ 2 das células tratadas (Gober et al., 2003).

Pensa-se que os aminobisfosfonatos inibem a FPP sintase, uma enzima do trajeto de mevalonato, cuja inibição causa o acúmulo e liberação dos lipídeos isoprenóides a montante, tais como IPP. Os compostos de aminobisfosfonato tinham sido usados em terapia humana, para o tratamento de metástase óssea em pacientes com câncer e forneceram um primeiro conjunto de evidências para expansão in vivo de linfócitos V γ 9/V δ 2⁺, induzidos por agonistas de fosfoantígeno, relatando aumentos de células $\gamma\delta$ dentro de uma a três semanas em adultos humanos com múltiplo mieloma, após injeção intravenosa terapêutica de 60 – 90 mg de pamidronato (Kunzmann et al, 1999). Entretanto, tais compostos requerem apresentação por células apresentando antígeno e não podem produzir substancial estímulo de atividade de célula T V γ 9/V δ 2, como avaliado por secreção de citocina em uma cultura pura de células T V γ 9/V δ 2. Além disso, o pamidronato apresenta potência de ativação muito baixa das células T $\gamma\delta$, relatado obter na melhor das hipóteses aumento somente de 2 vezes na contagem de células T $\gamma\delta$ (Wilhelm et al., 2003).

Recentemente, diversos compostos contendo pirofosfato

ativadores das células T $\gamma\delta$ altamente potentes foram descritos, que ativam diretamente as células T $\gamma\delta$. Em particular, os compostos de fosfoaloidrina e fosfoepóxido foram descritos pelo grupo J.J. Fournie. (R, S)-3-(bromometil)-3-butanol-1-il-difosfato, também referido como BrHPP (Pirofosfato de Bromoidrina), é atualmente usado em estudos clínicos humanos contínuos, para estimular a proliferação das células T $\gamma\delta$ ex vivo. Outros compostos contendo pirofosfato, com alta atividade específica (EC50 na faixa nanomolar ou melhor), são produzidos através de um trajeto biossintético de isoprenóide, chamado o trajeto de “Rohmer” ou de “não-mevalonato”, que é específico para microorganismos pro e eucarióticos (Feurle et al., 2002; Hintz et al (2003); Jomaa et al., 1999a; Jomaa et al., 1999b; Rohmer et al., 1993).

Apesar do precedente, há ainda necessidade de novos compostos provendo ativação das células T $\gamma\delta$, em particular compostos tendo aumentada potência e/ou preferidas propriedades farmacodinâmicas. Tais compostos têm particulares vantagens em indicações de não-ameaça de vida ou terapêuticas crônicas, em que as terapias devem ser livres de toxicidade.

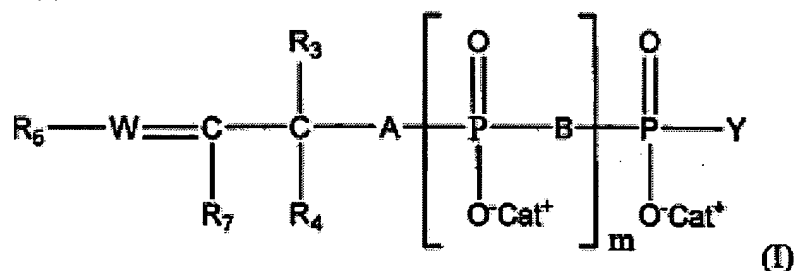
SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção agora descreve uma nova classe de compostos tendo propriedades ativadoras das células T $\gamma\delta$. Esta nova classe de compostos é referida como a classe de angelil fosfoéster e tigilil. Os inventores descobriram que a classe de compostos descrita aqui tem alta potência, em comparação com outros compostos sabidos modularem a atividade das células T $\gamma\delta$. Preferivelmente, os compostos da invenção são isolados, purificados ou parcialmente purificados.

Estes compostos podem ser usados para eficientemente regular a atividade das células T $\gamma\delta$, particularmente a ativação e proliferação das células T $\gamma\delta$, preferivelmente células T V γ 9/V δ 2, in vivo em um indivíduo. Estes novos ativadores das células T $\gamma\delta$ podem ser usados de acordo com qualquer um dos métodos aqui descritos. Estes compostos são particularmente

adequados para imunoterapia, particularmente para tratar um indivíduo tendo um tumor ou um indivíduo sofrendo de outras doenças, particularmente uma doença infecciosa, uma doença autoimune ou uma doença alérgica. Os compostos de acordo com a presente invenção podem também ser usados como um adjuvante de vacina.

Por conseguinte, a invenção fornece um ativador de células T $\gamma\delta$ de fórmula (I):



em que Cat^+ representa um (ou diversos, idênticos ou diferentes) cátion(s) orgânico(s) ou mineral(ais) (incluindo próton);

10 m é um inteiro de 1 a 3;

B é O, NH, ou qualquer outro grupo capaz de ser hidrolisado;

A é O, NH, CHF, CF_2 ou CH_2 , ou qualquer outro grupo isostérico;

W é C- R_6 ou N;

15 R_7 é um grupo $(\text{C}_1\text{-C}_3)$ aquila ou qualquer outro grupo isostérico tal como CF_3 ;

R_3 , R_4 e R_6 , idênticos ou diferentes, são um hidrogênio ou um grupo $(\text{C}_1\text{-C}_3)$ aquila ou qualquer outro grupo isostérico tal como CF_3 ;

20 R_5 é uma $(\text{C}_2\text{-C}_3)$ acila, um aldeído, um $(\text{C}_1\text{-C}_3)$ álcool, ou um $(\text{C}_2\text{-C}_3)$ éster; e,

$Y = \text{O}^- \text{Cat}^+$, um grupo $(\text{C}_1\text{-C}_3)$ aquila, um grupo -A-R, em que R é um grupo hidrocarboneto $\text{C}_1\text{-C}_{50}$, linear, ramificado ou cíclico, aromático ou não, saturado ou insaturado, opcionalmente interrompido pelo menos por um heteroátomo, em que dito grupo hidrocarboneto compreende uma aquila, uma alquilenila, ou uma alquinila, preferivelmente uma aquila ou um

5

10

15

20

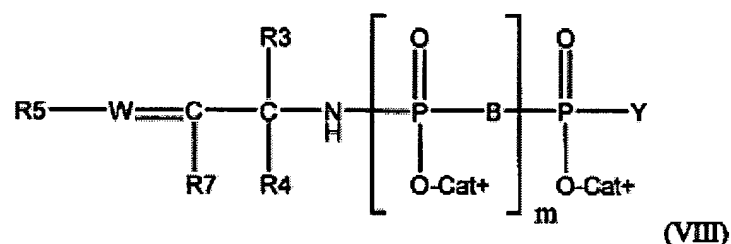
Um composto de Fórmula (II):



25

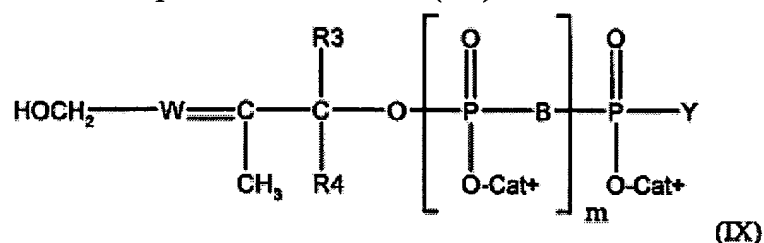
em que Cat^+ , m , B , W , R_5 , R_3 , R_4 , R_6 , R_7 e Y são definidos como na Fórmula (I), R_8 é H ou F, e R_9 é H ou F.

Um composto de Fórmula (VIII):



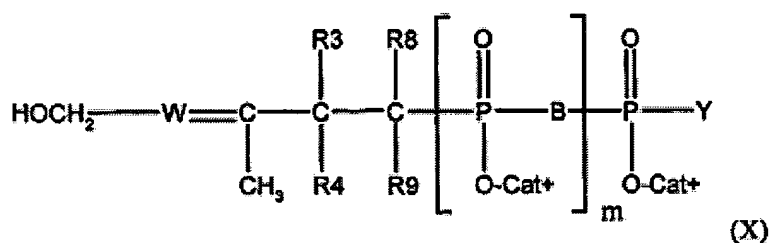
em que Cat^+ , m , B , W , R_5 , R_3 , R_4 , R_6 , R_7 , e Y são definidos como na Fórmula (I).

Um composto de Fórmula (IX):



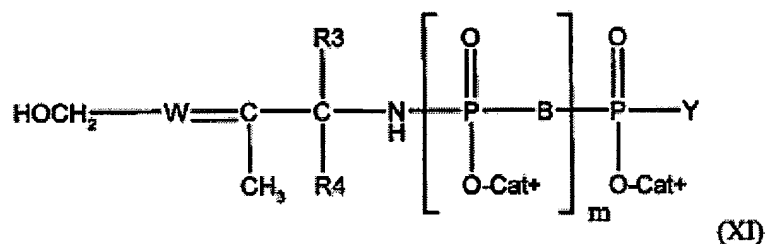
em que Cat^+ , m , B , W , R_3 , R_4 , R_6 , e Y são definidos como na Fórmula (I).

Um composto de Fórmula (X):



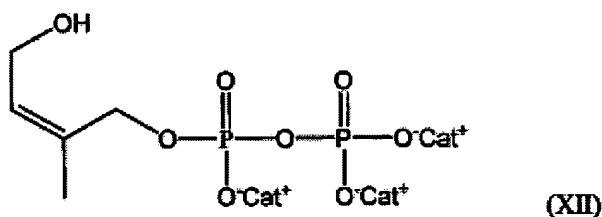
em que Cat^+ , m , B , W , R_3 , R_4 , R_6 , e Y são definidos como na Fórmula (I), R_8 é H ou F, e R_9 é H ou F.

Um composto de Fórmula (XI):

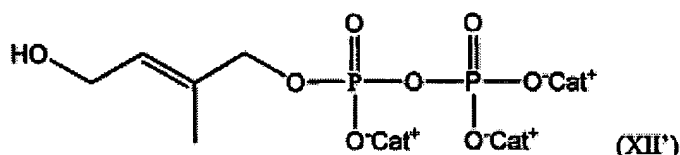


em que Cat^+ , m , B , W , R_3 , R_4 , R_6 e Y são definidos como na Fórmula (I).

Em uma forma de realização preferida, o ativador das células $T \gamma\delta$ é um composto de Fórmula (XII) ou (XII'):

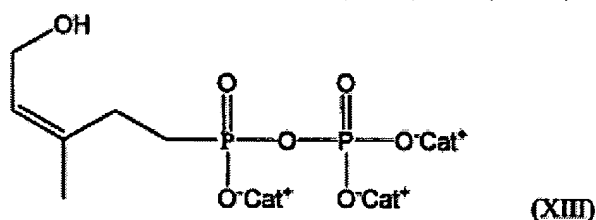


pirofosfato de (Z)-4-hidróxi-2-metilbut-2-enila pirofosfato (também referido como HAngelilPP)

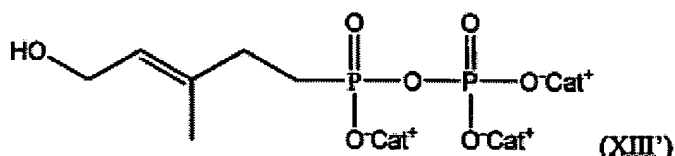


pirofosfato de (E)-4-hidróxi-2-metilbut-2-enila pirofosfato (também referido como HTigililPP)

5 Em outras formas de realização preferidas, o ativador das células T $\gamma\delta$ é um composto de Fórmula (XIII) ou (XIII'):



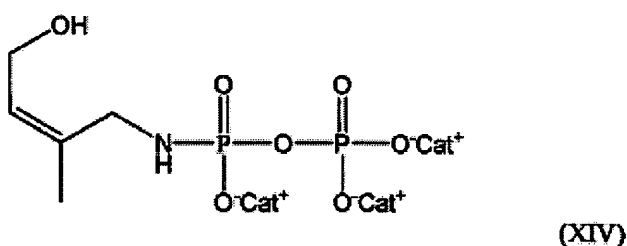
pirofosfonato de (Z)-5-hidróxi-3-metilpent-3-enila (também referido como C-HAngelilPP)



pirofosfonato de (E)-5-hidróxi-3-metilpent-3-enila (também referido como C-HTigililPP)

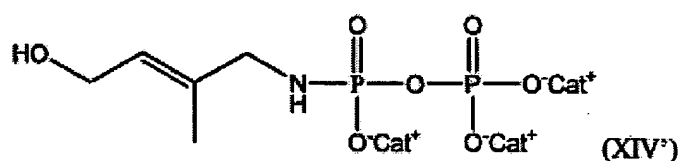
10

Em formas de realização preferidas adicionais, o ativador de células T $\gamma\delta$ é um composto de Fórmula (XIV) ou (XIV'):



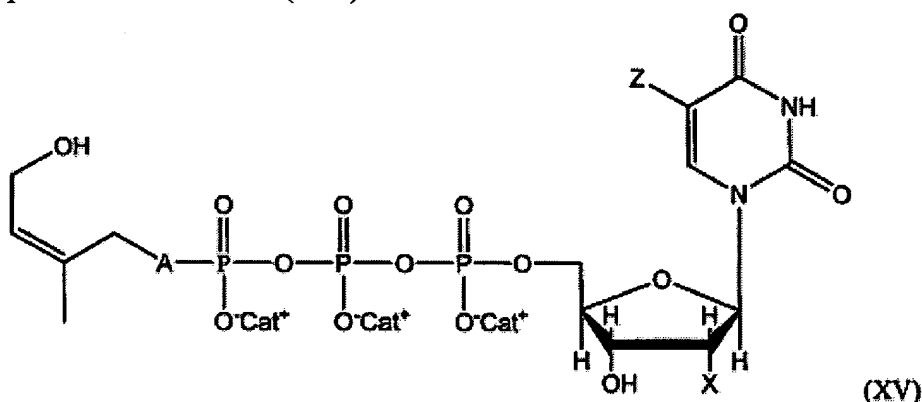
pirofosforamidato de (Z)-4-hidróxi-2-metilbut-2-enila (também referido como

N-HAngelilPP)



pirofosforamidato de (E)-4-hidróxi-2-metilbut-2-enila (também referido como N-HTiglilPP)

Em outras formas de realização, o ativador de células T $\gamma\delta$ é um composto de Fórmula (XV):



em que Cat^+ e A são definidos como na Fórmula (I); X é H e Z é CH_3 (deoxirribonucleosídeo é timidina) ou X é OH e Z é H (ribonucleosídeo é uridina). Em uma forma de realização, o composto de Fórmula (XVI) é na configuração E (ou trans). Em uma forma de realização preferida, o composto de Fórmula (XVI) é na configuração Z (ou cis).

A presente invenção também provê composição farmacêutica compreendendo um ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com qualquer uma das formas de realização aqui descritas. Em formas de realização preferidas, o cátion Cat^+ será um cátion farmacêuticamente aceitável. São também fornecidos métodos de modular, preferivelmente ativar, uma célula T $\gamma\delta$, o método compreendendo trazer uma célula T $\gamma\delta$ em contato com um composto ativante de células T $\gamma\delta$ aqui descrito. Como será apreciado, os compostos da presente invenção podem ser usados para ativar as células T $\gamma\delta$ in vitro ou in vivo. As células T $\gamma\delta$ ativadas in vitro podem ser usadas em qualquer método adequado em seguida à ativação, incluindo em terapia ou prevenção de

doença. Em um exemplo preferido, as células T $\gamma\delta$ ativadas são administradas a um mamífero, preferivelmente um humano. Em um aspecto preferido, a invenção abrange um método de tratamento, compreendendo (a) trazer uma célula T $\gamma\delta$ em contato com um composto ativante de célula T $\gamma\delta$ aqui descrito e (b) administrar as células T $\gamma\delta$ da etapa (a) a um indivíduo. Os métodos para preparar as células T $\gamma\delta$ para tais aplicações são conhecidos na arte, por exemplo, podem ser realizados como descrito em US2005196385 e WO03070921, ambos de Romagne e Laplace, cujas descrições são incorporadas aqui por referência.

São também fornecidos métodos de modular, preferivelmente ativar, uma célula T $\gamma\delta$, compreendendo administrar a um indivíduo um ativador de célula T $\gamma\delta$ aqui descrito. Em formas de realização preferidas, os invenção fornece um método para tratar ou evitar uma doença, compreendendo administrar a um indivíduo um ativador de células T $\gamma\delta$ aqui descrito em uma quantidade suficiente para melhorar ou evitar dita doença. É também provido o uso de um ativador de células T $\gamma\delta$ da invenção, para a manufatura de uma composição farmacêutica para regular as células T $\gamma\delta$ em um indivíduo humano, preferivelmente desse modo tratando uma doença. Preferivelmente, dita doença é um tumor ou distúrbio proliferativo, uma doença infecciosa, uma doença autoimune ou uma doença alérgica.

Formas de realização adicionais e detalhes são ainda fornecidos aqui.

DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Figura 1 é um esquema sintético para a preparação do composto HTigililPP, como realizada no Exemplo 1.

A Figura 2 é um esquema sintético para a preparação dos compostos H-AngelilPP e C-HAngelilPP, como realizada nos Exemplos 2 e 3.

A Figura 3 mostra uma curva de resposta de dose in vitro e os valores EC50 para os compostos da presente invenção H-AngelilPP e

HTiglilIPP e compostos de referência (R₅S)-BrHPP e (E)-HDMAPP.

DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

Definições

Dentro do contexto da presente invenção, a expressão “regular a atividade das células T $\gamma\delta$ ” designa causar ou favorecer um aumento no número e/ou atividade biológica de tais células em um indivíduo. Regular assim inclui, sem limitação, modular (p. ex., estimular) a expansão de tais células em um indivíduo e/ou, por exemplo, o acionamento da secreção da citocina (p. ex., TNF α ou IFN γ). Como indicado, as células T $\gamma\delta$ normalmente representam entre cerca de 1 – 10% dos linfócitos circulantes totais em um indivíduo humano adulto saudável. A presente invenção pode ser usada para significativamente aumentar a população das células T $\gamma\delta$ em um indivíduo, particularmente para alcançar pelo menos 10%, 12%, 15%, 20%, ou 30-90% dos linfócitos totais circulantes, tipicamente 40 – 90%, mais preferivelmente de 50 – 90%. Em formas de realização típicas, a invenção permite a expansão seletiva das células T $\gamma\delta$ em um indivíduo, para alcançar 60 – 90% dos linfócitos circulantes totais, preferivelmente 70 – 90%, mais preferivelmente de 80 – 90%. Regular também inclui, em adição ou em alternativa, modular a atividade biológica das células T $\gamma\delta$ em um indivíduo, particularmente sua atividade citolítica ou sua atividade de secreção de citocina. A invenção define novas condições e estratégias para aumentar a atividade biológica das células T $\gamma\delta$ em relação às células alvo.

Onde “compreendendo” for usado, este pode ser preferivelmente substituído por “consistindo essencialmente de”, mais preferivelmente por “consistindo de”.

Onde os termos numéricos aqui antes e a seguir forem usados, eles destinam-se a incluir os números representando os limites superior e inferior. Por exemplo, “entre 1 e 3” representa uma faixa “de e incluindo 1 até e incluindo 3” e “na faixa de 1 a 3” representaria “de e incluindo 1 até e

incluindo 3”. O mesmo é verdadeiro onde, em vez de números (p. ex., 3), palavras indicando números forem usadas (p. ex., “três”).

Onde “cerca de” for usado com relação a um número, este preferivelmente significa o número $\pm 15\%$, mais preferivelmente o número mais 5%, muitíssimo preferivelmente o próprio número sem “cerca de”. Por exemplo, “cerca de 100” representaria “de e incluindo 85 a e incluindo 115”. Onde “cerca de” for usado com relação a faixas numéricas, por exemplo, “cerca de 1 a cerca de 3” ou “entre cerca de 1 e cerca de três”, preferivelmente a definição de “cerca de” dada para um número da última frase é aplicada a cada número definindo o início e o fim de uma faixa separadamente. Preferivelmente, onde “cerca de” for usado com relação a quaisquer valores numéricos, “cerca de” pode ser eliminado.

“Semanalmente” representa “cerca de uma vez por semana” (significando que mais do que um tratamento é feito com um intervalo de cerca de uma semana entre tratamentos), cerca de aqui preferivelmente significando ± 1 dias (isto é, traduzindo em “cada 6 a 8 dias”); muitíssimo preferivelmente, “semanalmente” representa “uma vez a cada 7 dias”.

Como aqui usado, o termo “EC50”, com respeito a regular a atividade das células T $\gamma\delta$, refere-se à concentração eficiente das composições do assunto, que produzem 50% de sua máxima resposta ou efeito com respeito a tal atividade de células T $\gamma\delta$.

O termo “isolado” refere-se a um composto ou produto que representa pelo menos 30%, mais preferivelmente pelo menos 50%, 60% ou 70% e, muitíssimo preferivelmente, pelo menos 80%, 90%, 95% ou 98% do composto presente na mistura.

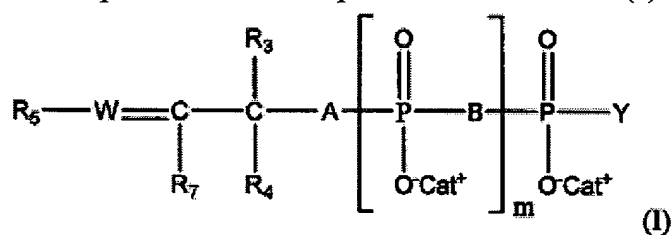
Fosfoantígeno ou composição de fosfoantígeno purificado refere-se a fosfoantígeno substancialmente puro, fosfoantígeno ou um seu sal essencialmente puro, ou a fosfoantígeno ou um seu sal que é substancialmente livre, essencialmente livre ou livre de outro composto.

Fosfoantígeno ou composição de fosfoantígeno “parcialmente purificada” refere-se a fosfoantígeno ou um seu sal que é menos do que 90% puro.

Nova classe de ativados de linfócito T $\gamma\delta$: angelil e tigilil fosfoésteres

A nova classe de compostos descrita pelos presentes inventores compreende angelil e tigilil fosfoésteres. Os inventores descobriram que os compostos desta classe apresentam significativa potência em relação a outros compostos na modulação da atividade das células T $\gamma\delta$. O reconhecimento dos compostos de angelil fosfoéster por seu alvo biológico pode envolver um processamento enzimático do composto. Este processamento pensa-se basear-se em uma reação de ciclização intramolecular concertada com a hidrólise do componente fosfato instável (ou liberação de energia). Os compostos de angelil fosfoéster do isômero Z são preditos favorecerem a ciclização intramolecular, em comparação com o isômero E do tigilil fosfoéster. Os compostos da classe de angelil fosfoéster podem ter aumentada potência (p. ex., menos composto necessário, menos probabilidade de toxicidade), ou estas composições podem fornecer distintas propriedades farmacológicas, por exemplo, afinidade de ligação alvo, propriedades ADME (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) em relação aos ativadores anteriormente conhecidos das células T $\gamma\delta$. Em outras formas de realização preferidas, são providos compostos específicos da invenção que podem ter diferentes propriedades e podem ser usados dependendo da aplicação procurada. Por exemplo, os compostos podem diferir quanto à estabilidade in vivo, resultando, por exemplo, em diferentes meias-vidas de circulação ou diferente ativação máxima das células T $\gamma\delta$.

A nova classe de ativadores de linfócito T $\gamma\delta$, de acordo com a presente invenção, compreende os compostos de Fórmula (I):



em que Cat⁺ representa um (ou diversos, idênticos ou diferentes) cátion(s) orgânico(s) ou mineral(ais) (incluindo próton);

m é um inteiro de 1 a 3;

B é O, NH, ou qualquer outro grupo capaz de ser hidrolisado;

5 A é O, NH, CHF, CF₂ ou CH₂, ou qualquer outro grupo isostérico;

W é C-R₆ ou N;

R₇ é um grupo (C₁-C₃)aquila ou qualquer outro grupo isostérico tal como CF₃;

10 R₃, R₄, e R₆, idênticos ou diferentes, são um hidrogênio ou um grupo (C₁-C₃)aquila ou qualquer outro grupo isostérico tal como CF₃;

R₅ é uma (C₂-C₃)acila, um aldeído, um (C₁-C₃)álcool, ou um (C₂-C₃)éster; e,

Y = O⁻Cat⁺, um grupo C₁-C₃ aquila, um grupo -A-R, em que

15 R é um grupo hidrocarboneto C₁-C₅₀ linear, ramificado ou cíclico, aromático ou não, saturado ou insaturado, opcionalmente interrompido pelo menos por um heteroátomo, em que dito grupo hidrocarboneto compreende uma aquila, uma alquilenila ou uma alquinila, preferivelmente uma aquila ou um alquilenilo, que pode ser substituído por um ou diversos substituintes

20 selecionados do grupo consistindo de: uma aquila, uma alquilenila, uma alquinila, um epoxialquila, uma arila, um heterociclo, uma alcóxi, uma acila, um álcool, um grupo carboxílico (-COOH), um éster, uma amina, um amino grupo (-NH₂), um amido (-CONH₂), uma imina, uma nitrila, uma hidroxila (-OH), um grupo aldeído (-CHO), um halogênio, uma halogenoalquila, um tiol

25 (-SH), uma tioalquila, uma sulfona, um sulfóxido, e uma combinação deles.

Um "grupo isostérico" refere-se a elementos, grupos funcionais, substituintes, moléculas ou íons tendo diferentes fórmulas moleculares, mas exibindo propriedades físicas similares ou idênticas. Por exemplo, CF₃ é um grupo isostérico of CH₃. Tipicamente, dois grupos

isostéricos têm volumes e formatos similares ou idênticos.

Em uma forma de realização particular, Y pode ser um radical selecionado do grupo consistindo de um nucleosídeo, um nucleotídeo, um oligonucleotídeo, um ácido nucléico, um amino ácido, um peptídeo, uma proteína, um monossacarídeo, um oligossacarídeo, um polissacarídeo, um ácido graxo, um lipídio simples, um lipídeo complexo, um ácido fólico, um ácido tetraidrofólico, um ácido fosfórico, um inositol, uma vitamina, uma coenzima, um flavonóide, um aldeído, um epóxido e uma haloidrina.

Em uma forma de realização, o grupo R_5 e o componente $-CR_3R_4-A-[POOB]_m-POOY$ de Fórmula (I) são na configuração Z (ou cis). Em outra forma de realização, o grupo R_5 e o componente $-CR_3R_4-A-[POOB]_n-POOY$ de Fórmula (I) são na configuração E (ou trans). Tanto quanto é observado aqui (vide Exemplos) aquele ativador de células T $\gamma\delta$ de fórmula (I), em que o grupo R_5 e o componente $-CR_3R_4-A-[POOB]_m-POOY$ são na configuração Z, tem atividade significativamente maior na ativação das células T $\gamma\delta$ do que na configuração E, a configuração Z sendo preferida.

Em uma forma de realização particular, os substituintes como definidos acima são substituídos por pelo menos um dos substituintes especificados acima.

Preferivelmente, os substituintes são selecionados do grupo consistindo de: uma (C_1-C_6) alquila, uma (C_2-C_6) alquilenila, uma (C_2-C_6) alquinila, uma (C_2-C_6) epoxialquila, uma arila, um heterociclo, um (C_1-C_6) alcóxi, uma (C_2-C_6) acila, um (C_1-C_6) álcool, um grupo carboxílico $(-COOH)$, um (C_2-C_6) éster, uma (C_1-C_6) amina, um amino grupo $(-NH_2)$, um amido $(-CONH_2)$, uma (C_1-C_6) imina, uma nitrila, uma hidroxila $(-OH)$, um grupo aldeído $(-CHO)$, um halogênio, uma (C_1-C_6) halogenoalquila, um tiol $(-SH)$, uma (C_1-C_6) tioalquila, um (C_1-C_6) sulfona, um (C_1-C_6) sulfóxido, e uma combinação deles.

Mais Preferivelmente, os substituintes são selecionados do grupo consistindo de: uma (C₁-C₆)alquila, uma (C₂-C₆)epoxialquila, uma (C₂-C₆)alquilenila, um (C₁-C₆)alcóxi, uma (C₂-C₆)acila, uma (C₁-C₆)álcool, um (C₂-C₆)éster, uma (C₁-C₆) amina, uma (C₁-C₆)imina, uma hidroxila, um grupo
 5 aldeído, um halogênio, uma (C₁-C₆)halogenoalquila, e uma combinação deles.

Ainda mais preferivelmente, os substituintes são selecionados do grupo consistindo de: uma (C₃-C₆)epoxialquila, um (C₁-C₃)alcóxi, uma (C₂-C₃)acila, um (C₁-C₃)álcool, um (C₂-C₃)éster, uma (C₁-C₃)amina, uma (C₁-
 10 C₃)imina, uma hidroxila, um halogênio, uma (C₁-C₃)halogenoalquila, e uma combinação deles.

Preferivelmente, dito grupo hidrocarboneto é um grupo (C₃-C₂₅)hidrocarboneto, mais preferivelmente um grupo (C₅-C₁₀) hidrocarboneto.

No contexto da presente invenção, o termo "alquila" mais
 15 especificamente significa um grupo tal como metila, etila, propila, isopropila, butila, isobutila, pentila, hexila, heptila, octila, nonila, decila, undecila, dodecila, tridecila, tetradecila, pentadecila, hexadecila, heptadecila, octadecila, nonadecila, eicosila, heneicosila, docosila e suas outras formas isoméricas. (C₁-C₆)alquila mais especificamente significa metila, etila, propila,
 20 isopropila, butila, isobutila, terc-butila, pentila, hexila e suas outras formas isoméricas. (C₁-C₃)alquila mais especificamente significa metila, etila, propila, ou isopropila.

O termo "alquenila" refere-se a um grupo alquila definido aqui antes, tendo pelo menos uma ligação etileno insaturada e o termo "alquinila"
 25 refere-se a um grupo alquila definido acima, tendo pelo menos uma ligação acetileno insaturada. (C₂-C₆)alquilenilo inclui etenila, propenila (1-propenila ou 2-propenila), 1- ou 2-metilpropenila, uma butenila (1-butenila, 2-butenila, ou 3-butenila), uma metilbutenila, uma 2-etilpropenila, uma pentenila (1-pentenila, 2-pentenila, 3-pentenila, 4-pentenila), uma hexenila (1-hexenila, 2-

hexenila, 3-hexenila, 4-hexenila, 5-hexenila), e suas outras formas isoméricas. (C₂-C₆)alquinila inclui etinila, 1-propinila, 2-propinila, 1-butinila, 2-butinila, 3-butinila, 1-pentinila, 2-pentinila, 3-pentinila, 4-pentinila, 1-hexinila, 2-hexinila, 3-hexinila, 4-hexinila, ou 5-hexinila e suas outras formas isoméricas.

5 O termo "epoxialquila" refere-se um grupo alquila definido aqui antes tendo um grupo epóxido. Mais particularmente, (C₂-C₆)epoxiaquila inclui epoxietila, epoxipropila, epoxibutila, epoxipentila, epoxiexila e suas outras formas isoméricas. (C₂-C₃)epoxiaquila inclui epoxietila e epoxipropila.

10 Os grupos "arila" são hidrocarbonetos aromáticos mono-, bi- ou tricíclicos, tendo de 6 a 18 átomos de carbono. Exemplos incluem um grupo fenila, α -naftila, β -naftila ou antracenila, em particular.

15 Grupos "heterociclo" são grupos contendo 5 a 18 anéis compreendendo um ou mais heteroátomos, preferivelmente 1 a 5 heteroátomos endocíclicos. Eles podem ser mono, bi ou tricíclicos. Eles podem ser aromáticos ou não. Preferivelmente e mais especificamente para R₅, eles são heterociclos aromáticos. Exemplos de heterociclos aromáticos incluem grupos heteropiridina, piridazina, pirimidina, pirazina, furano, tiofeno, pirrol, oxazol, tiazol, isotiazol, imidazol, pirazol, oxadiazol, triazol, tiadiazol e triazina. Exemplos de biciclos incluem, em particular, grupos quinolina, 20 isoquinolina e quinazolina (para dois anéis de 6-membros) e indol, benzimidazol, benzoxazol, benzotiazol e indazol (para um anel de 6 membros e um anel de 5 membros). Heterociclos não-aromáticos compreendem, em particular, piperazina, piperidina, etc.

25 Os grupos "alcóxi" correspondem aos grupos alquila definidos aqui antes, ligados à molécula por uma ligação -O- (éter). (C₁-C₆)alcóxi inclui metóxi, etóxi, propilóxi, butilóxi, pentilóxi, hexilóxi e suas outras formas isoméricas. (C₁-C₃)alcóxi inclui metóxi, etóxi, propilóxi, e isopropilóxi.

Os grupos "alcila" correspondem aos grupos alquila definidos aqui antes, ligados à molécula por um grupo CO-(carbonila). (C₂-C₆)acila

inclui cetila, propilacila, butilacila, pentilacila, hexilacila e suas outras formas isoméricas. (C₂-C₃)acila inclui cetila, propilacila e isopropilacila.

Os grupos “álcool” correspondem aos grupos alquila definidos acima, contendo pelo menos um grupo hidroxila. O álcool pode ser primário, secundário ou terciário. (C₁-C₆)álcool inclui metanol, etanol, propanol, butanol, pentanol, hexanol e suas outras formas isoméricas. (C₁-C₃)álcool inclui metanol, etanol, propanol e isopropanol.

Os grupos “éster” correspondem aos grupos alquila definidos aqui antes, ligados à molécula por uma ligação COO- (éster). (C₂-C₆) éster inclui metiléster, etiléster, propiléster, butiléster, pentiléster e suas outras formas isoméricas. (C₂-C₃)éster inclui metiléster e etiléster.

Grupos “amina” correspondem aos grupos alquila definidos acima, ligados à molécula por uma ligação -N-(amina). (C₁-C₆)amina inclui metilamina, etilamina, propilamina, butilamina, pentilamina, hexilamina e suas outras formas isoméricas. (C₁-C₃)amina inclui metilamina, etilamina, e propilamina.

Grupos “imina” correspondem aos grupos alquila definidos aqui antes, tendo uma ligação (-C=N-). (C₁-C₆)imina inclui metilimina, etilimina, propilimina, butilimina, pentilimina, hexilimina e suas outras formas isoméricas. (C₁-C₃)imina inclui metilimina, etilimina, e propilimina.

O halogênio pode ser Cl, Br, I, ou F, mais preferivelmente Br ou F.

Grupos “halogenoalquila” correspondem aos grupos alquila definidos aqui antes, tendo pelo menos um halogênio. Os grupos podem ser monoalogenados ou polialogenados, contendo os mesmos ou diferentes átomos de halogênio. Por exemplo, o grupo pode ser uma trifluoroalquila (CF₃-R). (C₁-C₆)halogenoalquila inclui halogenometila, halogenoetila, halogenopropila, halogenobutila, halogenopentila, halogenoexila e suas outras formas isoméricas. (C₁-C₃)halogenoalquila inclui halogenometila,

halogenoetila, e halogenopropila.

Grupos "tioalquila" correspondem aos grupos alquila definidos aqui antes, ligados à molécula por uma ligação -S- (tioéter). (C₁-C₆)tioalquila inclui tiometila, tioetila, tiopropila, tiobutila, tiopentila, tioexila e suas outras formas isoméricas. (C₁-C₃)tioalquila inclui tiometila, tioetila, e tiopropila.

Grupos "sulfona" correspondem aos grupos alquila definidos aqui antes, ligados à molécula por uma ligação -SOO- (sulfona). (C₁-C₆)sulfona inclui metilsulfona, etilsulfona, propilsulfona, butilsulfona, pentilsulfona, hexilsulfona e suas outras formas isoméricas. (C₁-C₃)sulfona inclui metilsulfona, etilsulfona e propilsulfona.

Grupos "Sulfóxido" correspondem aos grupos alquila definidos aqui antes, ligados à molécula por uma ligação grupo -SO- (sulfóxido). (C₁-C₆)sulfóxido inclui metilsulfóxido, etilsulfóxido, propilsulfóxido, butilsulfóxido, pentilsulfóxido, hexilsulfóxido e suas outras formas isoméricas. (C₁-C₃)sulfóxido inclui metilsulfóxido, etilsulfóxido, propilsulfóxido e isopropilsulfóxido.

"Heteroátomo" indica N, S, ou O.

"Nucleosídeo" inclui denosina, timina, uridina, citidina e guanosina.

Em uma forma de realização particular, o grupo hidrocarboneto é uma cicloalquilenila tal como um ciclopentadieno ou uma fenila, ou um heterociclo tal como um furano, um pirrol, um tiofeno, um tiazol, um imidazol, um triazol, uma piridina, uma pirimidina, um pirano, ou uma pirazina. Preferivelmente, a cicloalquilenila ou o heterociclo é selecionado do grupo consistindo de um ciclopentadieno, um pirrol ou um imidazol. Em uma forma de realização preferida, a cicloalquilenila ou o heterociclo é substituído por um álcool. Preferivelmente, dito álcool é um (C₁-C₃)álcool.

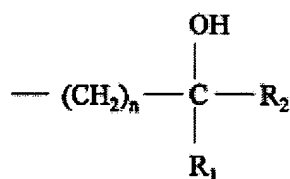
Em uma outra forma de realização, o grupo hidrocarboneto é uma alquilenila com uma ou diversas duplas ligações. Preferivelmente, o

grupo alquilenila tem uma dupla ligação. Preferivelmente, o grupo alquilenila é um grupo (C₃-C₁₀)alquilenila, mais preferivelmente um grupo (C₄-C₇)alquilenila. Preferivelmente, dito grupo alquilenila é substituído por pelo menos um grupo funcional. Mais preferivelmente, o grupo funcional é selecionado do grupo consistindo de um hidróxi, um (C₁-C₃)alcóxi, um aldeído, uma (C₂-C₃)acila ou um (C₂-C₃)éster. Em uma forma de realização mais preferida, o grupo hidrocarboneto é butenila substituída por um grupo -CH₂OH. Opcionalmente, dito grupo alquilenila pode ser a isoforma trans (E) ou cis (Z), mais preferivelmente uma isoforma trans (Z). Em um exemplo, o grupo alquilenila é (E ou Z)-4-hidróxi-2-metilbut-2-enila. Em uma forma de realização particular, o composto é pirofosfonato de (E ou Z) 5-hidróxi-3-metilpent-3-enila ou pirofosforamidato de (E ou Z) 4-hidróxi-2-metil-but-2-enila.

Em uma forma de realização adicional, o grupo hidrocarboneto é um grupo alquila substituído por uma acila. Mais preferivelmente, o grupo hidrocarboneto é um grupo (C₄-C₇)alquila substituído por uma (C₁-C₃)acila.

Em uma outra forma de realização preferida particular, R é selecionado do grupo consistindo de:

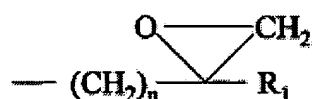
1)



em que n é um inteiro de 2 a 20, R₁ é um grupo (C₁-C₃) alquila, e R₂ é uma (C₁-C₃) alquila halogenada, uma (C₁-C₃)alcóxi-(C₁-C₃)alquila, uma (C₁-C₃)acila halogenada ou uma (C₁-C₃)alcóxi-(C₂-C₃)acila. Preferivelmente, R₁ é um grupo metila ou etila, e R₂ é uma metila halogenada (-CH₂-X, X sendo um halogênio), uma (C₂-C₃)acetila halogenada ou (C₁-C₃)alcóxi-acetila. A metila ou acetila halogenada pode ser mono, di ou tri-halogenada. Preferivelmente, n é um inteiro de 2 a 10, ou de 2 a 5. Em uma forma de realização mais

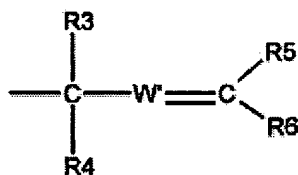
preferida, n é 2. Em uma forma de realização muitíssimo preferida, n é 2, R₁ é uma metila e R₂ é uma metila halogenada, mais preferivelmente uma metila mono-halogenada, ainda mais preferivelmente uma bromometila ou iodometila. Em uma forma de realização particularmente preferida, n é 2, R₁ é uma metila, R₂ é uma bromometila. Em uma forma de realização muitíssimo preferida, R é 3-(bromometil)-3-butanol-1-ila.

2)



em que n é um inteiro do 2 a 20, e R₁ é um grupo metila ou etila. Preferivelmente, n é um inteiro do 2 a 10, ou de 2 a 5. Em uma mais preferida forma de realização, n é 2 e R₁ é uma metila.

3)



em que R₃, R₄, e R₆, idênticos ou diferentes, são hidrogênio ou um (C₁-C₃)alquila ou qualquer outro grupo isostérico, W' é CH ou N, e R₅ é uma (C₂-C₃)acila, um aldeído, uma (C₁-C₃)álcool, ou um (C₂-C₃)éster. Mais preferivelmente, R₆ é uma metila e R₃ e R₄ são hidrogênio. Preferivelmente, R₅ é -CH₂-OH, -CHO, -CO-CH₃ ou -CO-OCH₃. Mais preferivelmente, R₅ é -CH₂-OH. mais preferivelmente, W é CH. Opcionalmente, a dupla ligação entre W e C é em conformação trans (E) ou cis (Z). Mais preferivelmente, a dupla ligação entre W e C é em conformação trans (E).

O grupo Y pode permitir o projeto de um promedicamento. Portanto, Y é grupo enzimoinstável, que pode ser clivado em regiões particulares. O grupo Y pode também ser grupo de alvejamento. Em uma forma de realização preferida, Y é O⁺Cat, um grupo -A-R ou um radical selecionado do grupo consistindo de um nucleosídeo, um monossacarídeo, um epóxido e uma haloidrina. Preferivelmente, Y é um grupo enzimoinstável.

Preferivelmente, Y é O⁻Cat⁺, um grupo -A-R, ou um nucleosídeo. Em uma primeira forma de realização preferida, Y é O⁻Cat⁺. Em uma segunda forma de realização preferida, Y é um nucleosídeo.

Em uma forma de realização preferida, Cat⁺ é H⁺, Na⁺, NH₄⁺,
5 K⁺, Li⁺, (CH₃CH₂)₃NH⁺, lisina ou qualquer outro cátion aceitável
farmaceuticamente adequado.

Em uma forma de realização preferida, A é O, NH, CHF, CF₂ ou CH₂. Preferivelmente, A é O, NH ou CH₂. Mais preferivelmente, A é O, ou CH₂. Ainda mais preferivelmente, A é O.

10 Em uma forma de realização preferida, B é O ou NH. Mais preferivelmente, B é O.

Em uma forma de realização preferida, m é 1 ou 2. Mais preferivelmente, m é 1.

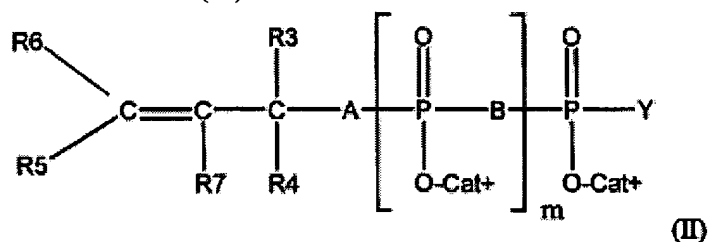
Em uma forma de realização preferida, R₃, R₆ e R₄ são

Em uma forma de realização preferida, R₅ é -CH₂-OH, -CHO, -CO-CH₃ ou -CO-OCH₃. Mais preferivelmente, R₅ é -CH₂-OH.

Em uma forma de realização preferida, R₇ é CH₃ ou um seu grupo isostérico, tal como CH₂F, CF₂H ou CF₃. Mais preferivelmente, R₇ é CH₃.

Em um outro aspecto, dito ativador é um composto selecionado do grupo consistindo de:

* Um composto de Fórmula (II):



em que Cat⁺ representa um (ou diversos, idênticos ou diferentes) um cátion(s)
25 orgânico(s) ou mineral(ais) (incluindo próton);

m é um inteiro de 1 a 3;

B é O, NH, ou qualquer outro grupo capaz de ser hidrolisado;

A é O, NH, CHF, CF₂ ou CH₂, ou qualquer outro grupo isostérico;

5 R₇ é um grupo (C₁-C₃)alquila ou qualquer outro grupo isostérico tal como CF₃;

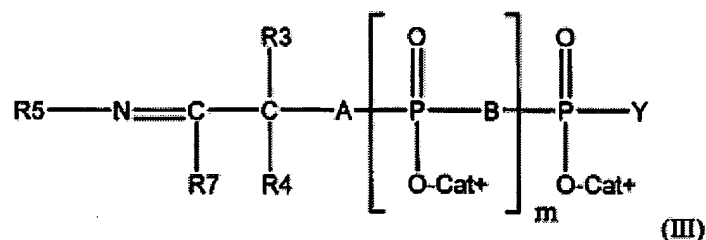
R₃, R₄, e R₆, idênticos ou diferentes, são um hidrogênio ou um grupo (C₁-C₃)alquila ou qualquer outro grupo isostérico tal como CF₃;

10 R₅ é uma (C₂-C₃)acila, um aldeído, um (C₁-C₃)álcool, ou um (C₂-C₃)éster; e

Y é definido como na Fórmula (I).

Preferivelmente, A é O ou CH₂. Mais preferivelmente, A é O. Mais preferivelmente, R₃, R₆ e R₄ são hidrogênio. Preferivelmente, R₇ é CH₃ ou um seu grupo isostérico. Mais preferivelmente, R₇ é CH₃. Preferivelmente, 15 R₅ é -CH₂-OH, -CHO, -CO-CH₃ ou -CO-OCH₃. Mais preferivelmente, R₅ é -CH₂-OH. Preferivelmente, Y é O⁺Cat. Preferivelmente, m é 1. Preferivelmente, B é O. Em uma forma de realização, o grupo R₅ e o componente -CR₃R₄-A-[POOB]_m-POOY de Fórmula (II) são na configuração E (ou trans). Em uma forma de realização preferida, o grupo R₅ e o 20 componente -CR₃R₄-A-[POOB]_m-POOY de Fórmula (II) são na configuração Z (ou cis).

* Um composto de Fórmula (III):



em que Cat⁺ representa um (ou diversos, idênticos ou diferentes) cátion(s) orgânico(s) ou mineral(ais) (incluindo próton);

25 m é um inteiro do 1 uma 3;

B é O, NH, ou qualquer outro grupo capaz do ser hidrolisado;

A é O, NH, CHF₃, CF₂ ou CH₂, ou qualquer outro grupo isostérico tal como CF₃;

5 R₇ é um grupo (C₁-C₃)alquila ou qualquer outro grupo isostérico tal como CF₃;

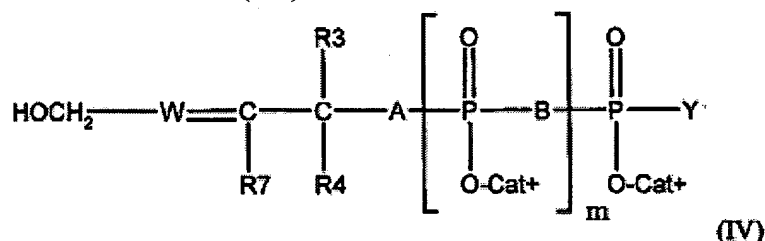
R₃, e R₄, idênticos ou diferentes, são um hidrogênio ou um grupo (C₁-C₃)alquila ou qualquer outro grupo isostérico tal como CF₃;

R₅ é uma (C₂-C₃)acila, um aldeído, um (C₁-C₃)álcool, ou um (C₂-C₃)éster; e

10 Y é definido como na Fórmula (I).

Preferivelmente, A é O ou CH₂. Mais preferivelmente, A é O. Mais preferivelmente, R₃ e R₄ são hidrogênio. Preferivelmente, R₅ é -CH₂-OH, -CHO, -CO-CH₃ ou -CO-OCH₃. Mais preferivelmente, R₅ é -CH₂-OH. Preferivelmente, Y é O⁻Cat⁺. Preferivelmente, m é 1. Preferivelmente, B é O. Preferivelmente, R₇ é CH₃ ou um seu grupo isostérico, tal como CH₂F, CF₂H ou CF₃. Mais preferivelmente, R₇ é CH₃. Em uma forma de realização, o grupo R₅ e o componente -CR₃R₄-A-[POOB]_m-POOY de Fórmula (m) são na configuração E (ou trans). Em uma forma de realização preferida, o grupo R₅ e o componente -CR₃R_t-A-[POOB]_m-POOY de Fórmula (III) são na configuração Z (ou cis).

* Um composto de Fórmula (IV):



em que Cat⁺ representa um (ou diversos, idênticos ou diferentes) cátion(s) orgânico(s) ou mineral(ais) (incluindo próton);

m é um inteiro de 1 a 3,

25 B é O, NH, ou qualquer outro grupo capaz de ser hidrolisado,

A é O, NH, CHF, CF₂ ou CH₂, e

W é C-R₆ ou N;

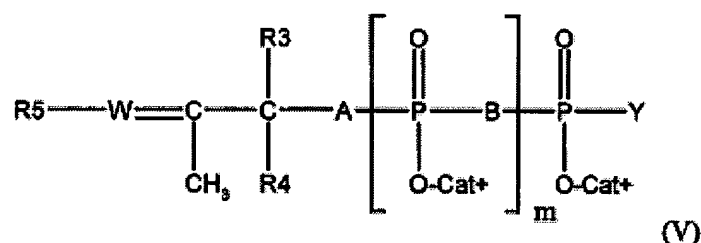
R₇ é um grupo (C₁-C₃)alquila ou qualquer outro grupo isostérico tal como CF₃,

5 R₃, R₄, e R₆, idênticos ou diferentes, são um hidrogênio ou um grupo (C₁-C₃)alquila ou qualquer outro grupo isostérico, e

Y é definido como na Fórmula (I).

Preferivelmente, A é O ou CH₂. Mais preferivelmente, A é O. Mais preferivelmente, R₃, R₆ e R₄ são hidrogênio. Preferivelmente, R₇ é CH₃ ou um seu grupo isostérico. Mais preferivelmente, R₇ é CH₃. Preferivelmente, Y é O⁻Cat⁺. Preferivelmente, m é 1. Preferivelmente, B é O. Em uma forma de realização, o grupo -CH₂-OH e o componente -CR₃R₄-A-[POOB]_m-POOY de Fórmula (IV) são na configuração E (ou trans). Em uma forma de realização preferida, o grupo -CH₂-OH e o componente -CR₃R₄-A-[POOB]_m-POOY de Fórmula (IV) são na configuração Z (ou cis).

* Um composto de Fórmula (V):



em que Cat⁺ representa um (ou diversos, idênticos ou diferentes) cátion(s) orgânico(s) ou mineral(ais) (incluindo próton);

m é um inteiro de 1 a 3,

20 B é O, NH, ou qualquer outro grupo capaz de ser hidrolisado,

A é O, NH, CHF, CF₂ ou CH₂,

W é C-R₆ ou N;

R₃, R₄, e R₆, idênticos ou diferentes, são hidrogênio ou grupo (C₁-C₃)alquila ou um grupo isostérico,

25 R₅ é uma (C₂-C₃)acila, um aldeído, um (C₁-C₃)álcool, ou um

(C₂-C₃)éster, e

Y é definido como na Fórmula (I).

Preferivelmente, A é O ou CH₂. Mais preferivelmente, A é O.

Mais preferivelmente, R₃, R₆ e R₄ são hidrogênio. Preferivelmente, R₅ é -CH₂-

5 OH, -CHO, -CO-CH₃ ou -CO-OCH₃. Mais preferivelmente, R₅ é -CH₂-OH.

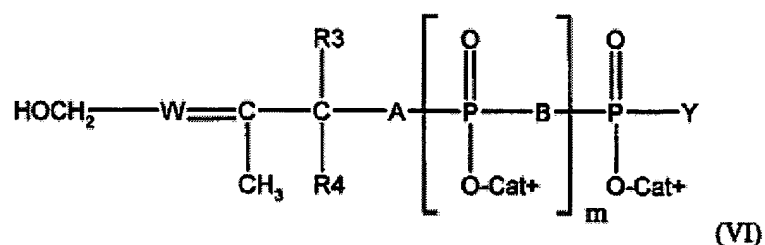
Preferivelmente, Y é O⁻Cat⁺. Preferivelmente, m é 1. Preferivelmente, B é O.

Em uma forma de realização, o composto de Fórmula (V) é na configuração E

(ou trans). Em uma forma de realização preferida, o composto de Fórmula (V)

é na configuração Z (ou cis).

10 * Um composto de Fórmula (VI):



em que Cat⁺ representa um (ou diversos, idênticos ou diferentes) cátion(s) orgânico(s) ou mineral(ais) (incluindo próton);

m é um inteiro de 1 a 3,

B é O, NH, ou qualquer outro grupo capaz de ser hidrolisado,

15 A é O, NH, CHF, CF₂ ou CH₂; e

W é C-R₆ ou N;

R₃, R₄, e R₆, idênticos ou diferentes, são hidrogênio ou grupo (C₁-C₃)alquila ou um grupo isostérico,

Y é definido como na Fórmula (I).

20 Preferivelmente, A é O ou CH₂. Mais preferivelmente, A é O.

Mais preferivelmente, R₃, R₆ e R₄ são hidrogênio. Preferivelmente, Y é O⁻

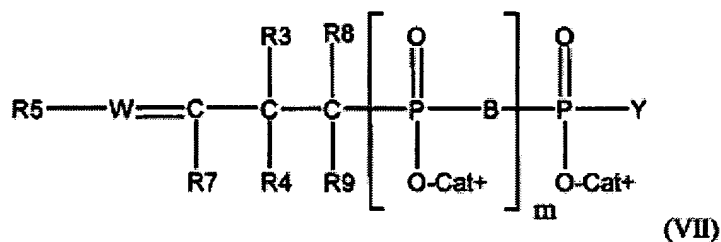
Cat⁺. Preferivelmente, m é 1. Preferivelmente, B é O. Em uma forma de

realização, o composto de Fórmula (VI) é na configuração E (ou trans). Em

uma forma de realização preferida, o composto de Fórmula (VI) é na

25 configuração Z (ou cis).

* Um composto de Fórmula (VII):



em que Cat⁺ representa um (ou diversos, idênticos ou diferentes) cátion(s) orgânico(s) ou mineral(ais) (incluindo próton);

m é um inteiro de 1 a 3,

5 B é O, NH, ou qualquer outro grupo capaz de ser hidrolisado,

W é C-R₆ ou N;

R₇ é um grupo (C₁-C₃)alquila ou um grupo isostérico tal como CF₃,

10 R₃, R₄, e R₆, idênticos ou diferentes, são um hidrogênio ou um (ci.C₃)grupo alquila ou um grupo isostérico tal como CF₃,

R₈ é H ou F,

R₉ é H ou F,

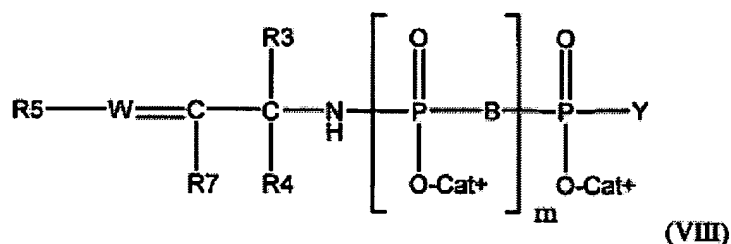
Y é definido como na Fórmula (I), e

15 R₅ é uma (C₂-C₃)acila, um aldeído, um (C₁-C₃)álcool, ou um (C₂-C₃)éster.

Preferivelmente, R₃, R₆ e R₄ são hidrogênio. Preferivelmente, R₅ é -CH₂-OH, -CHO, -CO-CH₃ ou -CO- OCH₃, mais preferivelmente -CH₂-OH. Preferivelmente, R₇ é CH₃ ou um seu grupo isostérico, mais preferivelmente CH₃. Preferivelmente, Y é O⁻Cat⁺. Preferivelmente, m é 1.

20 Preferivelmente, B é O. Preferivelmente, R₈ e R₉ são hidrogênio. Em uma forma de realização, o grupo R₅ e o componente -CR₃R₄-A-[POOB]_m-POOY de Fórmula (VII) são na configuração E (ou trans). Em uma forma de realização preferida, o grupo R₅ e o componente -CR₃R₄-A-[POOB]_m-POOY de Fórmula (VII) são na configuração Z (ou cis).

25 * Um composto de Fórmula (VIII):



em que Cat⁺ representa um (ou diversos, idênticos ou diferentes) cátion(s) orgânico(s) ou mineral(ais) (incluindo próton);

m é um inteiro de 1 a 3,

B é O, NH, ou qualquer outro grupo capaz de ser hidrolisado,

5 R₇ é um grupo (C₁-C₃)alquila ou um grupo isostérico tal como CF₃,

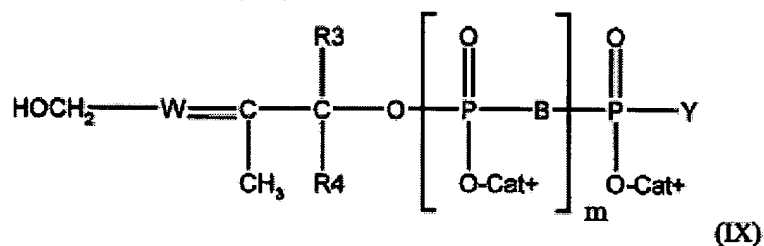
R₃, R₄, e R₆, idênticos ou diferentes, são um hidrogênio ou um grupo (C₁-C₃)alquila ou um grupo isostérico tal como CF₃,

Y é definido como na Fórmula (I), e

10 R₅ é uma (C₂-C₃)acila, um aldeído, um (C₁-C₃)álcool, ou um (C₂-C₃)éster.

Preferivelmente, R₃, R₆ e R₄ são hidrogênio. Preferivelmente, R₅ é -CH₂-OH, -CHO, -CO-CH₃ ou -CO- OCH₃, mais preferivelmente -CH₂-OH. Preferivelmente, R₇ é CH₃ ou um seu grupo isostérico, mais
 15 preferivelmente CH₃. Preferivelmente, Y é O⁻Cat⁺. Preferivelmente, m é 1. Preferivelmente, B é O. Em uma forma de realização, o grupo R₅ e o componente -CR₃R₄-A-[POOB]_m-POOY de Fórmula (VIII) são na configuração E (ou trans). Em uma forma de realização preferida, o grupo R₅ e o componente -CR₃R₄-A-[POOB]_m-POOY de Fórmula (VIII) são na
 20 configuração Z (ou cis).

* Um composto de Fórmula (IX):



em que Cat⁺ representa um (ou diversos, idênticos ou diferentes) cátion(s) orgânico(s) ou mineral(ais) (incluindo próton);

m é um inteiro de 1 a 3.

B é O, NH, ou qualquer outro grupo capaz de ser hidrolisado,

5 W é C- R_6 ou N;

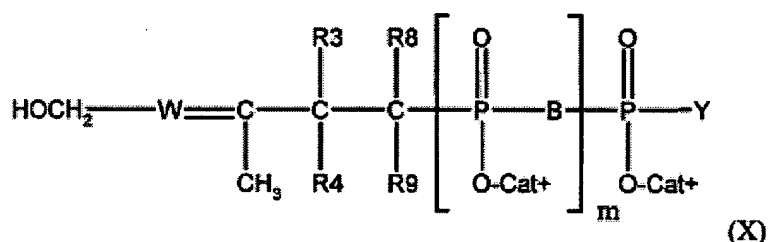
R₃, R₄, e R₆, idênticos ou diferentes, são hidrogênio, uma grupo (C₁-C₃)alquila ou um grupo isostérico tal como CF₃,

Y é definido como na Fórmula (I).

Preferivelmente, R₃, R₆ e R₄ são hidrogênio. Preferivelmente,

10 Y é O⁻Cat+. Preferivelmente, m é 1. Preferivelmente, B é O. Em uma forma de realização, o composto de Fórmula (IX) é na configuração E (ou trans). Em uma forma de realização preferida, o composto de Fórmula (IX) é na configuração Z (ou cis).

* Um composto de Fórmula (X):



15 em que Cat⁺ representa um (ou diversos, idênticos ou diferentes) cátion(s)
orgânico(s) ou mineral(ais) (incluindo próton);

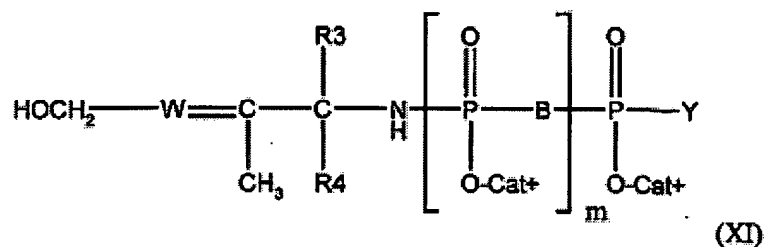
m é um inteiro de 1 a 3,

B é O, NH, ou qualquer outro grupo capaz de ser hidrolisado,

W é C-R₆ ou N; R₃, R₄, e R₆, idênticos ou diferentes, são
20 hidrogênio, uma grupo (C₁-C₃)alquila ou um grupo isostérico tal como CF₃,
R₈ é H ou F, R₉ é H ou F, e Y é definido como na Fórmula (I).
Preferivelmente, R₃, R₆ e R₄ são hidrogênio. Preferivelmente, Y é O⁻Cat⁺.
Preferivelmente, m é 1. Preferivelmente, B é O. Preferivelmente, R₈ e R₉ são
hidrogênio. Em uma forma de realização, o composto de Fórmula (X) é na
25 configuração E (ou trans). Em uma forma de realização preferida, o composto

de Fórmula (X) é na configuração Z (ou cis).

* Um composto de Fórmula (XI):



em que Cat⁺ representa um (ou diversos, idênticos ou diferentes) cátion(s) orgânico(s) ou mineral(ais) (incluindo próton);

5 m é um inteiro de 1 a 3,

B é O, NH, ou qualquer outro grupo capaz de ser hidrolisado,

W é C-R₆ ou N;

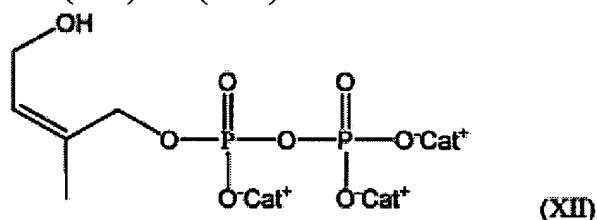
R₃, R₄, e R₆, idênticos ou diferentes, são hidrogênio, um grupo(C₁-C₃)alquila ou um grupo isostérico tal como CF₃, e

10 Y é definido como na Fórmula (I).

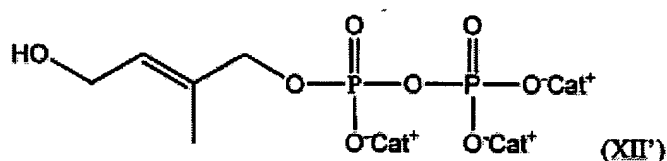
Preferivelmente, R₃, R₆ e R₄ são hidrogênio. Preferivelmente, Y é O⁻Cat⁺. Preferivelmente, m é 1. Preferivelmente, B é O. Em uma forma de realização, o composto de Fórmula (XI) é na configuração E (ou trans). Em uma forma de realização preferida, o composto de Fórmula (XI) é na

15 configuração Z (ou cis).

Em outras formas de realização, o ativador células T γδ é um composto de Fórmula (XII) ou (XII'):

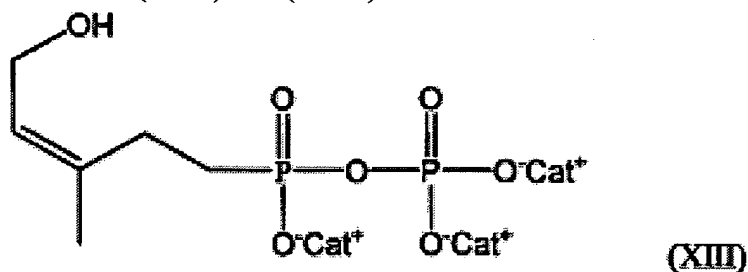


pirofosfato de (Z)-4-hidróxi-2-metilbut-2-enila (também referido como HAngelilPP)

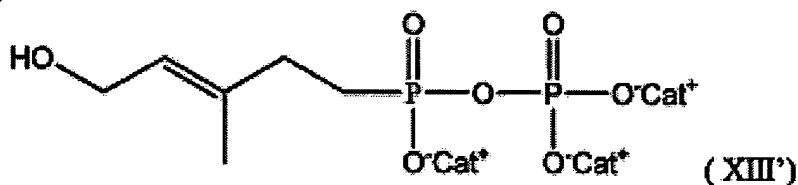


pirofosfato de (E)-4-hidróxi-2-metilbut-2-enila (também referido como HTiglilPP)

Em outras formas de realização, o ativador células T $\gamma\delta$ é um composto de Fórmula (XIII) ou (XIII'):

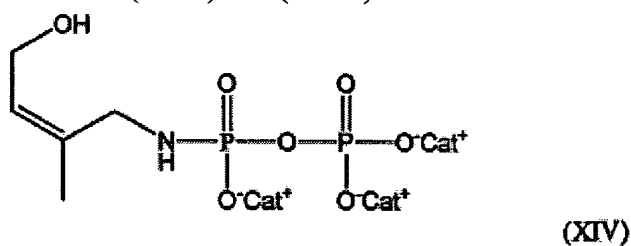


- 5 pirofosfonato de (Z)-5-hidróxi-3-metilpent-3-enila (também referido como C-HAngelilPP)

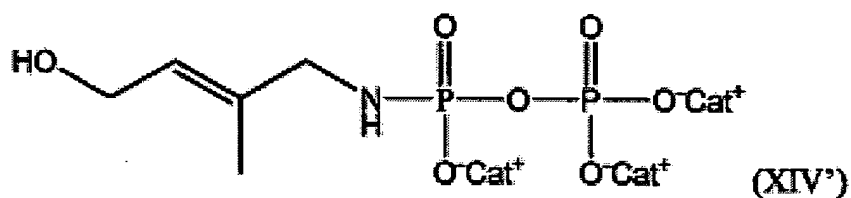


pirofosfonato de (E)-5-hidróxi-3-metilpent-3-enila (também referido como C-HTiglilPP)

- 10 Em outras formas de realização, o ativador das células T $\gamma\delta$ é um composto de Fórmula (XIV) ou (XIV'):



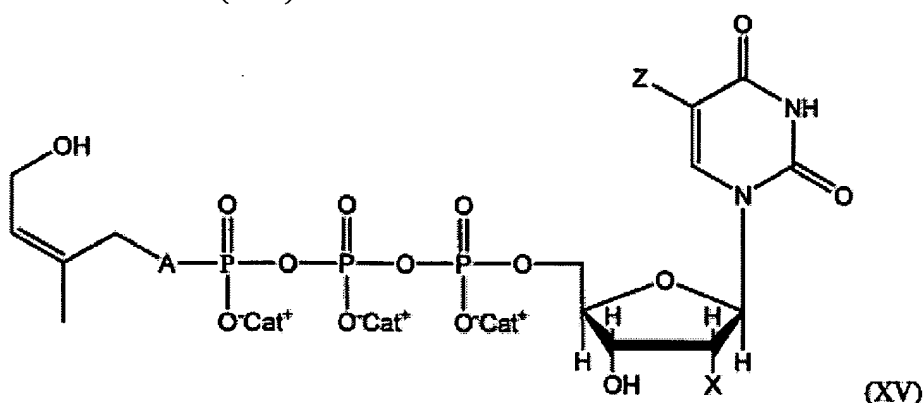
pirofosforamidato de (Z)-4-hidróxi-2-metilbut-2-enila (também referido como N-HAngelilPP)



pirofosforamidato de (E)-4-hidróxi-2-metilbut-2-enila (também referido como N-HTiglilPP)

- 15 Em outras formas de realização, o ativador células T $\gamma\delta$ é um

composto de Fórmula (XV):



em que Cat^+ e A são definidos como na Fórmula (I); X é H e Z é CH_3 (deoxiribonucleosídeo é timidina) ou X é OH e Z é H (ribonucleosídeo é uridina)

- 5 Em uma forma de realização, o composto de Fórmula (XV) é na configuração E (ou trans). Em uma forma de realização preferida, o composto de Fórmula (XV) é na configuração Z (ou cis).

Síntese

- 10 Como um princípio geral para métodos exemplificativos, um componente alquila é preparado em uma primeira etapa e acoplado a um componente contendo fósforo. Para fins de simplicidade, os seguintes esquemas são mostrados para compostos em que Y é O-Cat^+ . Se um diferente grupo Y for desejado, este pode ser preparado em uma outra etapa como aqui descrito.

- 15 Dependendo do tipo e reatividade dos grupos funcionais providos pelo componente alquila (representado por R no exame abaixo), uma pessoa hábil na arte é capaz de adaptar os exemplos de síntese apresentados aqui, se necessário incluindo as fases de proteção/desproteção dos grupos funcionais sensíveis ou aqueles que podem interagir com a reação de
- 20 acoplamento.

A etapa de acoplamento é geralmente a etapa crítica para síntese e purificação. Numerosos exemplos para acoplamento são providos como segue, dependendo da identidade de uma posição A.

Os monoésteres de fosfato de Fórmula I ou II, em que A é O e em que Y é O-Cat⁺, podem ser preparados usando-se uma etapa de acoplamento de acordo com as condições similares às aquelas descritas em qualquer uma das publicações: Davisson et al. (1984) e Davisson et al. (1987) e US Patente No. 6.660.723 de Belmant et al., cujas descrições são incorporadas aqui por referência.

Os monoésteres de fosforamidata de Fórmula I ou II, em que A é NH e onde Y é O-Cat⁺, podem ser preparados usando-se uma etapa de acoplamento de acordo com condições similares às aquelas descritas em qualquer uma das publicações: Cox et al. (2002) e Sato et al. (1990) e pedidos de patente PCT copendentes nos. PCT/IB2004/004311 e 60/579.237 de Belmant et al., cujas descrições são incorporadas aqui por referência.

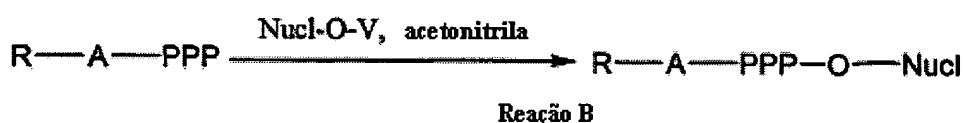
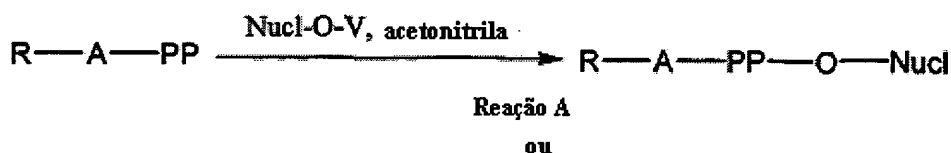
Os monoésteres de fosfonato monoésteres de Fórmula I ou II, em que A é CH₂ e em que Y é O-Cat⁺, podem ser preparados usando-se uma etapa de acoplamento de acordo com condições similares às aquelas descritas nas publicações: Valentijn (1991); Cox et al (2002), pedidos de patente provisória US 60/629.069, 60/564.959 de Tiollier, e publicação de patente PCT no. WO 03/050128, cujas descrições são incorporadas aqui por referência.

Os monoésteres de difluoro e monofluorofosfonato de fórmula I ou II, em que A é CF ou CF₂ e onde Y é O-Cat⁺, podem ser preparados utilizando-se uma etapa de acoplamento de acordo com condições similares às aquelas descritas nas publicações: Cox et al. (2002), Waschbusch et al. (1997) e Burton et al. (1989), cujas descrições são incorporadas aqui por referência.

Os fosfoésteres de angelil podem ser purificados por AHPLC de fase inversa preparativa em C18, de acordo com o método informado por Zhang & Poulter (1993), por cromatografia preparativa sobre gel de sílica usando-se eluentes de isopropanol amoníaco, de acordo com os métodos da publicação de Patente Internacional no. WO 03/050128, depositada em 5 de

dezembro de 2002 para compostos tendo uma boa estabilidade química em meio básico (fosfonato e angelil fosfoésteres), ou por cromatografia sobre celulose Davisson et al. (1984). As descrições das referências acima são incorporadas aqui por referência.

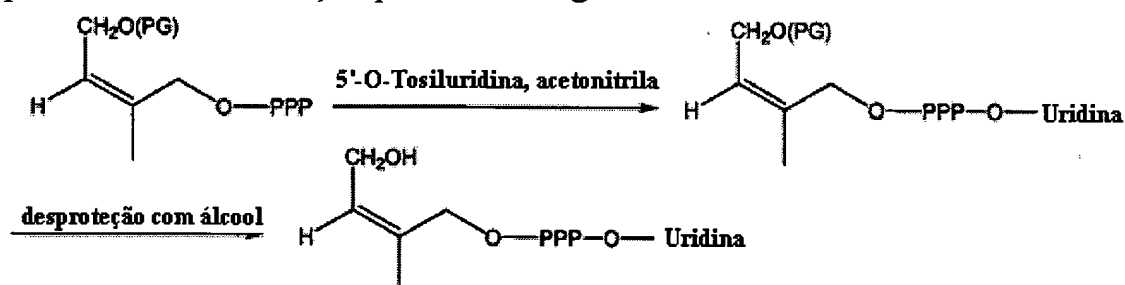
5 Os compostos compreendendo um nucleosídeo como grupo Y podem ser preparados, por exemplo, pelas seguintes reações,



onde -O-V for um bom grupo de partida, começando com V escolhido, por exemplo, dentre tosila, tosila, mesila, triflila, brosula ou bromo, PP representa o grupo pirofosfato, PPP representa o grupo trifosfato, R-A- tem o significado
10 acima mencionado e Nucl é um nucleosídeo. Preferivelmente, Nucl-O-V é selecionado do grupo consistindo de: 5'-O-Tosiladenosina, 5'-O-Tosiluridina, 5'-O-Tosilcitidina, 5'-O-Tosilimidina ou 5'-O-Tosil-2'-deoxiadenosina.

Dependendo do tipo e reatividade dos grupos funcionais providos por Y, o profissional é capaz de adaptar os seguintes exemplos, se
15 necessário incluindo as fases de proteção/não-proteção dos grupos funcionais sensíveis ou daqueles que podem interagir com a reação de acoplamento.

Por exemplo, para o composto com R como mostrado abaixo, o procedimento de reação pode ser o seguinte:



onde PG representa um grupo de proteção da função álcool e onde -O-V é um
20 bom grupo de partida, começando com V escolhido, por exemplo, dentre

tosila, mesila, triflila, brosil ou bromo, PP representa o grupo pirofosfato e Nucl é um nucleosídeo. Preferivelmente, Nucl-O-V é selecionado do grupo consistindo de: 5'-O-Tosiladenosina, 5'-O-Tosiluridina, 5'-O-Tosilcitidina, 5'-O-Tosilimidina ou 5'-O-Tosil-2'-deoxiadenosina, como descrito em Davisson et al, (1987), cuja descrição é incorporada aqui por referência.

O pH neutro é uma reação de substituição nucleófila, que pode ser realizada em condições similares às descritas por Davisson et al, (1987); e Davisson et al. (1986), cujas descrições são incorporadas aqui por referência.

Esta reação pode também ser usada para preparar o composto compreendendo um monossacarídeo como grupo Y. Neste caso, Nucl-O-V é substituído por MonoSac-O-V, em que Monosac é monossacarídeo. Por exemplo, é possível utilizar-se o grupo MonoSac-O-Y correspondente ao composto Metil-6-O-tosil-alfa-D-galactopiranosídeo, como descrito na publicação de Nilsson e Mosbach (1980), cuja descrição é incorporada aqui por referência, ou ao composto de triflato de manose, comercialmente disponível.

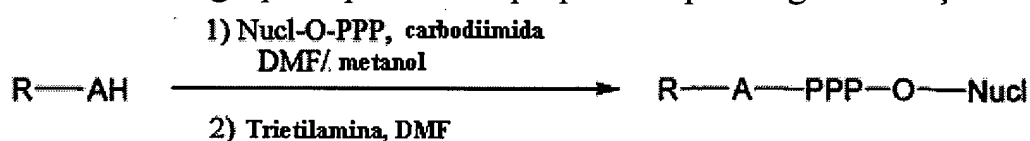
Esta reação pode ser usada para preparar o composto compreendendo um oligossacarídeo como grupo Y. Neste caso, Nucl-O-V é substituído por OligoSac-O-V, em que OligoSac é um oligossacarídeo. Por exemplo, é possível utilizar-se o grupo oligoSac-O-Y correspondente ao composto 6^A-O-p-Toluenossulfonil-β-ciclodextrina, como descrito na publicação (Organic syntheses, Vol. 77, p 225-228, cuja descrição é incorporada aqui por referência).

Esta reação pode ser usada para preparar um composto compreendendo um polissacarídeo como grupo Y. Neste caso, Nucl-O-V é substituído por poliSac-O-V, em que poliSac é um polissacarídeo. Por exemplo, é possível utilizar-se o grupo poliSac-O-Y, correspondendo ao polissacarídeo tosilado, como descrito na publicação de Nilsson et al., (1981); e Nilsson e Mosbach, (1980), cujas descrições são incorporadas aqui por

referência. Esta técnica de acoplamento baseada na ativação dos grupos hidroxila de um suporte de polissacarídeo por tosilação permite o acoplamento covalente em um meio aquoso ou orgânico.

Esta reação pode também ser usada para preparar composto compreendendo um derivado de aldeído como grupo Y, escolhendo-se, em vez de Nucl, um derivado incluindo uma função aldeído protegida na forma de um grupo acetal ou qualquer outro protegendo esta função.

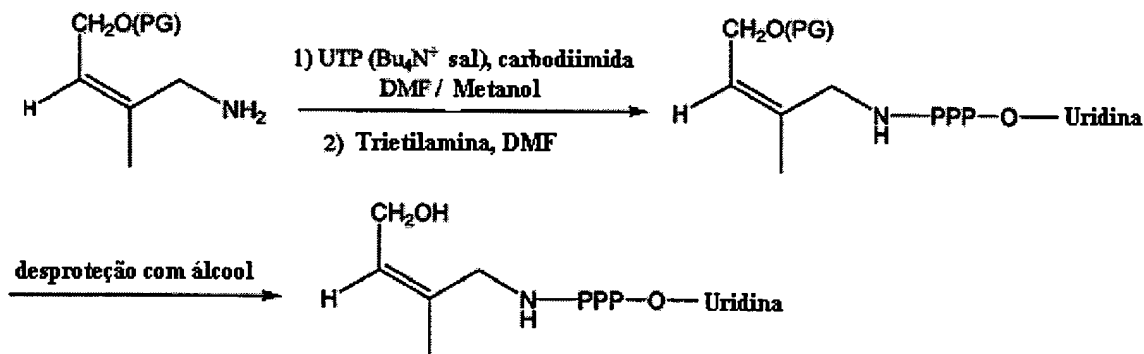
Alternativamente, os compostos compreendendo um nucleosídeo como grupo Y podem ser preparados pela seguinte reação:



Reação C

em que PPP representa o grupo trifosfato, A é O ou NH com R-AH representando um álcool primário (R-OH) ou uma amina primária (R-NH₂), DMF é dimetilformamida e Nucl é um nucleosídeo. Esta reação pode ser realizada em condições similares àquelas descritas por Knorre et al. (1976) ou por Bloom et al., Patente U.S. No. 5.639.653 (1997), cuja descrição é incorporada aqui por referência, de um álcool e um nucleosídeo com fórmula Nucl-O-PPP.

Por exemplo, para o composto com R como mostrado abaixo, o procedimento de reação pode ser o seguinte:



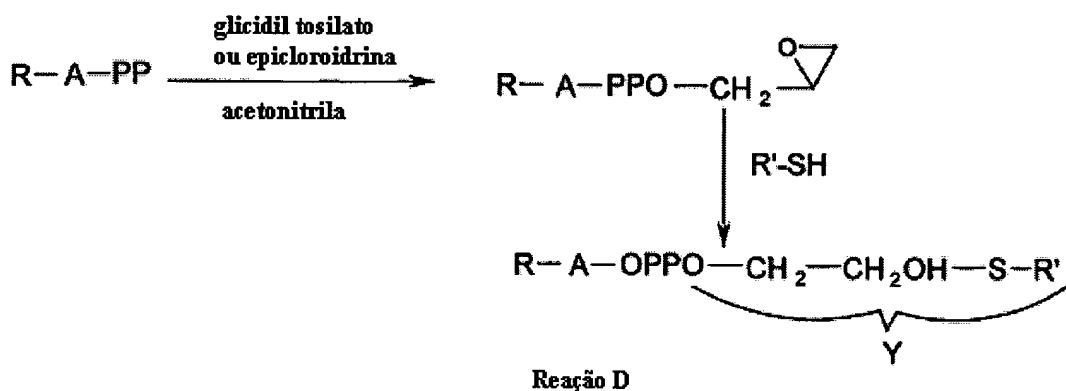
em que PG representa um grupo de proteção da função álcool, UTP é Trifosfato de Uridina, PPP representa o grupo trifosfato, DMF é

dimetilformamida e Nucl é um nucleosídeo.

Esta reação pode também ser aplicada à preparação oligonucleotídeos 5'-trifosfato γ -ésteres, como indicado pelos autores da publicação Knorre et al. (1976).

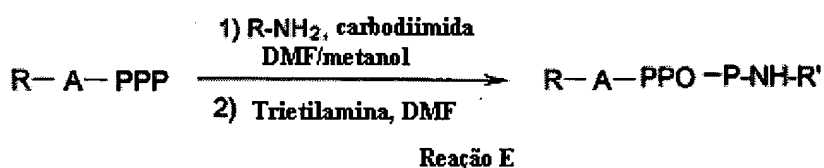
5 Os compostos compreendendo um ácido nucléico como grupo Y, mais particularmente um ácido ribonucléico, podem ser preparados em condições similares às aquelas descritas na publicação de F. Huang et al. (1997). Os autores descrevem um método universal de RNA catalítico, que é aplicável a qualquer molécula compreendendo um grupo fosfato de terminal livre. Os compostos estruturalmente relacionados com o grupo fosfoaloidrina, tais como pirofosfato de isopentenila ou pirofosfato de tiamina, são usados ou mencionados por estes autores (vide p. 8968 de F. Huang et al. (1997)). Deve também ser citado que as condições experimentais para o procedimento de acoplamento (em particular condições de pH) descritas na seção "Reaction of
10 Isolate 6 pppRNA with phosphate containing Nucleophiles" são compatíveis com a presença de uma função haloidrina.

Os compostos compreendendo um amino ácido, um peptídeo ou um derivado de proteína como grupo Y podem ser obtidos utilizando-se a bem conhecida reatividade de sua amina primária ou função tiol em uma
20 função epóxido (reação S_N2). Este tipo de acoplamento classicamente envolve um grupo intermediário ainda chamado "ligador" contendo uma função epóxido. Um exemplo de um procedimento de reação empregando-se este tipo de acoplamento é provido pelo seguinte esquema,



em que PP representa o grupo pirofosfato, R-A tem o significado acima mencionado e R'-SH é um amino ácido, um peptídeo ou um derivado de proteína. A primeira fase pode ser realizada em condições similares às aquelas descritas por Davisson et al. (1987) e Davisson et al. (1986),
 5 cujas descrições são incorporadas aqui por referência, a partir do sal de tetrabutilamônio do composto inicial e compostos comercialmente disponíveis, tais como tosilato de glicidila ou epícloridrina. Esta reação pode também ser realizada com compostos de trifosfato. Alternativamente, uma amina primária R'-NH₂ pode ser usada em vez de R'-SH. Sem a reação com
 10 R'-SH, a primeira reação pode ser usada para preparar composto compreendendo um derivado de epóxido.

Alternativamente, os compostos compreendendo um amino ácido, um peptídeo ou um derivado de proteína como grupo Y podem ser preparados pela seguinte reação:



15 em que PPP representa o grupo trifosfato, PP representa o grupo pirofosfato, P representa o grupo fosfato, R-A tem o significado acima mencionado e R'-NH é um amino ácido, um peptídeo ou um derivado de proteína. A reação pode ser realizada em condições similares às aquelas descritas por Knorre et al. (1976), cuja descrição é incorporada aqui por referência, do composto (R-A-
 20 PPP) e um amino ácido, peptídeo ou proteína com fórmula R-NH₂. Esta reação envolve a proteção das funções sensíveis do composto R-NH₂ ou pode reagir com a carbodiimida (em particular, a função carboxila).

Os sais de tri ou tetra-n-butilamônio do ácido fosfórico, pirofosfórico, trifosfórico, tetra-fosfórico ou polifosfórico podem ser
 25 preparados de ácidos correspondente comercialmente disponíveis. Os derivados com uma estrutura relacionada, tais como derivados do ácido

metanotrifosfônico descritos na publicação de Liu et al. (1999), cuja descrição é incorporada aqui por referência, podem também ser preparados de acordo com o procedimento de reação.

As reações acima mencionadas podem ser extrapoladas em um
5 muito grande espectro de moléculas ou biomoléculas, utilizando-se a reatividade das funções hidroxila, amina, fosfato ou tiol. Desse modo, os derivados de inositol podem ser preparados de acordo com as reações A ou B, pela ativação da função hidroxila. Os derivados do ácido fólico (vitamina B9) ou ácido tetraidrofólico podem ser preparados de acordo com as reações D ou
10 E apelando para a reatividade da função amina primária.

Naturalmente, outros tipos de acoplamento podem ser considerados e o profissional pode ter acesso a uma grande escolha de reações.

Esse modo, o acoplamento por fosforilação dos grupos ácido
15 carboxílico ou fenol pode ser usado para a formação do ácido graxo, lipídeo ou certos derivados de flavonóide.

Avaliação da atividade dos compostos

Os fosfoésteres de angelil e tigilil podem ser produzidos ex vivo ou in vitro. Eles podem ser purificados ou de outro modo artificialmente
20 produzidos (p. ex., por síntese química ou por processo microbiológico). Os fosfoésteres de angelil de acordo com a presente invenção são preferivelmente capazes de ativar os linfócitos T V γ 9/V δ 2. Em uma forma de realização preferida, o composto é capaz de seletivamente ativar os linfócitos T V γ 9/V δ 2, indicando que o composto tem uma ação seletiva em relação a
25 populações de células específicas e essencialmente não ativa diretamente outros sub-títulos de célula T, tais como células T V δ 1. Tal seletividade, como descrito no presente pedido, sugere que os compostos preferidos podem causar uma ativação seletiva ou alvejada da proliferação ou atividade biológica dos linfócitos de T V γ 9/V δ 2.

Os fosfoésteres de angelil preferivelmente aumentam a atividade biológica ou provocam a proliferação das células T $\gamma\delta$, preferivelmente aumentando a ativação das células T $\gamma\delta$, particularmente aumentando a secreção de citocina das células T $\gamma\delta$ ou aumentando a

5 atividade citolítica das células T $\gamma\delta$, estimulando ou não também a proliferação ou expansão das células T $\gamma\delta$. Portanto, os fosfoésteres de angelil ou tigilil são administrados em uma quantidade e sob condições suficientes para aumentar a atividade das células T $\gamma\delta$ em um indivíduo, preferivelmente em uma quantidade e sob condições suficientes para aumentar a secreção da

10 citocina pelas células T $\gamma\delta$ e/ou aumentar a atividade citolítica das células T $\gamma\delta$. A secreção da citocina e a atividade citolítica, bem como a proliferação das células T $\gamma\delta$ podem ser avaliadas utilizando-se qualquer ensaio in vitro apropriado.

Muitíssimo preferivelmente, as células T $\gamma\delta$ referidas no

15 presente relatório são células T V γ 9/V δ 2 e preferivelmente os angelil e tigili fosfoésteres regulam a atividade das células T V γ 9/V δ 2.

Em um exemplo, a ativação da células T $\gamma\delta$ pode ser avaliada administrando-se um composto a um indivíduo (humano ou primata não-humano) e avaliando-se a ativação ou proliferação das células T V γ 9/V δ 2.

20 Em uma expansão de protocolo exemplificativo de células T V γ 9/V δ 2 a população é avaliada: um angelil fosfoéster é administrado a um primata não-humano, tal como um macaco cynomolgus por infusão intravenosa (uma administração por infusão lenta, 50 ml durante 30 minutos), em combinação com IL-2 (0,9 milhão de unidades duas vezes diariamente por injeção

25 subcutânea por 5 dias); linfócitos $\gamma\delta$ periféricos são analisados por citometria de fluxo em sangue total de macaco, após duplo tingimento com anticorpo anti-CD3-PE e anticorpos anti-V γ 9-FITC e/ou anticorpos anti V δ 2 e as células são contadas por citometria de fluxo. Expansão pico da população de células T V γ 9/V δ 2 é observada entre os dias 3 e 8, geralmente em torno dos

dias 4 – 6 após administração de um angelil fosfoéster.

Quaisquer outros testes adequados podem ser usados para avaliar a proliferação celular. A avaliação da proliferação de linfócitos periféricos $\gamma\delta$ pode geralmente ser analisada por citometria de fluxo sobre sangue total (por exemplo, sangue total obtido de um macaco), após duplo tingimento com anticorpo anti-CD3-PE e anticorpos anti-Vgama9-FITC e/ou anticorpos anti Vd2 (CD3-PE: clone SP34, BD Biosciences Pharmingen, Le Pont de Claix, França). Anti Vgama 9, clone 7B6 é um monoclonal construído para Vgama 9 humano, que tem reação cruzada com as células de macaco cynomolgus. É purificado por cromatografia de afinidade em proteína A e acoplado a FITC. 50 μ l de sangue de macaco são incubados 15 min em RT com 5 μ l de anti-CD3-PE e 6 μ l de anti-delta2-FITC ou 10 μ l de anticorpos anti-gama9-FITC. Os anticorpos são lavados com 3 ml 1X PBS, centrifugados por 4 min em 1300 rpm em RT e o sobrenadante é descartado. Os glóbulos vermelhos são lisados com o reagente OptiLyse C (Mmmunotech-Beckman-Coulter, Marseilles, França) de acordo com instruções do fabricante. Na etapa final, os glóbulos brancos tingidos são recuperados por centrifugação e ressuspensos em 300 μ l PBS + 0,2% PFA. Imediatamente antes da análise, 50 μ l de Flow ContTM Fluorospheres (Immunotech-Beckman-Coulter, Marseilles, França) são adicionados às células para contagem do número absoluto das populações de interesse.

Preferivelmente, um angelil fosfoéster é capaz de regular a atividade de uma célula T $\gamma\delta$ em uma população de clones de células $\gamma\delta$ T em cultura. O angelil fosfoéster é mais preferivelmente capaz de regular a atividade de uma população de células T $\gamma\delta$ de clones de células T $\gamma\delta$ em cultura em concentração, preferivelmente quando o angelil fosfoéster está presente em cultura em uma concentração de menos do que 100 mM. Em um exemplo, a produção ou liberação de citocina é avaliada. As Vg9Vd2 são sabidos produtoras de TNF α e IFN γ in vitro, na administração do angelil

fosfoéster. Pouco após o tratamento com angelil fosfoéster, as amostras de soros são coletadas de um indivíduo e são avaliadas por ELISA específico para TNF α ou IFN γ .

A Regulação da atividade de uma célula T $\gamma\delta$ pode ser avaliada por qualquer meio adequado, preferivelmente avaliando-se a secreção de citocina, muitíssimo preferivelmente a secreção de TNF α , como descrito aqui. Métodos para obter-se uma população de clones de células T $\gamma\delta$ puros é descrito em Davodeau et al. (1993) e Moreau et al. (1986), cuja descrição é incorporada aqui por referência.

Em um ensaio exemplar, a secreção da citocina pode ser determinada de acordo com os métodos descritos em Espinosa et al. (2001a), descrevendo a medição da liberação de TNF- α em um bioensaio usando-se células sensíveis a TNF α . Resumidamente, 10⁴ CÉLULAS $\gamma\delta$ T/poço foram incubadas com estímulo mais 25 unidades de IL2/poço em 100 μ l de meio de cultura durante 24 h a 37 °C. Em seguida, 50 μ l de sobrenadante foram adicionados a 50 μ l de células WEHI revestidas a 3 x 10⁴ células/poço em meio de cultura mais actinomicina D (2 μ g/ml) e LiCl (40 mM) e incubadas por 20 h a 37 °C. A viabilidade das células sensíveis a TNF α e medidas com um ensaio de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazolo-2-il)-2,5-difeniltetrazólio. 50 μ l de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (Sigma; 2,5 mg/ml em solução salina tamponada com fosfato) por poço foram adicionados e, após 4 h de incubação a 37 °C, 50 μ l de tampão de solubilização (20% SDS, 66% dimetil formamida, pH 4,7) foram adicionados e a absorvência (570 nm) foi medida. Os níveis de liberação de TNF α foram então calculados por uma curva padrão obtida usando-se rTNF- α humano purificado (PeproTech, Inc., Rocky Hill, NJ). Interferon- γ liberado por células T ativadas foi medido por um ensaio imunoabsorvente ligado por enzima sanduíche. 5 x 10⁴ células $\gamma\delta$ T/poço foram incubadas com estímulo mais 25 unidades de IL2/poço em 100 μ l de meio de cultura durante 24 h a 37 °C. Em seguida, 50

μl de sobrenadante foram colhidos para ensaio imunoabsorvente ligado por enzima, empregando-se anticorpos monoclonais de camundongo (BIOSOURCE, Camarillo, CA).

Um ensaio preferido para atividade citolítica é um ensaio de liberação ^{51}Cr . Em ensaios exemplificativos, a atividade citolítica das células T $\gamma\delta$ é medida em relação linhagens de células alvo normais e tumorais autólogas, ou linhagens de células alvo sensíveis de controle, tais como linhagem de células alvo resistentes Daudi e de controle, tais como ensaio de liberação Raji in 4h ^{51}Cr . Em um exemplo específico, células alvo foram usadas em quantidades de 2×10^3 células/poço e rotuladas com 100 μCi ^{51}Cr por 60 minutos. A relação Efetor/Alvo (E/T) variou de 30:1 a 3,75:1. A lise específica (expressa como percentagem) é calculada usando-se a fórmula padrão [(liberação experimental-espontânea / liberação total-espontânea) x 100].

15 *Uso de fosfoéster de acordo com a presente invenção*

A invenção refere-se a uma composição farmacêutica compreendendo um angelil ou tigilil fosfoéster, de acordo com a presente invenção. Mais particularmente, dita composição farmacêutica compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de um angelil ou tigilil fosfoéster, opcionalmente junto com um veículo farmacêuticamente aceitável. A presente invenção refere-se a um angelil ou tigilil fosfoéster de acordo com a presente invenção como um medicamento. Também abrangido pela invenção é o uso de um angelil ou tigilil fosfoéster de acordo com a presente invenção, para a manufatura de uma preparação farmacêutica, preferivelmente para o tratamento de um câncer, uma doença infecciosa uma doença autoimune ou uma doença alérgica.

Em um aspecto, a invenção descreve um método para regular a atividade das células T $\gamma\delta$ em um indivíduo humano, dito método compreendendo a etapa de administrar, em pelo menos um tratamento, uma

quantidade terapeuticamente eficaz de um angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção, opcionalmente junto com um veículo farmaceuticamente aceitável. Mais particularmente, dito método ativa ou estimula a atividade das células T $\gamma\delta$ em um indivíduo humano.

5 Em uma forma de realização particular, a quantidade de dito angelil ou tiglil fosfoéster é suficiente para expandir a população de células T $\gamma\delta$ em um indivíduo, para alcançar pelo menos 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50% ou 60%, ou entre 30 – 90% de linfócitos circulantes totais. Em outra forma de realização, a quantidade de dito angelil ou tiglil fosfoéster é
10 suficiente para induzir aumento de pelo menos 10 vezes na população de células T $\gamma\delta$ de um indivíduo. Preferivelmente, dita população de células T $\gamma\delta$ é avaliada entre o dia 4 e dia 8 em seguida a administração de dito angelil fosfoéster, mais preferivelmente no dia 5, 5 ou 7 em seguida à administração de dito angelil fosfoéster. Preferivelmente, dita população de células T $\gamma\delta$ é
15 avaliada por citometria de fluxo. Preferivelmente, ditas células T $\gamma\delta$ são células T V γ 9/V δ 2.

 Em uma forma de realização preferida, a invenção refere-se a um método para tratar um câncer, uma doença infecciosa, uma doença autoimune ou uma doença alérgica em um indivíduo, dito método
20 compreendendo a etapa de administrar, em pelo menos um tratamento, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção, opcionalmente junto com um veículo farmaceuticamente aceitável.

 Nos métodos e usos acima, o indivíduo é preferivelmente um
25 indivíduo humano, tal como um indivíduo tendo um câncer, uma doença infecciosa, uma doença autoimune ou uma doença alérgica. A invenção é, na realidade, adequada para tratar todas as condições causadas por ou associadas com a presença de células patológicas que são sensíveis a lise de células T $\gamma\delta$.

 A invenção é particularmente adequada para estimular a

imunidade anti-tumor de um indivíduo tendo um tumor sólido ou hematopoiético. Preferivelmente, dito tumor é selecionado do grupo consistindo de tumores do pulmão, colorretal, próstata, mama ou cabeça epidermóide ou pescoço. Em um aspecto preferido da invenção, dito tumor é

5 um câncer renal, preferivelmente um câncer renal metastático. Alternativamente, dito tumor é selecionado do grupo consistindo de um melanoma, câncer ovariano, câncer de pâncreas, neuroblastoma, câncer de cabeça ou pescoço, câncer de bexiga, câncer renal, câncer do cérebro e câncer gástrico. Em formas de realização preferidas, os compostos podem ser usados

10 para o tratamento de câncer como descrito no Pedido de Patente Internacional No. WO 2004050096, cuja descrição é incorporada aqui por referência.

A invenção é também adequada para estimular uma resposta imune anti-viral em um indivíduo. Por exemplo, o composto da presente invenção pode ser usado para o tratamento de um indivíduo tendo uma

15 infecção por um vírus selecionado de HIV, CMV, EBV, vírus influenza, HPV, HCV e HBV.

Os compostos da presente invenção são também adequados em métodos de estimular uma resposta imune em um indivíduo tendo uma infecção por um patógeno causando tuberculose, malária, tularemia,

20 colibacilose etc.

Os compostos da presente invenção são também adequados em métodos de tratamento (p. ex., para estimular uma resposta imune em) um indivíduo tendo uma doença auto-imune, tal como diabetes, esclerose múltipla, artrite reumatóide etc. ou um indivíduo tendo uma doença alérgica,

25 incluindo asma, hiperresponsividade das vias aéreas etc. Em formas de realização preferidas, os compostos são usados em indicações terapêuticas e de acordo com os ensinamentos da Publicação de Patente Internacional No. WO 2000US0026684, depositado em 28 de setembro de 2000 por Gelfand, Born, Lahn e Kanehiro; Publicação de Patente International no. WO

00/00182, depositada em 24 de junho de 1999 por Jomaa; e Publicação de Patente Internacional No. WO2005/102385 by Tiollier, cuja descrição de cada uma das referências sendo incorporada aqui por referência.

5 Preferivelmente, a dosagem (administração única) de um composto de angelil fosfoéster de acordo com a presente invenção para tratamento é entre cerca de 1 $\mu\text{g/kg}$ e cerca de 1,2 g/kg.

Será observado que as dosagens acima, relacionadas com um grupo de compostos, e que cada composto particular podem variar em doses ótimas, como mais descrito aqui para compostos exemplares. Contudo, os
10 compostos são preferivelmente administrados em uma dose suficiente para significativamente aumentar a atividade biológicas células T $\gamma\delta$ ou para significativamente aumentar a população de células T $\gamma\delta$ em um indivíduo. Dita dose é preferivelmente administrada ao humano por administração intravenosa (i.v.) durante 2 a 180 min, preferivelmente 2 a 120 min, mais
15 preferivelmente durante cerca de 5 a cerca de 60 min ou, muitíssimo preferivelmente, durante cerca de 30 min ou durante cerca de 60 min.

Em compostos exemplares preferidos, um composto de Fórmula I a XVIII é administrado em uma dosagem (administração única) entre cerca de 1 $\mu\text{g/kg}$ e cerca de 1,2 g/kg, preferivelmente entre cerca de 10
20 $\mu\text{g/kg}$ e cerca de 1,2 g/kg, mais preferivelmente entre cerca de 20 $\mu\text{g/kg}$ e cerca de 100 mg/kg. Muitíssimo preferivelmente, a dosagem (administração única) para tratamento de três semanas ou quatro semanas (tratamento cada três semanas ou cada terceira semana) é entre cerca de 1 $\mu\text{g/kg}$ e cerca de 1,2 g/kg, preferivelmente entre cerca de 10 $\mu\text{g/kg}$ e cerca de 20 mg/kg, mais
25 preferivelmente entre cerca de 10 $\mu\text{g/kg}$ e cerca de 100 mg/kg. Esta dose é preferivelmente administrada ao humano por administração intravenosa (i.v.) durante 2 a 180 min, preferivelmente 2 a 120 min, mais preferivelmente durante cerca de 5 a cerca de 60 min, ou muitíssimo preferivelmente cerca de 30 min ou durante cerca de 60 min.

Os ingredientes ativos podem ser administrados através de diferentes vias, tipicamente por injeção ou administração oral. A injeção pode ser realizada em vários tecidos, tais como por administração intravenosa, intraperitoneal, intra-arterial, intra-muscular, intra-dérmica, subcutânea etc.

- 5 Vias de administração preferidas para os ativadores são intravenosa e intra-muscular. Vias de administração preferidas para a citocina são subcutânea, intravenosa e intra-muscular.

A invenção fornece um método de regular a atividade das células T $\gamma\delta$ em um indivíduo mamífero, o método compreendendo
10 administrar a um indivíduo em necessidade uma quantidade eficaz de um angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com o ciclo de tratamento em que a atividade das células T $\gamma\delta$, preferivelmente a taxa de células T $\gamma\delta$ (número de células T $\gamma\delta$) é permitida retornar para taxa substancialmente basal antes de uma
15 segunda administração do composto. Como ainda descrito aqui, em formas de realização preferidas, pelo menos cerca de uma semana, porém mais preferivelmente pelo menos cerca de duas semanas, são necessárias para a taxa de células T $\gamma\delta$ do paciente retornar à taxa substancialmente basal.

Ciclos mais curtos do que cerca de 7 dias podem não permitir estímulo adequado da atividade das células T $\gamma\delta$. O curso de um ciclo
20 preferido é um ciclo de pelo menos 1 semana, porém mais preferivelmente pelo menos um ciclo de 2-semanas (pelo menos cerca de 14 dias) ou, mais preferivelmente, pelo menos 3 semanas ou 4 semanas, embora ciclos em qualquer parte entre 2 semanas e 4 semanas sejam preferidos. Também eficazes e contemplados são ciclos de até 8 semanas, por exemplo, 5 semanas,
25 6 semanas, 7 semanas ou 8 semanas.

Em uma forma de realização preferida, a administração do angelil ou tiglil fosfoéster ocorre no primeiro dias de um ciclo de 2 semanas a 4 semanas (isto é, um ciclo de repetição de cerca de 14 a 28 dias). Em uma forma de realização preferida, o angelil fosfoéster é administrado somente no

primeiro dia do ciclo de 2 semanas a 4 semanas ou, preferivelmente, 3 semanas.

Como mencionado, um indivíduo preferivelmente será tratado por pelo menos dois ciclos ou, mais preferivelmente, por pelo menos três ciclos. Em outro aspecto, o tratamento pode continuar por um número maior de ciclos, por exemplo, pelo menos 4, 5, 6 ou mais ciclos podem ser considerados.

Opcionalmente, um angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção pode também ser usado em combinação com uma citocina, particularmente para o tratamento de câncer. Preferivelmente, dita citocina é a interleucina 2 (IL-2) (ProleukinTM, Chiron, Emeryville CA, USA) ou qualquer seu fragmento, variante ou seu análogo biologicamente ativo, isto é, qualquer fragmento, variante ou análogo capaz de ligar-se ao receptor IL-2 e de induzir ativação de células T $\gamma\delta$ no método desta invenção. Em outras formas de realização, a citocina é uma interleucina 7 ou uma interleucina 15. Preferivelmente, dito angelil ou tiglil fosfoéster e dito polipeptídeo de interleucina são administrados separadamente ao indivíduo.

Portanto, os métodos da invenção compreendem administrar ainda uma citocina, em um aspecto preferido uma citocina pode ser administrada, em que dita citocina é capaz de aumentar a expansão de uma população de células T $\gamma\delta$ tratada com um composto de angelil ou tiglil fosfoéster, preferivelmente em que a citocina é capaz de induzir uma expansão de uma população de células T $\gamma\delta$, que é maior do que a expansão resultante da administração do composto de angelil ou tiglil fosfoéster na ausência de dita citocina. Uma citocina preferida é um polipeptídeo de interleucina-2.

Uma citocina tendo atividade indutora de proliferação de células T $\gamma\delta$, muitíssimo preferivelmente o polipeptídeo de interleucina-2, é administrada em baixas doses, tipicamente durante um período de tempo

compreendido entre 1 e 10 dias. O angelil fosfoéster é preferivelmente administrado em uma única dose e tipicamente no início de um ciclo. Preferivelmente, o polipeptídeo de interleucina-2 é administrado em uma dose diária compreendida entre 0,2 e 2 MU por dia, mesmo mais preferivelmente entre 0,2 e 1,5 MU, mais preferivelmente entre 0,2 e 1 MU. A dose diária de citocina, preferivelmente um polipeptídeo de interleucina-2, é administrada como uma única injeção ou em duas injeções.

Em aspectos preferidos, uma citocina, muitíssimo preferivelmente IL-2, é administrada diariamente por até cerca de 10 dias, preferivelmente por um período entre cerca de 3 e 10 dias, ou muitíssimo preferivelmente por cerca de 7 dias. Preferivelmente, a administração da citocina começa no mesmo dia (p. ex., dentro de 24 horas) como administração do ativador de células T $\gamma\delta$. Por exemplo, em um aspecto, a citocina é administrada cada dia, enquanto em outros aspectos a citocina não precisa ser administrada cada dia. Quanto a citocina é administrada pro cerca de 7 a cerca de 14 dias, um ciclo de tratamento de 4-semanas é preferido. Quando o primeiro componente é administrado por cerca de 4 dias, um ciclo de tratamento diário de 3 semanas é preferido. Em formas de realização preferidas, os compostos podem ser usados de acordo com qualquer um dos métodos descritos no Pedido de Patente Internacional No. WO 2004050096, cuja descrição é incorporada aqui por referência.

Os métodos e tratamentos acima podem ser usados sozinhos ou em combinação com outros agentes ou tratamentos ativos. Por exemplo, para o tratamento de tumores, a invenção pode ser usada em combinação com outros agentes ou tumores anti-tumor, tais como quimioterapia, radioterapia ou terapia genética.

A invenção também refere-se a um produto compreendendo um angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção e um polipeptídeo de interleucina-2, para uso separado, para regular a atividade das

células T $\gamma\delta$ em um indivíduo mamífero.

A invenção refere-se a uma composição vacinal compreendendo um angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção. A invenção também refere-se ao uso de um angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção, como um adjuvante de vacina.

Desta maneira, a presente invenção descreve métodos e composições para intensificar e/ou aumentar a resposta imune contra um antígeno em mamífero, notavelmente um humano, envolvendo a imunização conjunta do mamífero com (i) uma composição compreendendo um antígeno e (ii) um adjuvante compreendendo um composto de angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção. Preferivelmente, dita composição compreendendo um antígeno consiste de um patógeno, microorganismo ou parasita morto, inativado ou atenuado. Em outro aspecto, dita composição compreende um antígeno, preferivelmente compreende um polipeptídeo, lipídeo, polissacarídeo, glicoproteína, glicolipídeo ou antígeno de ácido nucléico enriquecido ou purificado. Preferivelmente, dita composição compreende pelo menos 1, 2, 3, 4, 5, 10 ou 15 antígenos distintos, por exemplo, pelo menos 1, 2, 3, 4, 5, 10 ou 15 polipeptídeos distintos ou ácidos nucléicos codificando tais polipeptídeos. Em formas de realização preferidas, os compostos podem ser usados como descrito no Pedido de Patente Provisória U.S. No. 60/564.959, depositado em 26 de abril de 2004, cuja descrição é incorporada aqui por referência.

A composição adjuvante compreenderá uma quantidade eficaz de um composto de angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção, dita quantidade sendo uma quantidade eficaz permitindo a eliciação de uma resposta humoral, a eliciação de uma resposta de linfócito T citotóxico (CTL) ou eliciação de tanto uma resposta humoral como uma resposta CTL da composição adjuvante com respeito a pelo menos um antígeno. Preferivelmente, o composto de angelil ou tiglil fosfoéster de acordo

com a presente invenção está presente em uma quantidade eficaz para produzir um maior efeito imunológico na eliciação de uma resposta humoral, uma resposta de linfócito T citotóxico (CTL) ou tanto uma resposta humoral como uma resposta CTL, quando administrado conjuntamente com um
5 antígeno que não aquele efeito imunológico produzido quando dito antígeno é administrado na ausência do adjuvante.

O componente antigênico da composição pode ser selecionado de virtualmente qualquer antígeno, determinante antigênico ou hapteno de interesse médico ou veterinário e, particularmente, para aqueles antígenos
10 para os quais um aumento da imunogenicidade é desejado.

Portanto, a presente invenção diz respeito ao uso de um composto de angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção, mais preferivelmente dos compostos de Fórmulas I a XV, como um adjuvante de vacina. A presente invenção refere-se ainda a uma composição de vacina
15 compreendendo um antígeno ou uma combinação de antígenos e um composto de angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção, mais preferivelmente os compostos de Fórmulas I a XV. Preferivelmente, dita composição compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de antígeno e uma resposta imune intensificando ou imune resposta aumentando a
20 quantidade do angelil ou tiglil fosfoéster. Preferivelmente, dita composição de vacina evita uma infecção microbiana. Dita infecção microbiana é causada por um micróbio selecionado do grupo consistindo de vírus, fungos, parasitas, levedura, bactérias e protozoários. Em uma forma de realização particular, dita composição de vacina é composição de vacina BCG. Alternativamente,
25 dita composição de vacina evita ou é um tratamento contra um tumor.

A presente invenção refere-se ainda a um kit de vacina compreendendo um recipiente adequado, contendo uma composição de vacina de acordo com a presente invenção, mais particularmente compreendendo um antígeno ou uma combinação de antígeno e um composto

de angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção, mais preferivelmente os compostos de Fórmulas I a XV. Opcionalmente, dita vacina pode compreender dois recipientes adequados separados, um contendo o antígeno ou a combinação de antígenos e o outro contendo um composto de angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção, mais preferivelmente os compostos de Fórmula I a XV. Opcionalmente, dito recipiente pode ser uma seringa. Alternativamente, dito kit de vacina compreende um ou dois recipientes e uma seringa.

A presente invenção diz respeito a um método de melhorar a potência de uma vacina em um indivíduo ou de imunizar um indivíduo contra uma doença, mais particularmente uma infecção microbiana, compreendendo as etapas de:

administrar a dito indivíduo uma composição compreendendo um antígeno ou uma combinação de antígenos; e

conjuntamente, administrar a dito indivíduo um composto de angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção, mais preferivelmente os compostos de Fórmulas I a XV, mais particularmente uma sua quantidade intensificadora da resposta imune. Preferivelmente, o composto de angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção, quando administrado conjuntamente com uma composição compreendendo um antígeno, é administrado em uma quantidade suficiente para aumentar uma resposta imune em relação àquela observada com dita composição compreendendo um antígeno, na ausência do angelil fosfoéster. Preferivelmente, dita composição compreendendo um antígeno compreende um patógeno, microorganismo ou parasita morto, inativado ou atenuado. Em outro aspecto, dita composição compreendendo um antígeno preferivelmente compreende um polipeptídeo, lipídeo, polissacarídeo, glicoproteína, glicolipídeo ou antígeno de ácido nucléico enriquecido ou purificado.

A presente invenção também refere-se a um método de imunizar um indivíduo contra uma doença, mais particularmente uma infecção microbiana em um indivíduo, compreendendo administrar a dito indivíduo (i) uma composição compreendendo um antígeno e (ii) um composto de angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção, mais preferivelmente Fórmulas I a XV. Preferivelmente, o composto de angelil ou tiglil fosfoéster de acordo com a presente invenção é administrado em uma quantidade intensificadora da imune resposta. Preferivelmente, o angelil ou tiglil fosfoéster e a composição compreendendo um antígeno são administrados como uma composição de vacina única em uma quantidade terapeuticamente eficaz.

Preferivelmente, dito angelil ou tiglil fosfoéster é provido ou administrado junto com um veículo farmacêuticamente aceitável. Em um primeiro aspecto, dita administração de dito antígeno ou combinação de antígenos e dito angelil ou tiglil fosfoéster são simultâneas. Em um segundo aspecto, ditas administrações de dito antígeno ou combinação de antígenos e dito angelil ou tiglil fosfoéster são administradas seqüencialmente. Mais particularmente, dito angelil ou tiglil fosfoéster pode ser administrado antes de, concomitantemente com ou subsequente à administração de um antígeno ou uma combinação de antígenos a um indivíduo para fins de imunização. Preferivelmente, dito antígeno ou combinação de antígenos são antígenos microbianos, preferivelmente antígenos virais, bacterianos, fúngicos, protozoários, de levedura ou parasita. Em uma forma de realização preferida, dito antígeno é um antígeno de *Mycobacterium bovis*. Opcionalmente, dito antígeno ou combinação de antígenos é um antígeno tumoral.

Outros aspectos e vantagens desta invenção serão descritos nos seguintes exemplos, que devem ser considerados como ilustrativos e não limitadores do escopo deste pedido.

EXEMPLOS

Exemplo 1

Síntese de (E)-4-hidróxi-2-metil-but-2-enil pirofosfato(Hidroxitiglil pirofosfato ou HTiglilIPP)

5 A síntese de HTiglilIPP foi realizada de acordo com o esquema apresentado na Figura 1, partindo de 2-metil-2-viniloxirano.

Preparação de (E)-cloro-2-metilbut-2-en-1-ol:

16 ml (179 mmol) de TiCl_4 foram adicionados sob nitrogênio a 360 ml de CH_2Cl_2 . A solução foi esfriada a 90 °C e uma
 10 solução de 10,0 g (119 mmol) de **2-metil-2-viniloxirano** em 50 ml de CH_2Cl_2 foi adicionada em gotas, mantendo-se a temperatura abaixo de – 80 °C. A solução vermelha foi então agitada a 80 °C por 2 horas e extinta com 600 ml de HCl 1M. A fase orgânica foi separada e a fase aquosa foi extraída com 3 x 500 ml de Et_2O . As fases orgânicas combinadas foram
 15 secadas sobre MgSO_4 , filtradas e evaporadas a 350 mbar a 25 °C para fornecer 12,02 g (99,7 mmol, 84% de produção) de **4-cloro-2-metilbut-2-en-1-ol** como um óleo amarronzado. O produto bruto foi diretamente usado na etapa seguinte.

Preparação de (E)-2-(4-cloro-2-metilbut-2-en ilóxi)tetraídoro-2H-pirano:

20 Em uma solução de 11,5 g (95,37 mmol) de **4-cloro-2-metilbut-2-en-1-ol** em 120 ml de CH_2Cl_2 foram adicionados 26 ml (286,11 mmol) de diidropirano (DHP). A solução foi esfriada a 0 °C e 2,4 g (9,53 mmol) de sulfonato de piridínio p-tolueno (PPTS) foram adicionados em porções. A solução foi agitada por 3 horas a 0 °C. A fase orgânica foi lavada
 25 com 3 x 50 ml de água, secada sobre Na_2SO_4 , filtrada e concentrada para fornecer o produto bruto. O produto bruto foi então purificado por cromatografia sobre gel de sílica, usando-se heptano/ EtOAc (9/1) como eluente. 12,35 g (60,33 mmol, produção 64%) do álcool alílico protegido foram isolados como óleo incolor.

Preparação de acetato de (E)-3-metil-4-(tetraídoro-2H-piran-2-ilóxi)but-2-enila:

Em uma solução de 1,0 g (5 mmol) do álcool alílico protegido **(E)-2-(4-cloro-2-metilbut-2-en-ilóxi)tetraídoro-2H-pirano** em 30 ml de DMF foram adicionados 820 mg (10 mmol) de acetato de sódio, seguido por uma quantidade catalítica de NaI (20 mg). A mistura de reação foi aquecida a 80 °C por 6 horas. A mistura de reação foi esfriada e vertida sobre 200 ml de água. A solução foi extraída com 3 x 50 ml de EtOAc. As fases orgânicas combinadas foram secadas sobre Na₂SO₄, filtradas e concentradas para fornecer o produto bruto. Este produto foi então purificado por cromatografia sobre gel de sílica empregando-se Heptano/EtOAc (8/2) como eluente. 463 mg (2,03 mmol, 40%) de **acetato de (E)-3-metil-4-(tetraídoro-2H-piran-2-ilóxi)but-2-enila** foram isolados como óleo incolor.

Preparação de acetato de (E)-4-bromo-3-metilbut-2-enila

Em uma solução de 460 mg (2,0 mmol) de **(E)-3-metil-4-(tetraídoro-2H-pirano-2-ilóxi-but-2-enil acetato** em 20 ml de CH₂Cl₂ foi adicionada uma solução de 1,33 g (4 mmol) de CBr₄ em 10 ml de CH₂Cl₂. A solução foi esfriada a 0 °C e uma solução de 1,05 g (4 mmol) de trifenilfosfina foi adicionada em gotas. A solução foi permitida aquecer à temperatura ambiente por 6 horas e agitada na mesma temperatura por mais 1 hora. O precipitado foi filtrado e o filtrado foi evaporado. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre gel de sílica empregando-se Heptano /EtOAc (8/2) como eluente. 314 mg (1,52 mmol, 76%) de **(E)-4-bromo-3-metilbut-2-enil acetato** foram isolados como óleo incolor.

Preparação de (E)-4-hidróxi-2-metilbut-2-enil pirofosfato

Uma solução de 900 mg (4.35 mmol) of (E)-4-bromo-3-metilbut-2-enil acetato in 10 ml of CH₃CN foi adicionada em gotas a uma solução de 5,9 g (6,52 mmol) de TTAPP em 15 ml de CH₃CN. A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente durante a noite e o solvente foi

evaporado. O resíduo foi então passado através de coluna de resina Dowex 50WX8 (forma NH_4^+) e eluída com 2 volumes de 40 mM de solução aquosa de NH_4HCO_3 . A fração foi evaporada sob elevado vácuo a 40 – 45 °C. O resíduo foi agitado com 4 – 5 ml de $\text{iPrOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 28% (1/1) e o sólido insolúvel foi filtrado. O filtrado foi cromatografado sobre gel de sílica usando-se $\text{iPrOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 28% 1/1 como eluente. 197 mg (0,752 mmol, 17%) de (E)-hidróxi-2-metilbut-2-enil pirofosfato, sal de amônio foram isolados como um sólido branco. Sob estas condições, a desproteção do componente acetato (grupo de proteção álcool) ocorreu enquanto cromatografia sobre gel de sílica. A relação isomérica (E:Z) do produto purificado foi de 96:4 com base em análise de Cromatografia Iônica (HPAEC).

Cada estereoisômero E e Z de 4-hidróxi-2-metilbut-2-enil pirofosfato foi obtido como um composto puro por purificação cromatográfica (HPAEC) através de coluna IonPac® AS11, com múltiplas passagens cromatográficas sendo combinadas.

Para fins de realizar o teste biológico, soluções aquosas neutras do produto foram esterilizadas por filtração através de filtro de 0,2 μm e armazenadas a -20 °C. No caso do teste realizado in vivo, as soluções são passadas antecipadamente através de uma coluna de resina catiônica DOWEX 50WX8-200 (forma Na^+) eluída por dois volumes de coluna de água deionizada.

Exemplo 2

Síntese de (Z)-4-hidróxi-2-metil-but-2-enil pirofosfato

(Hidroxiangelil pirofosfato ou HAngelilPP)

A síntese de (Z)-4-hidróxi-2-metilbut-2-enil pirofosfato (HAngelilPP) é realizada de acordo com o esquema ilustrado na Figura 2, partindo-se de álcool de propargila protegido-TBDMS. Para cada etapa deste esquema sintético, as seguintes referências podem ser usadas para mais orientação:

Etapa a (formação de propargil éster de cloroformiato de metila): Andrew T. Koppisch et al, Organic Letters, Vol. 2 No. 2 (2000) p215-217; Michael S. Leonard e al, J. Org. Chem. (2004), 69, 2526- 2531;

5 **Etapa b** (adição estereossletiva conjugada de reagente de dimetilcobre-lítio em éster α,β acetilênico): E. J. Corey e John A. Katzenellenbogen, J. Am. Chem. Soc. (1969), 91, 1851-1852; Andrew T. Koppissch et al, Organic Letters, Vol. 2 No. 2 (2000) p215-217; Michael S. Leonard e al, J. Org. Chem. (2004), 69, 2526-2531;

10 **Etapa c** (redução de éster com hidreto de DIBAL): Andrew T. Koppisch et al, Organic Letters, Vol. 2 No. 2 (2000) p215-217; Michael S. Leonard et al, J. Org. Chem. (2004), 69, 2526-2531;

15 **Etapa d:** o álcool alílico é convertido em uma forma protegida-THP por reação com diidropirano (DHP), em seguida ao procedimento informado no exemplo 1 ou como descrito por Miyashita et al (Miyashita et al, J. Org. Chem. 42 (1977) 3772-3774);

20 **Etapa e:** (clivagem não acídica do grupo de proteção t-butildimetilsilila): E. J. Corey e A. Venkateswarlu, J. Am. Chem. Soc. (1972), 94, 6190; condições alternativas para esta reação de desproteção pode também ser encontrada em "Protective Grups in Organic Synthesis", Terceira Edição, Theodora W. Greeno e Peter G. M. Wuts, publicado por John Wiley & Sons, Inc. (1999);

25 **Etapa f** (etapa de cloração): em um procedimento padrão, trietilamina é adicionada a uma solução do álcool alílico em CH_2Cl_2 a 25 °C. A resultante mistura de reação transparente é então tratada pela adição em gotas de cloreto de mesila durante 20 min. Após adição completa, a mistura de reação é agitada em temperatura ambiente por pelo menos 1,5 h até completa conversão. A mistura de reação é lavada sucessivamente com solução de NaHCO_3 aquosa saturada, HCl aquoso 0,1 M e água deionizada, em seguida concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto é purificado

por cromatografia utilizando-se SiO_2 e um solvente de eluição de acetato de etila: heptano = 1:9;

Etapa g: a pirofosforilação do cloreto de angelil protegido-THP com difosfato hidrogenado de tris tetra-n-butilamônio (TTAPP) é conseguida observando-se o procedimento geral relatado por Poulter e co-trabalhadores (David T. Fox e C. Dale Poulter, J. Org. Chem.(2002), 67, 5009-5010; Davisson V. J. et al., J. Org. Chem., 1986, 51, p 4768-4779. A desproteção do grupo tetraidropiranila é conseguida por tratamento do éster de pirofosfato com resina de troca de cátion DOWEX 50WX8 (forma H^+) e subsequente neutralização da solução ácida resultante com hidróxido de amônio.

Para a finalidade de realizar o teste biológico, soluções aquosas neutras do produto são esterilizadas por filtragem através de filtro de 0,2 μm e armazenadas a $-20\text{ }^\circ\text{C}$. No caso de teste realizado in vivo, as soluções são passadas antecipadamente através de uma coluna de resina catiônica DOWEX 50WX8-200 (forma Na^+) eluída por dois volumes de coluna de água deionizada.

Exemplo 3

Síntese de (Z)-5-hidróxi-3-metilpent-3-enil pirofosfonato

(Hidroxiangelil pirofosfonato ou C-HAngelilPP)

A síntese de (Z)-5-hidróxi-3-metilpent-3-enil pirofosfonato (C-HAngelilPP) é realizada de acordo com o esquema ilustrado na Figura 2 pelo intermediário de clorometilbutenila protegido-THP (produto da etapa f), cuja preparação é descrita no exemplo 1.

As reações químicas da etapa h e etapa i, envolvendo o acoplamento do componente pirofosfonato, são realizadas seguindo-se o procedimento de Valentijn et al para a preparação de análogos de Farnesil Pirofosfato (Valentijn et al, Synlett (1991) 663-664):

Etapa i: O agente fosfonilante (metilfosfonomorfolidato de

metila) é preparado por tratamento de dicloreto metilfosfônico comercialmente disponível com morfolina e metanol. O produto de acoplamento é obtido por reação do intermediário de clorometilbutenila protegido-THP com litiometilfosfonomorfolidato de metila, preparado in situ do agente de fosfonilação e n-butil lítio em THF.

Etapa h:

Uma solução bruta de C-HAngelilPP é obtida em um procedimento de três etapas:

1) desmetilação (hidrólise) do produto da etapa i, por tratamento com hidróxido de tetra-n-butilamônio em metanol, como descrito por Phan e Poulter, J. Org. Chem. (2001), 66, 6705-6710,

2) Pirofosforilação com ácido fosfórico (como sal de tributilamônio), seguindo-se o método de Valentijn et al.,

3) Desproteção do grupo tetraidropiranila por tratamento do éster de pirofosfonato com resina de troca de cátion DOWEX 50WX8 (forma H^+ e subsequente neutralização da resultante solução ácida com hidróxido de amônio.

A purificação da solução bruta resultante é realizada por cromatografia sobre gel de sílica, empregando-se 25% de solução de amônia/2-propanol 50/50 (v/v) como eluente. Para fins de realizar teste biológico, as soluções aquosas do produto são esterilizadas por filtração através de filtro de 0,2 μm e armazenadas a $-20^\circ C$. No caso de teste realizado in vivo, as soluções são passadas antecipadamente através de uma coluna de resina catiônica DOWEX 50WX8-200 (forma de sódio) eluída por dois volumes de coluna de água deionizada.

Exemplo 4

Resposta de dosagem para compostos de HAngelilPP e HtigililPP

Ensaio de liberação de citocina

Células (células T V γ 9/V δ 2 humanas policlonais primárias,

que foram expandidas in vitro e armazenadas congeladas no dia 12-15 de expansão) são descongeladas e enxaguadas duas vezes e centrifugadas. Na eliminação do sobrenadante e ressuspensão das células, as células são incubadas por 24 h a 37 °C, na presença de IL2 100 IU/ml (concentração final). As células são lavadas e centrifugadas, em seguida ao que o sobrenadante é eliminado e as células são ressuspensas e ajustadas à concentração final adequada. As células são adicionadas aos poços de uma placa de 96-poços.

Em uma fileira de poços é adicionada uma série de diluição padrão de (R,S)-3-(bromometil)-3-butanol-1-il-difosfato (R,S-BrHPP). Os compostos a serem testados, neste caso (E)-4-hidróxi-3-metil-2-butenil pirofosfato ((E)-HDMAPP) e os compostos de HAngelilPP e HTiglilPP da série de Angelil/Tiglil fosfoéster, são adicionados em poços experimentais, após diversas diluições.

Placas cheias são incubadas 24 h a 37 °C para estímulo das células $\gamma\delta$ T com o composto de teste e compostos de referência, neste caso HAngelilPP e HTiglilPP, (R,S)-BrHPP e (E)-HDMAPP, como descrito abaixo. Após este tempo, 100 μ l de sobrenadante de cultura são retirados para dosagem de TNF α . A medição da dosagem de TNF α liberada é realizada como descrito pela instrução dos fabricantes no kit de imunensaio de enzima TNF α (ref. 11121, Immunotech - Beckman Coulter). OD a 405 nm é lido, OD sendo proporcional à concentração de TNF α liberado no sobrenadante de cultura. Os dados são processados com o software Excel, para comparar a concentração do composto de teste versus concentração de TNF α e para o cálculo da EC50 para cada composto de teste.

Bioatividade in vitro de HAngelilPP

A bioatividade do composto HAngelilPP foi avaliada usando-se um ensaio de liberação de TNF α , como descrito acima. A atividade in vitro é mostrada na Figura 3. Os compostos (R,S)-BrHPP e (E)-HDMAPP foram

- incluídos para fins de comparação. A EC50 in vitro foi então avaliada neste teste de rastreamento, em que os ensaios anteriores com células calibradas empregando-se uma composição padrão de (R,S)-BrHPP apresentaram uma EC50 de cerca de 15 nM para o composto de referência (R,S)-BrHPP. Como
- 5 será observado, quaisquer outros ensaios adequados, tais como ampliação de célula, podem ser usados na avaliação dos compostos. A EC50 in vitro para HAngelilPP (isômero Z) foi determinada como sendo de 0,85 nM e para HTiglilPP (isômero E) foi de 15 nM, enquanto a EC50 in vitro para (E)-HDMAPP foi de 2,1 nM e a EC50 in vitro para (R,S)-BrHPP foi de 37,7 nM.
- 10 Uma vez que o ensaio fornece um resultado relativo em vez de um valor EC50 absoluto, os resultados indicam que ambos os compostos H-AngelilPP e HTiglilPP são altamente potentes e que o isômero Z (H-AngelilPP) é o composto mais potente daqueles testados.

REFERÊNCIAS

- 15 Todas as referências citadas são incorporadas aqui por referência.
- Azzi, A., Casey, R.P. & Nalecz, M. (1984) The effect of NjN'-diciclohexilcarbodiimido on enzymes of bioenergetic relevance. *Biochim. Biophys. Acta*, 768(3-4):209-226
- 20 Bank, L., Book, M., Huszar, M., Baram, Y., Schnirer, L, e Brenner, H. (1993). V delta 2+ gamma delta T lymphocytes are citotoxic to the MCF 7 breast carcinoma cell line and can be detected among the T cells that infiltrate breast tumors. *Clin Immunol Immunopathol* 67, 17-24. Behr, C, Poupot, R., Peyrat, M. A., Poquet, Y., Constant, P., Dubois, P., Bonneville, M., e Fournie, J. J.
- 25 (1996). Plasmodium falciparum stimuli for human gammadelta T cells are related to fosforilated antigens of mycobacteria. *Infect Immun* 64, 2892-2896.
- Belmant, C, Espinosa, E., Halary, F., Tang, Y., Peyrat, M. A., Sicard, H., Kozikowski, A., Buelow, R., Poupot, R., Bonneville, M., e Fournie, J. J.

- (2000). A chemical basis for selective recognition of nonpeptide antigens by human delta T cells. *Faseb J* 14, 1669-1670.
- Bukowski, J. F., Morita, C. T., Tanaka, Y., Bloom, B. R., Brenner, M. B., e Band, H. (1995). V gamma 2V delta 2 TCR-dependent recognition of non-peptide antigens e Daudi cells analyzed by TCR gene transfer. *J Immunol* 154, 998-1006.
- Burton D.J., e Sprague, L.G. (1989). Alilações de [(Dietoxifosfinila)diflurometil]zinc Bromide as a convenient route of 1,l-Difluoro-3-allkenephosphonates. *J. Org. Chem.* 54, 613-617. Choudhary, A., Davodeau, F., Maisau, A., Peyrat, M. A., Bonneville, M., e Jotereau, F. (1995). Selective lysis of autologous tumor cells by recurrent gamma delta tumor-infiltrating lymphocytes from renal carcinoma. *J Immunol* 154, 3932-3940.
- Chu, B.C.F., Wahl, G. M. e Orgel, L.E/, *Nucleid Acids Research*, Vol 11, No. 18 (1983).
- Constant, P., Poquet, Y., Peyrat, M. A., Davodeau, F., Bonneville, M., e Fournie, J. J. (1995). The antituberculous *Mycobacterium bovis* BCG vaccina is an attenuated mycobacterial producer of phosphorylated nonpeptidic antigens for human gamma delta T cells. *Infect Immun* 63, 4628-4633.
- Corey EJ. e Katzenellenbogen J.A., *J. Am. Chem. Soc.* (1969), 91, 1851-1852
 Corey E. J. e A. Venkateswarlu, *J. Am. Chem. Soc.* (1972), 94, 6190
 Cox R. J., Gibson J. S., Mayo Martin M. B., *Chem BioChem*, 2002, 3, 874-886
- Davisson et al., *Methods Enzymol.*, 1984, 110, p 130-145.
- Davisson et al., *J. Org. Chem.*, 1986, 51, p 4768-4779.
- Davisson et al., *J. Org. Chem.*, 1987, 52, p 1794-1801.
- Davodeau et al, (1993) *J. Immunology* 151(3): 1214-1223)
- Espinosa, E., Belmant, C, Pont, F., Luciani, B., Poupot, R., Romagne, F., Brailly, H., Bonneville, M., e Fournie, J. J. (2001a). Chemical synthesis and biological activity of bromohydrin pirophosphate, a potent stimulator of

human gamma delta T cells. *J Biol Chem* 276, 18337-18344.

Espinosa, E., Belmant, C., Sicard, H., Poupot, R., Bonneville, M., e Fournie, J. J. (2001b). Y2K+1 state-of-the-art on non-peptide phosphoantigens, a novel category of immunostimulatory molecules. *Microbes Infect* 3, 645-654.

5 Ferrarini, M., Heltai, S., Pupa, S. M., Mernard, S., e Zocchi, R. (1996). Killing of laminin receptor-positive human lung cancers by tumor infiltrating lymphocytes bearing gammadelta(+)t-cell receptors. *J Natl Cancer Inst* 88, 436-441.

Feurle, J., Espinosa, E., Eckstein, S., Pont, F., Kunzmann, V., Fournie, J. J.,
10 Herderich, M., e Wilhelm, M. (2002). *Escherichia coli* produces phosphoantigens activating human gamma delta T cells. *J Biol Chem* 277, 148-154.

Fisch, P., Moris, A., Rammensee, H. G., e Handgretinger, R. (2000). Inhibitory MHC class I receptors on gammadelta T cells in tumour immunity e
15 autoimmunity. *Immunol Today* 21, 187- 191.

Fournie, J. J., e Bonneville, M. (1996). Stimulation of gamma delta T cells by phosphoantigens. *Res Immunol*, 66^o Forum in Immunology, 147, 338-347.

Fox D.T. e Poulter C. D., *J. Org. Chem.* (2002), 67, 5009-5010

Fujimiya, Y., Suzuki, Y., Katakura, R., Miyagi, T., Yamaguchi, T.,
20 Yoshimoto, T., e Ebina, T. (1997). In vitro interleukin 12 activation of periferal blood CD3(+)CD56(+) e CD3(+)CD56(-) gammadelta T cells from glioblastoma patients. *Clin Cancer Res* 3, 633-643.

Gober, H. J., Kistowska, M., Angman, L., Jenö, P., Mori, L., e Do Libero, G. (2003). Human T cell receptor gammadelta cells recognize endogenous
25 mevalonato metabolites in tumor cells. *J Exp Med* 197, 163-168.

Hayday, A. C. (2000). [gamma][delta] cells: uma right time e uma right place for a conserved third way of protection. *Annu Rev Immunol* 18, 975-1026.

Hintz et al. (2001). Identification of (E)-4-hidróxi-3-metil-but-2-enila pirophosphate as uma major activator for human gammadelta T cells in

Escherichia coli. FEBS Lett. 509(2):317-22

Jomaa, H., Feurle, J., Luhs, K., Kunzmann, V., Tony, H. P., Herderich, M., e Wilhelm, M. (1999a). Vgamma9/Vdelta2 T cell activation induced by bacterial low molecular mass compounds depends on the 1-deóxi-D-xylulose 5-phosphate pathway of isoprenoid bioynthesis. FEMS Immunol Med Microbiol 25, 371-378.

Jomaa, H., Wiesner, J., Sanderbrand, S., Altincicek, B., Weidemeyer, C., Hintz, M., Turbachova, I., Eberl, M., Zeidler, J., Lichtentaler, H. K., et al. (1999b). Inhibitors of the nonmevalonato pathway of isoprenoid biosynthesis as antimalarial drugs. Science 285, 1573-1576

Kato, Y., Tanaka, Y., Miyagawa, F., Yamashita, S., e Minato, N. (2001). Targeting of tumor cells for human gammadelta T cells by nonpeptide antigens. J Immunol 167, 5092-5098.

Knorre et al., Febs letters, 1976, 70, 105-108.

Kobayashi, H., Tanaka, Y., Yagi, J., Toma, H., e Uchiyama, T. (2001). Gamma/delta T cells provide innate immunity against renal cell carcinoma. Cancer Immunol Immunoter 50, 115-124

Koppisch A.T. et al, Organic Letters, Vol. 2 No. 2 (2000) p215-217 E.M. Kosower, B. Pazhenchevsky, H. Dodiuk, H. Kaneti, e D. Faust, J. Org. Chem., 46, 1668 (1981)

Kunzmann, V., Bauer, E., e Wilhelm, M. (1999). Gamma/delta T-cell stimulation by pamidronate. N Engl J Med 340, 737-738.

Lang, F., Peyrat, M. A., Constant, P., Davodeau, F., Davi-Ameline, J., Poquet, Y., Vie, H., Fournie, J. J., e Bonneville, M. (1995). Early activation of human V gamma 9V delta 2 T cell broad citotoxicity and TNF production by nonpeptidic mycobacterial ligands. J Immunol 154, 5986-5994.

Leonard M. S. e al, J. Org. Chem. (2004), 69, 2526-2531

Liu et al., Angew. Chem. Int. Ed. 1999, 38, No 9, p 1245-1247.

Mitropoulos, D., Kooi, S., Rodriguez-Villanueva, J., e Platsoucas, C. D.

- (1994). Characterization of fresh (uncultured) tumour-infiltrating lymphocytes (TIL) e TIL-derived T cell lines from patients with renal cell carcinoma. *Clin Exp Immunol* 97, 321-327.
- Miyashita et al, *J. Org. Chem.* 42 (1977) 3772-3774)
- 5 Miyagawa, F., Tanaka, Y., Yamashita, S., e Minato, N. (2001). Essential requirement of antigen presentation by monocyte lineage cells for the activation of primary human gamma delta T cells by aminobisphosphonate antigen. *J Immunol* 166, 5508-5514.
- Maisau et al, (1986) *J. Clin. Invest.* 78:874)
- 10 Morita, C. T., Beckman, E. M., Bukowski, J. F., Tanaka, Y., Band, H., Bloom, B. R., Golan, D. E., e Brenner, M. B. (1995). Direct presentation of nonpeptide prenila pyrophosphate antigens to human gamma delta T cells. *Immunity* 3, 495-507.
- Nikolaides et al, *Conversion Of Amines To Phosphoesters: Decil Dietil Phosphate*, Organic Syntheses, CV 9, 194
- 15 Nilsson et al., *Acta Chemica Scandinavia B* 35, 1981, p 19-27.
- Nilsson e Mosbach, *Eur. J. Biochem.*, 1980, vol. 112, p 397-402.
- Phan e Poulter, *J. Org. Chem.* (2001), 66, 6705-6710
- Poccia, F., cipriani, B., Vendetti, S., Colizzi, V., Poquet, Y., Battistini, L.,
- 20 Lopez-Botet, M.,
- Fournie, J. J., e Gougeon, M. L. (1997a). CD94/NKG2 inhibitory receptor complex modulates both anti-viral e anti-tumoral responses of polyclonal phosphoantigen-reactive V gamma 9V delta 2 T lymphocytes. *J Immunol* 159, 6009-6017.
- 25 Poccia, F., Malcovsky, M., Gougeon, M. L., Bonneville, M., Lopez-Botet, M., Fournie, J. J., e Colizzi, V. (1997b). Gammadelta T cell activation or anergy during infections: the role of nonpeptidic TCR ligands e HLA class I molecules. *J Leukoc Biol* 62, 287-291.
- Poquet, Y., Kroca, M., Halary, F., Stenmark, S., Peyrat, M. A., Bonneville,

- M., Fournie, J. J., e Sjostedt, A. (1998). Expansion of Vgamma9 Vdelta2 T cells is triggered by Francisella tularensis-derived phosphoantigens in tularemia but not after tularemia vaccination. *Infect Immun* 66, 2107-2114.
- Rohmer, M., Knani, M., Simonin, P., Sutter, B., e Sahm, H. (1993).
5 Isoprenoid biosynthesis in bacteria: uma novel pathway for the early steps leading to isopentenyl diphosphate. *Biochem J* 295 (Pt 2), 517-524.
- Rojas, R. E., Torres, M., Fournie, J. J., Harding, C. V., e Boom, W. H. (2002). Phosphoantigen presentation by macrophages to mycobacterium tuberculosis-reactive Vgamma9Vdelta2+ T cells: modulation by chloroquine. *Infect*
10 *Immun* 70, 4019-4027.
- Sato, E., Yoshikawa, M., e Kanaoka, Y. *Chem. Pharm. Bull*, 38(8), 2287-2289 (1990)
- Seghal, D, Vijay, I.K., *Anal Biochem*, 218, 87 (1994)
- Selin, L. K., Stewart, S., Shen, C, Mao, H. Q., e Wilquins, J. A. (1992).
15 Reactivity of gamma delta T cells induced by the tumour cell line RPMI 8226: functional heterogeneity of clonal populations and role of GroEL heat shock proteins. *Scand J Immunol* 36, 107-117.
- Shen, Y., Zhou, D., Qiu, L., Lai, X., Simon, M., Shen, L., Kou, Z., Wang, Q., Jiang, L., Estep, J., et al. (2002). Adaptive immune response of
20 Vgamma2Vdelta2+ T cells during mycobacterial infections. *Science* 295, 2255-2258.
- Sicard, H., Al Saati, T., Delsol, G., e Fournie, J. J. (2001). Synthetic phosphoantigens enhance human Vgamma9Vdelta2 T lymphocytes killing of non-Hodgkin's B lymphoma. *Mol Med* 7, 711-722.
- 25 Sturm, E., Braakman, E., Fisch, P., Vreugdenhila, R. J., Sondel, P., e Bolhuis, R. L. (1990). Human V gamma 9-V delta 2 T cell receptor-gamma delta lymphocytes show specificity to Daudi Burkitt's lymphoma cells. *J Immunol* 145, 3202-3208.
- Tanaka, Y., Morita, C. T., Nieves, E., Brenner, M. B., e Bloom, B. R. (1995).

Natural e syntetic non-peptide antigens recognized by human gamma delta T cells. *Nature* 375, 155-158.

Theodora W. Greene e Peter G. M. Wuts, "Protective Grupos in Organic Synthesis", Terceira Edição, publicada por John Wiley & Sons, Inc. (1999)

5 Valentijn; van der Marel; Cohen; van Boom, *Syn. lett.* 1991, 663-664.

Valentijn, A. R. P. M.; O. van der Berg, G. A. van der Marel; L. H. Cohen; J. H. van Boom, *Tetrahedron*, vol. 51-7, 1995, 2099-2108.

Waschbusch et al. (1997). A new route to alpha-fluoroalkylphosphonates. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1135-1139.

10 Wilhelm, M., Kunzmann, V., Eckstein, S., Reimer, P., Weissinger, F., Ruediger, T., e Tony, H. P. (2003). $\{\gamma\} \{\delta\}$ T cells for immune terapy of patients with lymphoid malignancies. *Blood*, 102(1), 200-6.

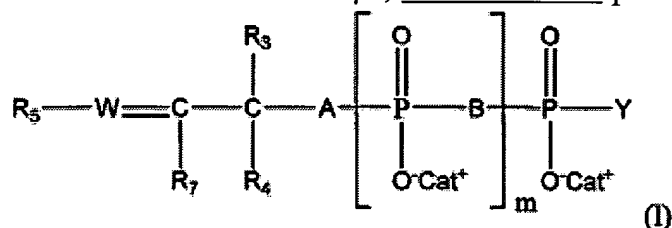
Yamaguchi, T., Fujimiya, Y., Suzuki, Y., Katakura, R., e Ebina, T. (1997). A simple method for the propagation e purification of gamma delta T cells from
15 the peripheral blood of glioblastoma patients using solid-phase anti-CD3 antibody e soluble IL-2. *J Immunol Methods* 205, 19-28. Zhang Donglu e Poulter C. Dale "Analysis and Purification of Phosphorylated Isoprenoids by Reversed-Phase HPLC", *Analytical Biochemistry*, vol. 213, 356-361 (1993)

Zheng, B., Lam, C, Im, S., Huang, J., Luk, W., Lau, S. Y., Yau, K. K., Wong,
20 C, Yao, K., e Ng, M. H. (2001a). Distinct tumour specificity and IL-7 requirements of CD56(-) e CD56(+) subsets of human gamma delta T cells. *Scand J Immunol* 53, 40-48.

Zheng, B. J., Chan, K. W., Im, S., Chua, D., Sham, J. S., Tin, P. C, He, Z. M., e Ng, M. H. (2001b). Anti-tumor effects of human periferal gammadelta T
25 cells in a mouse tumor model. *Int J Cancer* 92, 421-425.

REIVINDICAÇÕES

1. Ativador de células T $\gamma\delta$, caracterizado pela fórmula (I):



em que Cat⁺ representa um (ou diversos, idênticos ou diferentes) cátion(s) orgânico(s) ou mineral(ais) (incluindo próton);

5 m é um inteiro de 1 a 3;

B é O, NH, ou qualquer outro grupo capaz de ser hidrolisado;

A é O, NH, CHF, CF₂ ou CH₂, ou qualquer outro grupo isostérico;

W é C-R₆ ou N;

10 R₇ é um grupo (C₁-C₃)alquila ou um grupo (C₁-C₃)alquila ou qualquer outro grupo isostérico tal como CF₃;

R₃, R₄, e R₆, idênticos ou diferentes, são um hidrogênio ou um grupo (C₁-C₃)alquila ou qualquer outro grupo isostérico tal como CF₃;

15 R₅ é uma (C₂-C₃)acila, um aldeído, um (C₁-C₃)álcool, ou um (C₂-C₃)éster; e

Y = O⁻Cat⁺, um grupo C₁-C₃alquila, um grupo -A-R, em que R é um grupo hidrocarboneto C₁-C₅₀, linear, ramificado ou cíclico, aromático ou não, saturado ou insaturado, opcionalmente interrompido pelo menos por um heteroátomo, em que dito grupo hidrocarboneto compreende uma alquila, uma alquilenila, ou uma alquinila, preferivelmente uma alquila ou uma alquilenila, que pode ser substituído por um ou diversos substituintes selecionados do grupo consistindo de: uma alquila, uma alquilenila, uma alquinila, uma epoxialquila, uma arila, um heterociclo, um alcóxi, uma acila, um álcool, um grupo carboxílico (-COOH), um éster, uma amina, um amino grupo (-NH₂), um amido (-CONH₂), uma imina, uma nitrila, uma hidroxila (-OH), um grupo (-CHO), um halogênio, uma halogenoalquila, um tiol (-SH),

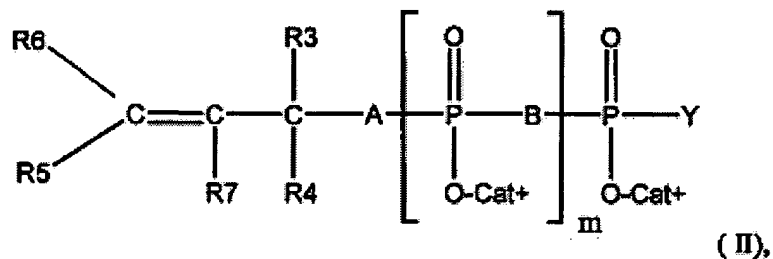
20

25

uma tioalquila, uma sulfona, um sulfóxido, e uma combinação deles;

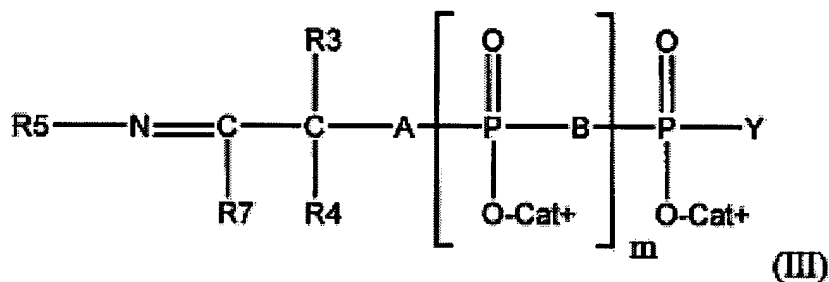
e em que o grupo R_5 e o componente $-CR_3R_4-A-[POOB]_m-POOY$ de Fórmula (II) são na configuração Z (ou cis).

2. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com a reivindicação 1,
 5 caracterizado pelo fato de dito ativador ser um composto de fórmula (II):



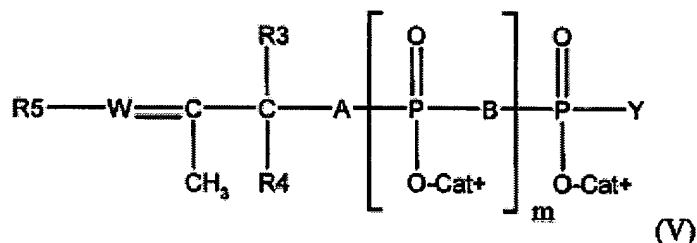
em que Cat^+ , m , B , A , R_5 , R_3 , R_4 , R_6 , R_7 , e Y têm o mesmo significado que na reivindicação 1.

3. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com a reivindicação 1,
 caracterizado pelo fato de dito ativador ser um composto de Fórmula (III):



- 10 em que Cat^+ , m , B , A , R_5 , R_3 , R_4 , R_7 , e Y têm o mesmo significado que na reivindicação 1.

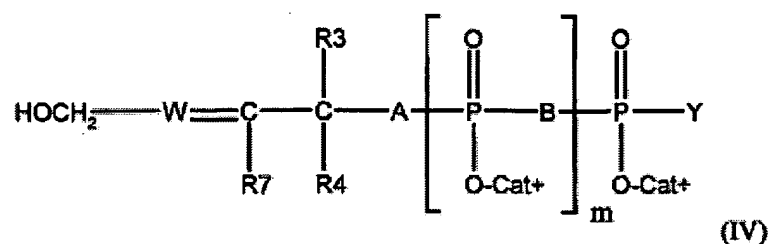
4. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com a reivindicação 1,
 caracterizado pelo fato de dito ativador ser um composto de Fórmula (V):



- 15 em que Cat^+ , m , B , A , W , R_5 , R_3 , R_4 , R_6 , e Y têm o mesmo significado que na reivindicação 1.

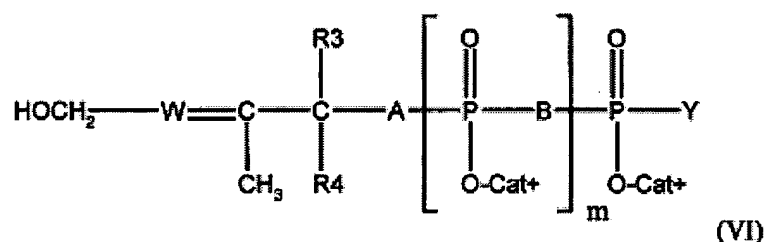
5. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com a reivindicação 1,

caracterizado pelo fato de dito ativador ser um composto de Fórmula (IV):



em que Cat⁺, m, B, A, W, R₅, R₃, R₄, R₆, R₇, e Y têm o mesmo significado que na reivindicação 1.

6. Ativador de células T γδ de acordo com a reivindicação 4 ou 5, caracterizado pelo fato de dito ativador ser um composto de Fórmula (VI):



em que Cat⁺, m, B, A, W, R₃, R₄, R₆, e Y têm o mesmo significado que na reivindicação 1.

7. Ativador de células T γδ de acordo qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de R₅ ser -CH₂-OH, -CHO, -CO-CH₃ ou -CO-OCH₃.

8. Ativador de células T γδ de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de R₅ ser -CH₂-OH.

9. Ativador de células T γδ de acordo qualquer uma das reivindicações 1 a 3, 7 e 8, caracterizado pelo fato de R₇ ser CH₃ ou um seu grupo isostérico, tal como CH₂F, CF₂H ou CF₃.

10. Ativador de células T γδ de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de R₇ ser CH₃.

11. Ativador de células T γδ de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de A ser O.

12. Ativador de células T γδ de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de A ser NH.

13. Ativador de células T γδ de acordo com qualquer uma das

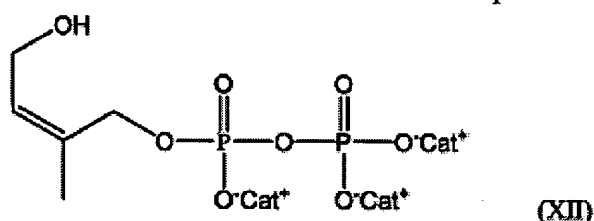
reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de A ser CHF, CF₂ ou CH₂.

14. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, caracterizado pelo fato de B ser O.

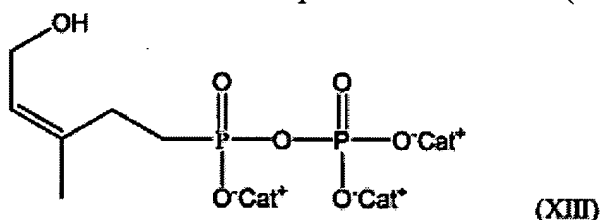
5 15. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado pelo fato de m ser 1.

16. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, caracterizado pelo fato de Y ser O⁻Cat⁺ ou um nucleosídeo, preferivelmente O⁻Cat⁺.

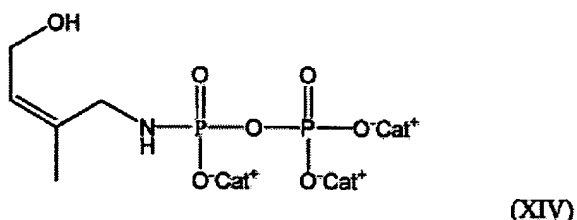
10 17. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de dito ativador ser um composto de fórmula (XII):



18. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de ser um composto de fórmula (XIII)



15 19. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com qualquer uma das reivindicações 5, caracterizado pelo fato de dito ativador ser um composto de Fórmula (XIV):



20. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de compreender um ativador de células T $\gamma\delta$ como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 19.

21. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com qualquer uma das

reivindicações 1 a 19, caracterizado pelo fato de ser um medicamento.

22. Uso de um ativador de células T $\gamma\delta$ como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 19, caracterizado pelo fato de ser para a manufatura de uma composição farmacêutica para regular as células T $\gamma\delta$ em um indivíduo humano.

23. Uso de um ativador de células T $\gamma\delta$ como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 19, caracterizado pelo fato de ser para a manufatura de uma composição farmacêutica para tratar um indivíduo sofrendo de ou susceptível de sofrer de um câncer, uma doença infecciosa, uma doença autoimune ou uma doença alérgica.

24. Uso de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelo fato de dito câncer ser um tumor sólido.

25. Uso de um ativador de células T $\gamma\delta$ como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 19, caracterizado pelo fato de ser como um adjuvante de vacina.

26. Composição de vacina, caracterizada pelo fato de compreender um ativador de células T $\gamma\delta$ como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 19, como um adjuvante de vacina.

27. Método de ativação de uma célula T $\gamma\delta$, caracterizado pelo fato de compreender trazer uma célula T $\gamma\delta$ em contato com um ativador de células T $\gamma\delta$ como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 19.

28. Método de acordo com a reivindicação 27, caracterizado pelo fato de as células T $\gamma\delta$ serem trazidas em contato com dito ativador de células T $\gamma\delta$ in vitro.

29. Célula T $\gamma\delta$, caracterizada pelo fato de ser ativada de acordo com o método como definido nas reivindicações 27 ou 28.

30. Uso de uma célula T $\gamma\delta$ como definida na reivindicação 29, caracterizado pelo fato de ser para a manufatura de uma composição farmacêutica.

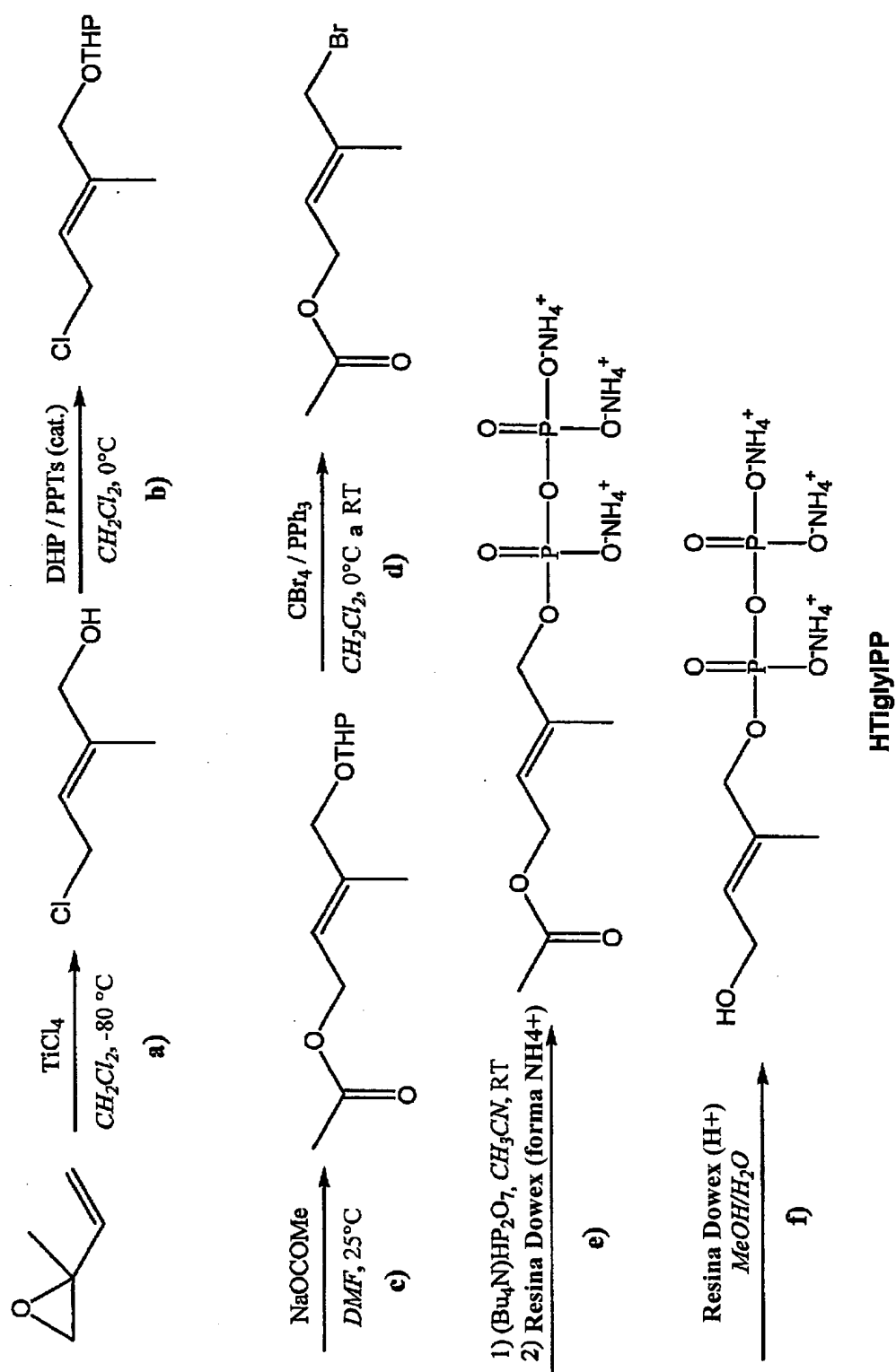


FIGURA 1

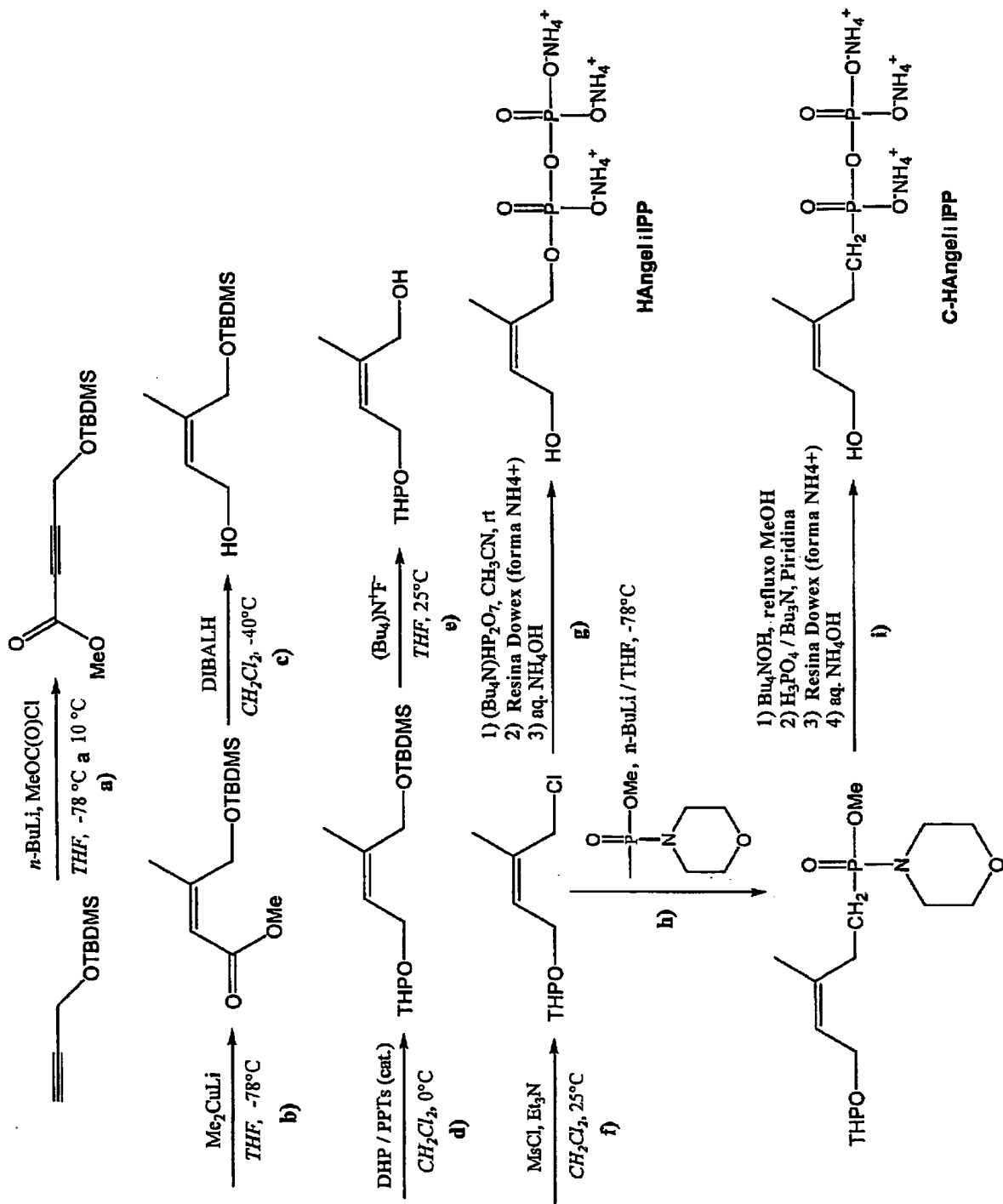


FIGURA 2

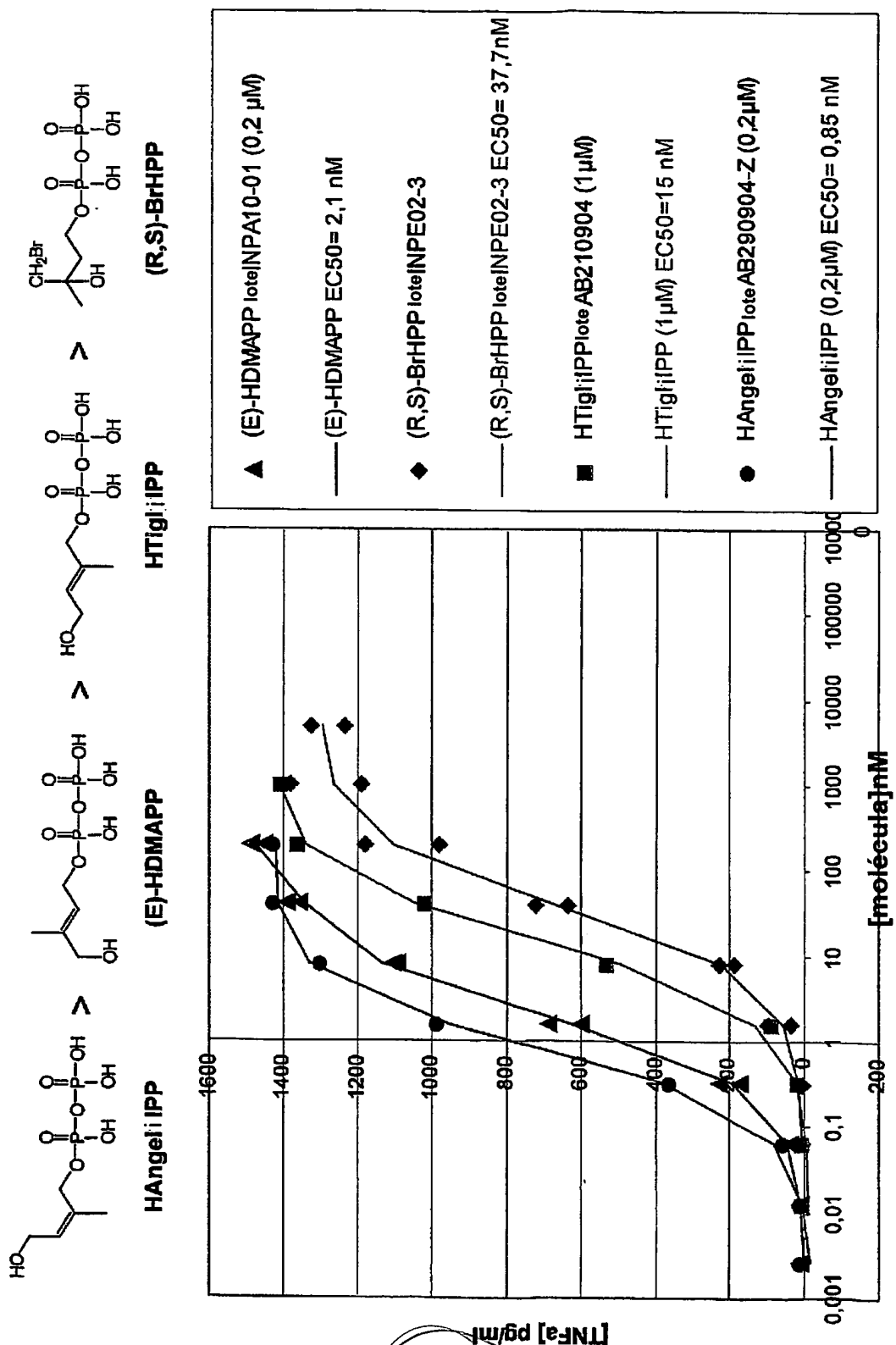


FIGURA 3

RESUMO

“ATIVADOR DE CÉLULAS T GAMADELTA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UM ATIVADOR DE CÉLULAS T GAMADELTA, COMPOSIÇÃO DE VACINA, MÉTODO DE ATIVAÇÃO
5 DE UMA CÉLULA T GAMADELTA, CÉLULA T GAMADELTA, E, USO DE UMA CÉLULA T GAMADELTA”

A presente invenção refere-se a uma nova classe de compostos tendo propriedades ativadoras das células $\gamma\delta$ T, referidos aqui como angelil ou tiglil fosfoésteres, composições compreendendo qualquer um destes
10 compostos e métodos para regular uma resposta imune em um indivíduo, compreendendo a etapa de administrar estes compostos.

A requerente apresenta novas vias das reivindicações para melhor esclarecer e definir o presente pedido e também da página 1 do relatório descritivo e do resumo para harmonização do título com as reivindicações emendadas.

“ATIVADOR DE CÉLULAS T GAMA DELTA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UM ATIVADOR DE CÉLULAS T GAMA DELTA, COMPOSIÇÃO DE VACINA, E, MÉTODO DE ATIVAÇÃO DE UMA CÉLULA T GAMA DELTA *IN VITRO*”

5 CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a uma nova classe de compostos tendo propriedades ativadoras de células $\gamma\delta$ T, referidos aqui como angelil fosfoésteres, composições compreendendo qualquer um destes compostos e métodos para regular uma resposta imune em um indivíduo, compreendendo a

10 etapa de administrar estes compostos.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

A maioria das células $\gamma\delta$ T sangüíneas periféricas humanas expressam um heterodímero $\gamma\delta$ TCR codificado por genes $V\gamma 9/V\delta 2$, alguns receptores de linhagem-NK para MHC classe I e quase nenhum CD4 nem

15 CD8. Estas células mostrou exibir forte atividade citolítica, restringida-MHC, contra células infectadas por vírus (Poccia et al. (1997), células infectadas por parasita (Constant et al (1995)), ou células tumorais (Fournie et Bonneville (1996). Estas células são também fisiologicamente ampliadas no contexto de diversas doenças infecciosas não-relacionadas, tais como tuberculose,

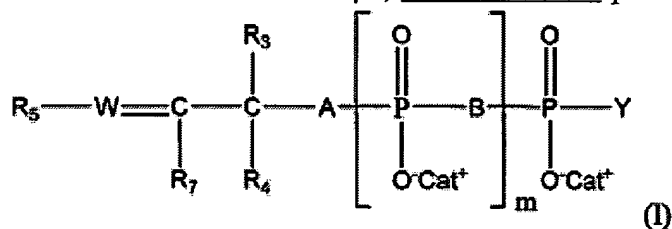
20 malária, tularemia, colibacilose e também por tumores de célula-B (para recapitulação, vide Hayday, 2000.

Além de sua atividade antiinfecciosa, foi mostrado em ensaios de citotoxicidade de curto termo que as células $V\gamma 9/V\delta 2$ T são capazes de lisar uma larga variedade de linhagens de células tumorais de origens muito

25 diversas: linfoma e leucemia de linhagens de célula-B, célula-T ou mielóides (Fisch et al., 2000; Selin et al., 1992; Sicard et al., 2001; Sturm et al., 1990; Zheng et al., 2001a), carcinoma de mama (Bank et al., 1993), glioblastoma (Fujimiya et al., 1997; Yamaguchi et al., 1997), carcinoma de célula renal (Choudhary et al., 1995; Kobayashi et al., 2001; Mitropoulos et al., 1994),

REIVINDICAÇÕES

1. Ativador de células T $\gamma\delta$, caracterizado pela fórmula (I):



em que Cat⁺ representa um (ou diversos, idênticos ou diferentes) cátion(s) orgânico(s) ou mineral(ais) (incluindo próton);

5 m é um inteiro de 1 a 3;

B é O, NH, ou qualquer outro grupo capaz do ser hidrolisado;

A é O, NH, CHF, CF₂ ou CH₂, ou qualquer outro grupo isostérico;

W é C-R₆ ou N;

10 R₇ é um grupo (C₁-C₃)alquila ou um grupo (C₁-C₃)alquila ou qualquer outro grupo isostérico tal como CF₃;

R₃, R₄, e R₆, idênticos ou diferentes, são um hidrogênio ou um grupo (C₁-C₃)alquila ou qualquer outro grupo isostérico tal como CF₃;

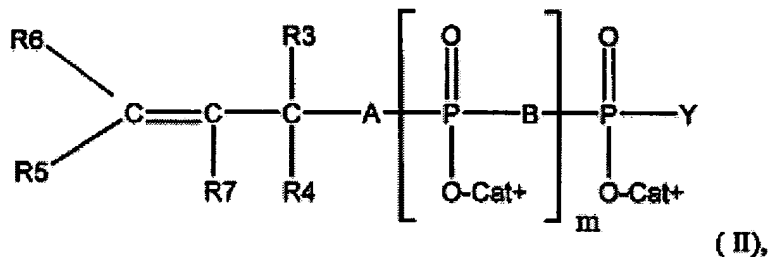
15 R₅ é uma (C₂-C₃)acila, um aldeído, um (C₁-C₃)álcool, ou um (C₂-C₃)éster; e

Y = O⁻Cat⁺, um grupo C₁-C₃alquila, um grupo -A-R, em que R é um grupo hidrocarboneto C₁-C₅₀, linear, ramificado ou cíclico, aromático ou não, saturado ou insaturado, opcionalmente interrompido pelo menos por um heteroátomo, em que dito grupo hidrocarboneto compreende uma alquila, uma alquilenila, ou uma alquinila, preferivelmente uma aquila ou uma alquilenilo, que pode ser substituído por um ou diversos substituintes selecionados do grupo consistindo de: uma alquila, uma alquilenila, uma alquinila, uma epoxialquila, uma arila, um heterociclo, um alcóxi, uma acila, um álcool, um grupo carboxílico (-COOH), um éster, uma amina, um amino grupo (-NH₂), um amido (-CONH₂), uma imina, uma nitrila, uma hidroxila (-OH), um grupo (-CHO), um halogênio, uma halogenoalquila, um tiol (-SH),

uma tioalquila, uma sulfona, um sulfóxido, e uma combinação deles;

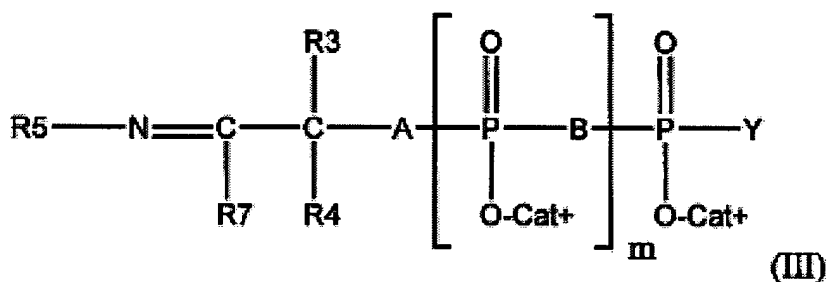
e em que o grupo R_5 e o componente $-CR_3R_4-A-[POOB]_m-POOY$ de Fórmula (II) são na configuração E (ou trans).

2. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com a reivindicação 1,
 5 caracterizado pelo fato de dito ativador ser um composto de fórmula (II):



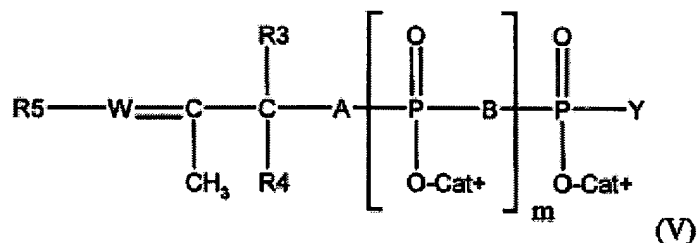
em que Cat^+ , m , B , A , R_5 , R_3 , R_4 , R_6 , R_7 , e Y têm o mesmo significado que na reivindicação 1.

3. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com a reivindicação 1,
 caracterizado pelo fato de dito ativador ser um composto de Fórmula (III):



- 10 em que Cat^+ , m , B , A , R_5 , R_3 , R_4 , R_7 , e Y têm o mesmo significado que na reivindicação 1.

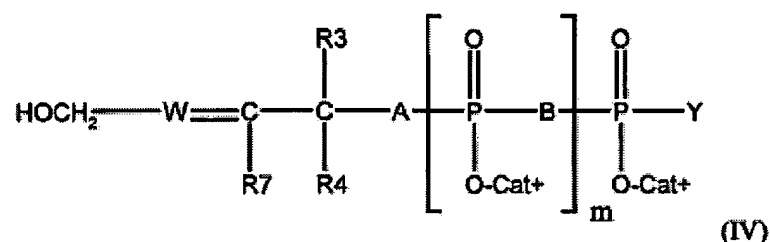
4. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com a reivindicação 1,
 caracterizado pelo fato de dito ativador ser um composto de Fórmula (V):



- 15 em que Cat^+ , m , B , A , W , R_5 , R_3 , R_4 , R_6 , e Y têm o mesmo significado que na reivindicação 1.

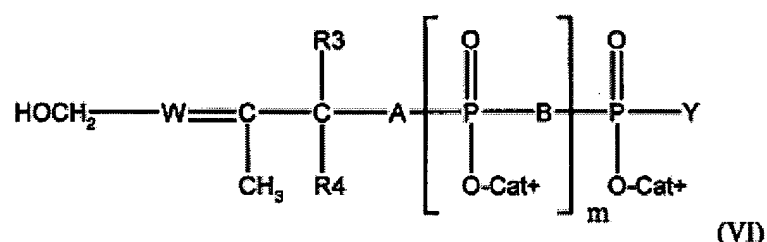
5. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com a reivindicação 1,

caracterizado pelo fato de dito ativador ser um composto de Fórmula (IV):



em que Cat⁺, m, B, A, W, R₅, R₃, R₄, R₆, R₇, e Y têm o mesmo significado que na reivindicação 1.

6. Ativador de células T γδ de acordo com a reivindicação 4 ou 5, caracterizado pelo fato de dito ativador ser um composto de Fórmula (VI):



em que Cat⁺, m, B, A, W, R₃, R₄, R₆, e Y têm o mesmo significado que na reivindicação 1.

7. Ativador de células T γδ de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de R₅ ser -CH₂-OH, -CHO, -CO-CH₃ ou -CO-OCH₃.

8. Ativador de células T γδ de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de R₅ ser -CH₂-OH.

9. Ativador de células T γδ de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, 5, 7 e 8, caracterizado pelo fato de R₇ ser CH₃ ou um seu grupo isostérico, tal como CH₂F, CF₂H ou CF₃.

10. Ativador de células T γδ de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de R₇ ser CH₃.

11. Ativador de células T γδ de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de A ser O.

12. Ativador de células T γδ de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de A ser NH.

13. Ativador de células T γδ de acordo com qualquer uma das

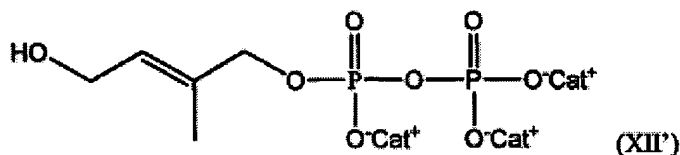
reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de A ser CHF, CF₂ ou CH₂.

14. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, caracterizado pelo fato de B ser O.

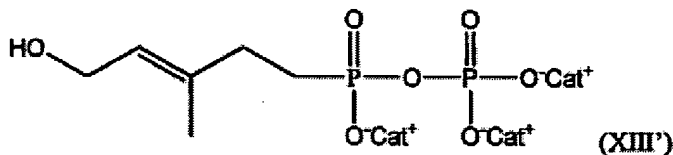
5 15. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado pelo fato de m ser 1.

16. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, caracterizado pelo fato de Y ser O⁻Cat⁺ ou um nucleosídeo, preferivelmente O⁻Cat⁺.

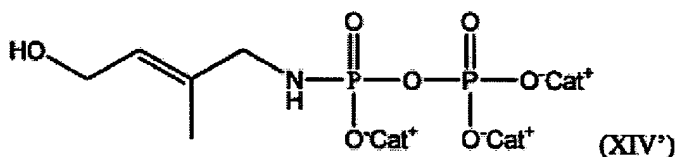
10 17. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de dito ativador ser um composto de fórmula (XII'):



18. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de ser um composto de fórmula (XIII')



15 19. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com qualquer uma das reivindicações 5, caracterizado pelo fato de dito ativador ser um composto de Fórmula (XIV'):



20. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de compreender um ativador de células T $\gamma\delta$ como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 19.

20 21. Ativador de células T $\gamma\delta$ de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19, caracterizado pelo fato de ser um medicamento.

22. Uso de um ativador de células T $\gamma\delta$ como definido em

qualquer uma das reivindicações 1 a 19, caracterizado pelo fato de ser para a manufatura de uma composição farmacêutica para regular as células T $\gamma\delta$ em um indivíduo humano.

5 23. Uso de um ativador de células T $\gamma\delta$ como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 19, caracterizado pelo fato de ser para a manufatura de uma composição farmacêutica para tratar um indivíduo sofrendo de ou susceptível de sofrer de um câncer, uma doença infecciosa, uma doença autoimune ou uma doença alérgica.

10 24. Uso de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de dito câncer ser um tumor sólido.

25. Uso de um ativador de células T $\gamma\delta$ como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 19, caracterizado pelo fato de ser como um adjuvante de vacina.

15 26. Composição de vacina, caracterizada pelo fato de compreender um ativador de células T $\gamma\delta$ como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 19, como um adjuvante de vacina.

20 27. Método de ativação de uma célula T $\gamma\delta$ *in vitro*, caracterizado pelo fato de compreender trazer uma célula T $\gamma\delta$ em contato com um ativador de células T $\gamma\delta$ como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 19.