

CM

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-043469- -00000-0000

Fecha: 2014-02-28 17:08:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 24

DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

ENTRADA EN FASE NACIONAL

21. **EXPEDIENTE No.** _____

MÉTODOS PARA TRATAR EL CÁNCER POR EL USO DE ANTAGONISTAS

54. **TITULO** _____

DE UNIR AL EJE PLATE INHIBIDORES DE TIER

51. **CLASIFICACION INTERNACIONAL** _____

71. **SOLICITANTE** _____

GENENTECH, INC.

DOMICILIO _____

SOUTH SAN FRANCISCO, CA, ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

74. **APODERADO** _____

JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

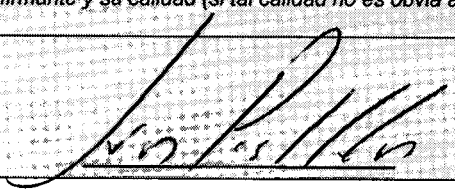
22. **BOGOTÁ, D.C.** _____

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 14-043469- -00000-0000 Fecha: 2014-02-28 17:08:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 24	de radicación
--	---	---------------

AS. 127.240

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL –PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/US2012/049233	Fecha 01.08.2012
Publicación Internacional No.		WO 2013/019906	Fecha 07.02.2013
3	TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)		
MÉTODOS PARA TRATAR EL CÁNCER POR EL USO DE ANTAGONISTAS DE UNIÓN AL EJE PD-1E INHIBIDORES DE MEK			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)		
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN TIPO
1. GENENTECH, INC.			
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN 1 DNA Way, 94080		No. TELÉFONO	
CIUDAD South San Francisco		CORREO ELECTRÓNICO	
DEPARTAMENTO/ESTADO CA		NACIONALIDAD O CA	
PAÍS DE RESIDENCIA US		LUGAR DE CONSTITUCIÓN	
7	INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1. MAECKER		Heather	US
2. IRVING		Bryan	US
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA		DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD DIRECCIÓN
1. US		CA	South San Francisco 1 DNA Way, 94080
2. US		CA	South San Francisco 1 DNA Way, 94080
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja de información complementaria.			
9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
CADENA SARMIENTO		JUAN PABLO	C.C . 80.410.337 T.P . 57492
DIRECCIÓN Calle 70A 4 41		No. TELÉFONO 7442200	
CIUDAD Bogotá, D.C.		CORREO ELECTRÓNICO	
PAÍS CO		No. RADICACIÓN O PROTOCOLO DE PODER GENERAL	
10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO		
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO (32) FECHA (AAAA/MM/DD)
1. US		US	61/574,406 2011/08/01
2.			
3.			

11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS		
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.			
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES		
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado o número de registro.			
13	REDUCCIÓN DE TASAS		
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.			
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐			
Universidades públicas o privadas ☐			
Entidades sin ánimo de lucro ☐			
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☒ SI ☐ NO		
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.			
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	No. 14-3898, 14-4159, 14-4160, 14-4161, 14-2592	Fecha: 27.02.2014
16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)		
			
17	ANEXOS		
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano		Documentación Jurídica	
1. ☒ Descripción N° de folios: 1-109		9. ☒ Poderes, si fuera el caso.	
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 79		10. ☒ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.	
3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 119-133		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. Reducción de tasas	
6. ☒ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		Micro, pequeñas o medianas empresas	
7. ☐ Arte final 12 x 12.		☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.	
8. ☒ Anexo formato digital.		☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.	
		Universidades públicas o privadas	
		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación	
		Entidades sin ánimo de lucro	
		☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.	
		☐ Hoja de información complementaria.	
		☐ Otros, especificar:	
		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.	
		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.	
		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.	
		17. ☒ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.	

- (51) International Patent Classification:
A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) C07K 16/30 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2012/049233

(22) International Filing Date:
1 August 2012 (01.08.2012)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/574,406 1 August 2011 (01.08.2011) US

(71) Applicant (for all designated States except AL, AT, BA, BE, BG, CH, CN, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IN, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR, US): GEN-ENTECH, INC. [US/US]; 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080 (US).

(71) Applicant (for AL, AT, BA, BE, BG, CH, CN, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IN, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR only): F. HOFFMANN-LA ROCHE AG [CH/CH]; Grenzacherstrasse 124, CH-4070 Basel (CH).
- (72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): MAECKER, Heather [US/US]; 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080 (US). IRVING, Bryan [US/US]; 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080 (US).

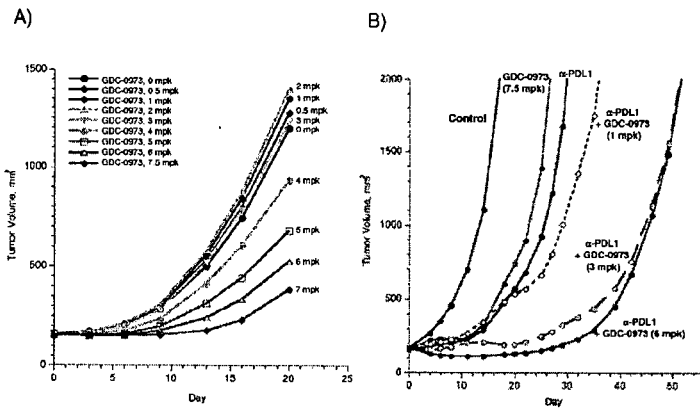
(74) Agents: ZHOU, Jie et al.; Morrison & Foerster LLP, 425 Market Street, San Francisco, CA 94105-2482 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: METHODS OF TREATING CANCER USING PD-1 AXIS BINDING ANTAGONISTS AND MEK INHIBITORS

Figure 8



(57) Abstract: The present invention describes combination treatment comprising a PD-1 axis binding antagonist and a MEK inhibitor and methods for use thereof, including methods of treating conditions where enhanced immunogenicity is desired such as in -creasing tumor immunogenicity for the treatment of cancer.

WO 2013/019906 A1



Published:

— with international search report (Art. 21(3))

— with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))

5

Brigard & Castro
BOGOTÁ - COLOMBIA

PODER

Yo (nosotros)

domiciliado(s) en

Nombro(amos) a: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO** y/o **BEATRIZ JARAMILLO** y/o **CARLOS H. PALACIO EASTMAN** y/o **HECTOR GOMEZ MEJIA**, de Bogotá, Colombia, apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente, para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, registros de marcas, diseños industriales, modelos de utilidad, depósitos de nombres comerciales y enseññas, registros de derechos de autor y contratos sobre los mismos, obtención de certificados de obtentor de variedades vegetales, así como sus prórrogas, renovaciones, anotaciones de traspaso, cambios de nombre y/o domicilio; elaborar, tramitar y registrar contratos de licencia y licencias de cualesquiera clases; intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso ante cualquier juez, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía tales como: oposiciones al registro de marcas; acciones de caducidad, cancelación y nulidad; acciones reivindicatorias, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos y observaciones a solicitudes de patentes, diseños industriales, modelos de utilidad, en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones o medidas similares.

A este efecto, lo(s) faculto(amos) para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, nulidades, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores, dando el descargo respectivo, y, en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de mis (nuestros intereses), con todas las demás facultades legales necesarias.

Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado así como la facultad de desistir, transigir, comprometer, y la de sustituirlo en todo o en parte y revocar sustituciones. Asimismo nombro(amos) a: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO** y/o **BEATRIZ JARAMILLO** y/o **CARLOS H. PALACIO EASTMAN** y/o **HECTOR GOMEZ MEJIA**, domiciliado(s) en la Carrera 7 No. 16-56 Piso 9, mis (nuestros) apoderados en Colombia, con facultades para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Otorgado y firmado en

hoy de de 200_

Firma

Nombre
Cargo

POWER OF ATTORNEY

I (We)

Genentech, Inc.

1 DNA Way

domiciled in **South San Francisco, California 94080-4990**
USA

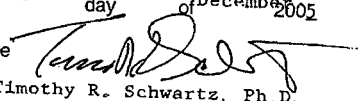
Hereby appoints **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO** and/or **BEATRIZ JARAMILLO** and/or **CARLOS H. PALACIO EASTMAN** and/or **HECTOR GOMEZ MEJIA**, of Bogotá, Colombia, my (our) true and lawful attorneys with special, ample and sufficient power to obtain from the Colombian administrative, judicial and police offices and authorities, in any instance, privileges of patents of invention, registration of trademarks, industrial designs and utility models; registration of commercial names and emblems, registration of copyright and contracts related thereto, certificates of obtainers of vegetables varieties, as well as extensions, renewals and recordal of assignments and changes of name and domicile related to the above; to prepare, prosecute and register licenses of any kind; to act as plaintiff or defendant in any instance or recourse, and before any judge, corporation, public official or authority in judicial, administrative and police actions, such as: oppositions to the registration of trademarks; caducity, cancellation and nullity actions; claim actions derived from the obtaining or exploitation of licenses, action of unfair competition; criminal proceedings, actions for payment of damages; claims or observations on patent applications, models, industrial designs and utility models; in the exercise of preventive measures and in other actions or similar proceedings.

To that effect they hereby empowered to file applications, formulate descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, nullities, appeals and claims; to pay taxes, quotas and assessments prescribed by law, renounce or waive the rights granted or in the process of granting; to receive all kinds of documents and valuables, giving the respective release of receipt, and, in general, to take before said authorities the necessary steps to such effect, and any measures that they may deem pertinent to the safeguard of my (our) interest(s) with all the other necessary legal powers.

This power includes the faculty to ratify or confirm desist, settle and compromise on my (our) behalf, and to substitute this power in whole or in part and to revoke substitutions. At the same time I (We) hereby appoints **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO** and/or **BEATRIZ JARAMILLO** and/or **CARLOS H. PALACIO EASTMAN** and/or **HECTOR GOMEZ MEJIA**, domiciled in Carrera 7 No. 16-56, Piso 9, my (our) attorney(s) in fact, with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys.

Granted and signed in **South San Francisco, California**
USA

this 6th day of December 2005

Signature 
Name **Timothy R. Schwartz, Ph.D.**
Title **Section Patent Counsel**
Authorized Corporate Signatory
Genentech, Inc.



UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

UNDER SECRETARY OF COMMERCE FOR INTELLECTUAL PROPERTY AND
DIRECTOR OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

FEBRUARY 3, 2012

PTAS

CRAIG G. SVOBODA
GENENTECH, INC.
1 DNA WAY
SOUTH SAN FRANCISCO, CA 94080

501807032

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE
NOTICE OF RECORDATION OF ASSIGNMENT DOCUMENT

THE ENCLOSED DOCUMENT HAS BEEN RECORDED BY THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH OF THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE. A COMPLETE COPY IS AVAILABLE AT THE ASSIGNMENT SEARCH ROOM ON THE REEL AND FRAME NUMBER REFERENCED BELOW.

PLEASE REVIEW ALL INFORMATION CONTAINED ON THIS NOTICE. THE INFORMATION CONTAINED ON THIS RECORDATION NOTICE REFLECTS THE DATA PRESENT IN THE PATENT AND TRADEMARK ASSIGNMENT SYSTEM. IF YOU SHOULD FIND ANY ERRORS OR HAVE QUESTIONS CONCERNING THIS NOTICE, YOU MAY CONTACT THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH AT 571-272-3350. PLEASE SEND REQUEST FOR CORRECTION TO: U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE, MAIL STOP: ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

RECORDATION DATE: 02/02/2012

REEL/FRAME: 027639/0758
NUMBER OF PAGES: 5

BRIEF: ASSIGNMENT OF ASSIGNORS INTEREST (SEE DOCUMENT FOR DETAILS).

DOCKET NUMBER: PR4726

ASSIGNOR:
MAECKER, HEATHER

DOC DATE: 02/01/2012

ASSIGNOR:
IRVING, BRYAN

DOC DATE: 02/01/2012

ASSIGNEE:
GENENTECH, INC.
1 DNA WAY
SOUTH SAN FRANCISCO, CALIFORNIA
94080

APPLICATION NUMBER: 61574406

FILING DATE: 08/01/2011

PATENT NUMBER:

ISSUE DATE:

TITLE: METHODS OF TREATING CANCER USING PD-1 AXIS BINDING ANTAGONISTS
AND MEK INHIBITORS

ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH
PUBLIC RECORDS DIVISION

501807032 02/02/2012

PATENT ASSIGNMENT

Electronic Version v1.1
Stylesheet Version v1.1

SUBMISSION TYPE:	NEW ASSIGNMENT										
NATURE OF CONVEYANCE:	ASSIGNMENT										
CONVEYING PARTY DATA											
<table><tr><td>Name</td><td>Execution Date</td></tr><tr><td>Heather Maecker</td><td>02/01/2012</td></tr><tr><td>Bryan Irving</td><td>02/01/2012</td></tr></table>		Name	Execution Date	Heather Maecker	02/01/2012	Bryan Irving	02/01/2012				
Name	Execution Date										
Heather Maecker	02/01/2012										
Bryan Irving	02/01/2012										
RECEIVING PARTY DATA											
<table><tr><td>Name:</td><td>Genentech, Inc.</td></tr><tr><td>Street Address:</td><td>1 DNA Way</td></tr><tr><td>City:</td><td>South San Francisco</td></tr><tr><td>State/Country:</td><td>CALIFORNIA</td></tr><tr><td>Postal Code:</td><td>94080</td></tr></table>		Name:	Genentech, Inc.	Street Address:	1 DNA Way	City:	South San Francisco	State/Country:	CALIFORNIA	Postal Code:	94080
Name:	Genentech, Inc.										
Street Address:	1 DNA Way										
City:	South San Francisco										
State/Country:	CALIFORNIA										
Postal Code:	94080										
PROPERTY NUMBERS Total: 1											
<table><tr><td>Property Type</td><td>Number</td></tr><tr><td>Application Number:</td><td>61574406</td></tr></table>		Property Type	Number	Application Number:	61574406						
Property Type	Number										
Application Number:	61574406										
CORRESPONDENCE DATA											
Fax Number: (650)952-9881											
Phone: 6502251000											
Email: tarah@gene.com											
Correspondence will be sent to the e-mail address first; if that is unsuccessful, it will be sent via US Mail.											
Correspondent Name: Craig G. Svoboda											
Address Line 1: Genentech, Inc.											
Address Line 2: 1 DNA Way											
Address Line 4: South San Francisco, CALIFORNIA 94080											
ATTORNEY DOCKET NUMBER:	PR4726										
NAME OF SUBMITTER:	Craig G. Svoboda										
Total Attachments: 4 source=PR4726_Assignment#page1.tif source=PR4726_Assignment#page2.tif source=PR4726_Assignment#page3.tif source=PR4726_Assignment#page4.tif											

C.H. \$40100 61574406

ASSIGNMENT

WHEREAS, Heather Maecker, a citizen of USA, residing at 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080 and Bryan Irving, a citizen of the USA, residing at 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080; (hereinafter "ASSIGNORS"), have invented a new and useful invention in

METHODS OF TREATING CANCER USING PD-1 AXIS BINDING ANTAGONISTS AND MEK INHIBITORS

for which a provisional application Serial No. 61/574,406 (Docket No. PR4726) has been filed by them on August 1, 2011; and

WHEREAS, GENENTECH, INC., a corporation organized and existing under and by virtue of the laws of the State of Delaware, having a place of business at 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080-4990, is desirous of acquiring an interest in and to said invention, and in and to the Letters Patents to be obtained therefor;

NOW, THEREFORE, be it known by all whom it may concern;

That for good and valuable consideration the receipt of which is hereby acknowledged, the said ASSIGNORS have and do hereby sell, assign, transfer and set over unto the said GENENTECH, INC., its successors and assigns, the full and exclusive right, title and interest including all rights under the Paris Convention for the Protection of Industrial Property, in and to said invention, and in and to any and all Letters Patents to be granted and issued therefor or any continuation, division, renewal, or substitute thereof, and as to Letters Patents any reissue or re-examination thereof, not only for, to, and in the United States of America, its territories and possessions, but for, to and in all other countries; and it has been and is hereby authorized and requested that the appropriate government agencies issue said Letters Patents to said GENENTECH, INC., in accordance with this Assignment.

Said ASSIGNORS covenant and agree to cooperate with GENENTECH, INC., to enable said GENENTECH, INC. to enjoy to the fullest extent the right, title and interest herein conveyed in the United States and foreign countries. Such cooperation by said ASSIGNORS includes prompt production of pertinent facts and documents, giving of testimony, execution of petitions, oaths, specifications, declarations or other papers, and other assistance all to the extent deemed necessary or desirable by said GENENTECH, INC., (a) for perfecting the right, title and interest herein conveyed; (b) for prosecuting any of said applications; (c) for filing and prosecuting applications for reissuance of any of said patents; (d) for interference or other priority proceedings involving said invention; and (e) for legal proceedings involving said invention and any applications therefor and any patents granted thereon, including without limitation opposition proceedings, cancellation proceedings, priority contests, public use proceedings, infringement actions and court actions; provided, however, that the expense incurred by said ASSIGNORS in providing such cooperation shall be paid for by said GENENTECH, INC.

The terms and covenants of this assignment shall inure to the benefit of said GENENTECH, INC., its successors, assigns and other legal representatives, and shall be binding upon said ASSIGNORS, their respective heirs, legal representatives and assigns.

Said ASSIGNORS hereby warrant and represent that they have not entered and will not enter into any assignment, contract, or understanding in conflict herewith.

IN WITNESS WHEREOF we undersign as follows:

2-1-2011
Date

Heather Maecker
Name: Heather Maecker

Date

Name: Bryan Irving

ASSIGNMENT

WHEREAS, Heather Maecker, a citizen of USA, residing at 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080 and Bryan Irving, a citizen of the USA, residing at 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080; (hereinafter "ASSIGNORS"), have invented a new and useful invention in

METHODS OF TREATING CANCER USING PD-1 AXIS BINDING ANTAGONISTS AND MEK INHIBITORS

for which a provisional application Serial No. 61/574,406 (Docket No. PR4726) has been filed by them on August 1, 2011; and

WHEREAS, GENENTECH, INC., a corporation organized and existing under and by virtue of the laws of the State of Delaware, having a place of business at 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080-4990, is desirous of acquiring an interest in and to said invention, and in and to the Letters Patents to be obtained therefor;

NOW, THEREFORE, be it known by all whom it may concern;

That for good and valuable consideration the receipt of which is hereby acknowledged, the said ASSIGNORS have and do hereby sell, assign, transfer and set over unto the said GENENTECH, INC., its successors and assigns, the full and exclusive right, title and interest including all rights under the Paris Convention for the Protection of Industrial Property, in and to said invention, and in and to any and all Letters Patents to be granted and issued therefor or any continuation, division, renewal, or substitute thereof, and as to Letters Patents any reissue or re-examination thereof, not only for, to, and in the United States of America, its territories and possessions, but for, to and in all other countries; and it has been and is hereby authorized and requested that the appropriate government agencies issue said Letters Patents to said GENENTECH, INC., in accordance with this Assignment.

Said ASSIGNORS covenant and agree to cooperate with GENENTECH, INC., to enable said GENENTECH, INC. to enjoy to the fullest extent the right, title and interest herein conveyed in the United States and foreign countries. Such cooperation by said ASSIGNORS includes prompt production of pertinent facts and documents, giving of testimony, execution of petitions, oaths, specifications, declarations or other papers, and other assistance all to the extent deemed necessary or desirable by said GENENTECH, INC., (a) for perfecting the right, title and interest herein conveyed; (b) for prosecuting any of said applications; (c) for filing and prosecuting applications for reissuance of any of said patents; (d) for interference or other priority proceedings involving said invention; and (e) for legal proceedings involving said invention and any applications therefor and any patents granted thereon, including without limitation opposition proceedings, cancellation proceedings, priority contests, public use proceedings, infringement actions and court actions; provided, however, that the expense incurred by said ASSIGNORS in providing such cooperation shall be paid for by said GENENTECH, INC.

The terms and covenants of this assignment shall inure to the benefit of said GENENTECH, INC., its successors, assigns and other legal representatives, and shall be binding upon said ASSIGNORS, their respective heirs, legal representatives and assigns.

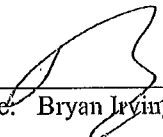
Said ASSIGNORS hereby warrant and represent that they have not entered and will not enter into any assignment, contract, or understanding in conflict herewith.

IN WITNESS WHEREOF we undersign as follows;

Date

Feb 1, 2012
Date

Name: Heather Maecker


Name: Bryan Irving

**TRADUCCIÓN AL ESPAÑOL DEL DOCUMENTO DE CESIÓN A
GENENTECH, INC., firmado por los cedentes y el cesionario.**

OFICINA DE MARCAS Y PATENTES ESTADOS UNIDOS
Bajo el Secretario de Comercio para la Propiedad Intelectual y Director de la Oficina de Marcas y Patentes
de los Estados Unidos

Febrero 2, 2011

PTAS

CRAIG G. SVOBODA
1 DNA Way
South San Francisco, CA 94080

Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos
Notificación de Registro de Documento de Cesión

El documento anexo ha sido registrado por la División de Cesiones de la Oficina de Marcas y Patentes de los Estados Unidos. Una copia microfilmada completa se encuentra disponible en la Sala de Búsquedas de Cesiones en el rollo y cuadro cuyo nombre de referencia aparece más adelante.

Por favor revise toda la información que contiene esta notificación. La información contenida refleja los datos presentes en el Sistema de Cesiones de Marcas y Patentes. Si encuentra errores o tiene preguntas con respecto a este documento, puede contactar al funcionario cuyo nombre aparece en esta notificación, marcando el 571-272-3350. Las solicitudes de corrección se pueden enviar a: U.S. Patent and Trademark Office, Mail Stop: Assignment Services Branch, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313.

Fecha de Registro: 02/02/2012

Rollo/Cuadro: 027639/0758

Número de páginas: 5

Resumen: Cesión de interés del cedente (véase documento para detalles)

Número de Expediente de Abogado: PR4726

Cedente:
Maecker, Heather

Fecha del documento: 02/01/2012

Cedente:
Irving, Bryan

Fecha del documento: 02/01/2012

Cesionario:
GENENTECH, INC.
1 DNA Way
South San Francisco, CA 94080-4990

Número de solicitud: 61574406

Fecha de presentación: 08/01/2011

Número de patente:

Fecha de expedición:

Título: MÉTODOS PARA TRATAR EL CÁNCER POR EL USO DE ANTAGONISTAS DE UNIÓN AL EJE PD-1E
INHIBIDORES DE MEK

SUCURSAL DE SERVICIOS DE CESIONES
DIVISIÓN DE REGISTROS PÚBLICOS

CESIÓN DE PATENTE

Versión electrónica v1.1

Versión de la hoja v1.1

TIPO DE PRESENTACIÓN:	CESIÓN NUEVA
NATURALEZA DEL ACUERDO:	CESIÓN

DATOS DE LA PARTE CEDENTE

Nombre	Fecha de ejecución
Heather Maecker	02/01/2012
Bryan Irving	02/01/2012

DATOS DE LA PARTE QUE RECIBE

Nombre:	Genentech, Inc.
Dirección:	1 DNA Way
Ciudad:	South San Francisco
Estado/País:	CALIFORNIA
Código Postal:	94080

NÚMERO DE PROPIEDADES Total: 1

Tipo de Propiedad	Número
Número de solicitud:	61574406

DATOS DE CORRESPONDENCIA

Número de Fax: (650) 952 9881

Teléfono: 650 225 1000

Correo electrónico: tarah@gene.com

La correspondencia será enviada por Correo de Estados Unidos cuando los intentos de hacerlo por fax no sean exitosos.

Nombre del destinatario: Craig G. Svoboda

Dirección Línea 1: Genentech, Inc.

Dirección Línea 2: 1 DNA Way

Dirección Línea 4: South San Francisco, CALIFORNIA 94080

NÚMERO DE EXPEDIENTE DE ABOGADO:	PR4726
NOMBRE DEL REMITENTE:	Craig G. Svoboda

Anexos: 4

Fuente= PR4726_Assignment#page1.tif

Fuente= PR4726_Assignment#page2.tif

Fuente= PR4726_Assignment#page3.tif

Fuente= PR4726_Assignment#page4.tif

CESIÓN

CONSIDERANDO QUE, **Heather Maecker**, una ciudadana de Estados Unidos, residente en 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080-4990 y **Bryan Irving**, un ciudadano de Estados Unidos, residente en 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080-4990; (en adelante referidos como CEDENTES), han inventado una invención útil y nueva en

MÉTODOS PARA TRATAR EL CÁNCER POR EL USO DE ANTAGONISTAS DE UNIÓN AL EJE PD-1E INHIBIDORES DE MEK

para la cual se presentó una solicitud provisional con Serial No. 61/574,406 (Expediente de abogado No. PR4726) el 01 de agosto de 2011; y

CONSIDERANDO QUE, GENENTECH, INC., una corporación organizada y existente bajo y por virtud de las leyes del Estado de Delaware, que tiene oficinas en 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080-4990, está deseosa de adquirir un interés en y para dicha invención, y en y para las patentes que se obtendrán de la misma;

AHORA, POR LO TANTO, téngase por sabido por todo aquel que le concierna:

Que por una consideración buena y valiosa el recibo de la cual se reconoce por la presente, dichos CEDENTES han y por la presente venden, ceden, transfieren y traspasan a dicha GENENTECH, INC. sus sucesores y cesionarios, el derecho, título e interés completo y exclusivo incluyendo todos los derechos bajo la Convención de Paris para la Protección de la Propiedad Industrial, en y para dicha invención, y en y para cualquiera y todas las patentes que se concedan y emitan para la misma o cualquier continuación, división, renovación, o sustitución de la misma, y en cuanto a patentes cualquier reemisión o reexaminación de las mismas, no solo para, por y en los Estados Unidos de América, sus territorios y posesiones, sin para, por y en todos los otros países; y se ha y por la presente se autoriza y solicita que las agencias gubernamentales respectivas emitan dichas patentes a GENENTECH, INC. de acuerdo con esta cesión.

Dichos CEDENTES garantizan y acuerdan cooperar con GENENTECH, INC., para posibilitar a dicha GENENTECH, INC., el disfrute hasta su máxima extensión del derecho, título e interés aquí cedido en Estados Unidos y los países extranjeros. Tal cooperación por dichos CEDENTES incluye la pronta producción de hechos y documentos pertinentes, dando testimonio, ejecutando peticiones, juramentos, especificaciones, declaraciones u otros documentos, y otra ayuda todas hasta el punto considerado necesario o deseable por dichas GENENTECH, INC. (a) para perfeccionar el derecho, título e interés aquí cedido; (b) para procesar cualquiera de dichas solicitudes; (c) para presentar y procesar solicitudes de reemisión de cualquiera de dichas patentes; (d) para procesos de interferencia u otros procesos de prioridad que involucren dicha invención; y (e) para procedimientos legales que involucren dicha invención y cualquier solicitud de la misma y cualquier patente concedida sobre la misma, incluyendo sin limitación procedimientos de oposición, procedimientos de cancelación, disputas de prioridad, procesos de uso público, acciones de violación y acciones de la corte; con la condición que los gastos incurridos por dichos CEDENTES al proporcionar dicha cooperación deban ser pagados por GENENTECH, INC.

Los términos y garantías de esta cesión deben actuar en beneficio de dicha GENENTECH, INC. sus sucesores, cesionarios y otros representantes legales, y deberá ser obligante sobre dichos CEDENTES, sus respectivos herederos, representantes legales y cesionarios.

Dichos CEDENTES por la presente garantizan y manifiestan que no han entrado y no entrará en ninguna cesión, contrato o entendimiento en conflicto con la presente.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL se suscriben como sigue:

Fecha: 02/01/2011

(firma)
Nombre: **Heather Maecker**

Fecha:

Nombre: **Bryan Irving**

CESIÓN

CONSIDERANDO QUE, **Heather Maecker**, una ciudadana de Estados Unidos, residente en 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080-4990 y **Bryan Irving**, un ciudadano de Estados Unidos, residente en 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080-4990; (en adelante referidos como CEDENTES), han inventado una invención útil y nueva en

MÉTODOS PARA TRATAR EL CÁNCER POR EL USO DE ANTAGONISTAS DE UNIÓN AL EJE PD-1E INHIBIDORES DE MEK

para la cual se presentó una solicitud provisional con Serial No. 61/574,406 (Expediente de abogado No. PR4726) el 01 de agosto de 2011; y

CONSIDERANDO QUE, GENENTECH, INC., una corporación organizada y existente bajo y por virtud de las leyes del Estado de Delaware, que tiene oficinas en 1 DNA Way, South San Francisco, California 94080-4990, está deseosa de adquirir un interés en y para dicha invención, y en y para las patentes que se obtendrán de la misma;

AHORA, POR LO TANTO, téngase por sabido por todo aquel que le concierna:

Que por una consideración buena y valiosa el recibo de la cual se reconoce por la presente, dichos CEDENTES han y por la presente venden, ceden, transfieren y traspasan a dicha GENENTECH, INC. sus sucesores y cesionarios, el derecho, título e interés completo y exclusivo incluyendo todos los derechos bajo la Convención de Paris para la Protección de la Propiedad Industrial, en y para dicha invención, y en y para cualquiera y todas las patentes que se concedan y emitan para la misma o cualquier continuación, división, renovación, o sustitución de la misma, y en cuanto a patentes cualquier reemisión o reexaminación de las mismas, no solo para, por y en los Estados Unidos de América, sus territorios y posesiones, sin para, por y en todos los otros países; y se ha y por la presente se autoriza y solicita que las agencias gubernamentales respectivas emitan dichas patentes a GENENTECH, INC. de acuerdo con esta cesión.

Dichos CEDENTES garantizan y acuerdan cooperar con GENENTECH, INC., para posibilitar a dicha GENENTECH, INC., el disfrute hasta su máxima extensión del derecho, título e interés aquí cedido en Estados Unidos y los países extranjeros. Tal cooperación por dichos CEDENTES incluye la pronta producción de hechos y documentos pertinentes, dando testimonio, ejecutando peticiones, juramentos, especificaciones, declaraciones u otros documentos, y otra ayuda todas hasta el punto considerado necesario o deseable por dichas GENENTECH, INC. (a) para perfeccionar el derecho, título e interés aquí cedido; (b) para procesar cualquiera de dichas solicitudes; (c) para presentar y procesar solicitudes de reemisión de cualquiera de dichas patentes; (d) para procesos de interferencia u otros procesos de prioridad que involucren dicha invención; y (e) para procedimientos legales que involucren dicha invención y cualquier solicitud de la misma y cualquier patente concedida sobre la misma, incluyendo sin limitación procedimientos de oposición, procedimientos de cancelación, disputas de prioridad, procesos de uso público, acciones de violación y acciones de la corte; con la condición que los gastos incurridos por dichos CEDENTES al proporcionar dicha cooperación deban ser pagados por GENENTECH, INC.

Los términos y garantías de esta cesión deben actuar en beneficio de dicha GENENTECH, INC. sus sucesores, cesionarios y otros representantes legales, y deberá ser obligante sobre dichos CEDENTES, sus respectivos herederos, representantes legales y cesionarios.

Dichos CEDENTES por la presente garantizan y manifiestan que no han entrado y no entrará en ninguna cesión, contrato o entendimiento en conflicto con la presente.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL se suscriben como sigue:

Fecha: 02/01/2011

Nombre: **Heather Maecker**

Fecha: 02/01/2012

(firma)
Nombre: **Bryan Irving**

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 003898

Bogotá D.C., Enero 15 de 2014 - 08:44:46

RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A.

NI 860.047.372

RE

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
RECIBO DE CA	999999999	3476	14/01/2014		117.576.000.00
RECIBO DE CA	999999999	3489	14/01/2014		6.150.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	515.000.00	515.000.00
			\$515.000.00
			=====

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable:

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-043469-00000-0000

Fecha: 2014-02-28 17:08:07

Tra. 11 PATENTEIYII

Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Eve: 378 FASENACIONALI

Folios: 24

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Enero 15 de 2014 - 08:45:11

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-



RECIBO DE CAJA

No. 14 - 004159

Bogotá D.C., Enero 15 de 2014 - 09:01:12

RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A.

NI 860.047.372

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
RECIBO DE CA	999999999	3970	15/01/2014		48.451.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
20	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	31.000.00	620.000.00
				\$620.000.00

SON: **SEISCIENTOS VEINTE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-043469- -00000-0000

Fecha: 2014-02-28 17:08:07

Tra. 11 PATENTEIYII

Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR. NUEVASOR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 24

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



RECIBO DE CAJA

No. 14 - 004160

Bogotá D.C., Enero 15 de 2014 - 09:01:12

RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A.

NI 860.047.372

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
RECIBO DE CA	999999999	3970	15/01/2014		48.451.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
20	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	31.000.00	620.000.00
				\$620.000.00

SON: **SEISCIENTOS VEINTE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-043469- -00000-0000

Fecha: 2014-02-28 17:08:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 24

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Enero 15 de 2014 - 09:40:19

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-



RECIBO DE CAJA

No. 14 - 004161

Bogotá D.C., Enero 15 de 2014 - 09:01:12

RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A.

NI 860.047.372

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
RECIBO DE CA	999999999	3970	15/01/2014		48.451.000.00

*** Conceptos Pagados ***

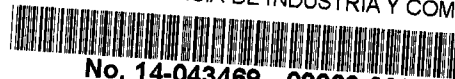
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
20	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	31.000.00	620.000.00
				\$620.000.00

SON: **SEISCIENTOS VEINTE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-043469-00000-0000

Fecha: 2014-02-28 17:08:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 24

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.slc.gov.co e-mail: info@slc.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Enero 15 de 2014 - 09:40:19

127240 22

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 002592

Bogotá D.C., Enero 13 de 2014 - 09:27:11

RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A.

NI 860.047.372

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	650553411	10/01/2014	29.216.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
9 50005-01-01	SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	31.000.00	279.000.00
				\$279.000.00

SON: **DOSCIENTOS SETENTA Y NUEVE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-043469- -00000-0000

Fecha: 2014-02-28 17:08:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 24

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Linea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

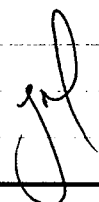
Enero 13 de 2014 - 09:27:24

		PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS	
Dependencia: 2020		Fecha: 2014 / 02 / 28 / AAAA MM DD	
		Recorrido: 4	
Tipo de Radicación: Entrada: ☒ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐			
Radicador:		Planilla:	

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	14-43469	0	7
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
☒	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones: EL CD ANEXO CONTIENE UN TOTAL DE 3 ARCHIVOS: 3 EN FORMATO PDF, (W) CUALES FUERON PROCESADOS. EL CD SE ENCUENTRA UBICADO EN EL FOLIO (23)
--





No. 14-043469- -00000-0000

Fecha: 2014-02-28 17:08:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 24

PATENTE DE INVENCION ☐

MODEL

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☐ Indicación que se solicita una PCT
- ☐ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐

MÉTODOS PARA TRATAR EL CÁNCER POR EL USO DE ANTAGONISTAS DE UNIÓN AL EJE PD-1E INHIBIDORES DE MEK

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud Provisoria de los Estados Unidos núm. de serie 61/574.406, presentada el 1ro de agosto de 2011, cuyos contenidos se incorporan como referencia en su totalidad en la presente.

Antecedentes de la invención

La provisión de dos señales distintas a células T es un modelo ampliamente aceptado para la activación de linfocitos de linfocitos T en reposo por medio de células que presentan antígenos (APC). Lafferty et al, Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 53: 27-42 (1975). Este modelo proporciona además la discriminación de células propias y ajenas y de la tolerancia inmunológica. Bretscher et al, Science 169: 1042-1049 (1970); Bretscher, P.A., P.N.A.S. USA 96: 185-190 (1999); Jenkins et al, J. Exp. Med. 165: 302-319 (1987). La principal señal, o señal antígeno específica, se transduce a través del receptor de células T (TCR) luego del reconocimiento de péptidos antígenos foráneos presentados en el contexto del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). La señal segunda o coestimuladora se administra a células T por medio de moléculas coestimuladoras expresadas en células presentadoras de antígenos (APC), e inducen a que células T promuevan la expansión clonal, la secreción de citoquinas y la función efectora. Lenschow et al., Ann. Rev. Immunol. 14:233 (1996). En la ausencia de coestimulación, las células T se pueden volver refractorias a la estimulación con antígenos, no generar una respuesta inmune efectiva, y además puede dar lugar a cansancio o a tolerancia a antígenos foráneos.

En el modelo de dos señales las células T reciben señales coestimuladoras secundarias tanto positivas como negativas. La regulación de tales señales positivas y negativas es crítica para maximizar las respuestas inmunes protectoras del huésped, mientras que mantiene la tolerancia inmune y previene la autoinmunidad. Las señales secundarias negativas aparentan ser necesarias para la inducción de tolerancia a células T, mientras que las señales positivas promueven la activación de células T. Si bien el modelo de dos señales simple aún proporciona una explicación válida para los linfocitos naif, la respuesta inmune de un huésped es un proceso dinámico, y también se pueden proporcionar señales coestimuladoras a células T expuestas a antígenos. El mecanismo de

coestimulación es de interés terapéutico dado que la manipulación de señales coestimuladoras ha demostrado proporcionar un medio para ya sea potenciar o terminar una respuesta inmune basada en células. Recientemente, se ha descubierto que la disfunción o anergia de células T sucede en forma simultánea con una expresión inducida y sostenida del receptor inhibidor, el polipéptido de muerte programada 1 (PD-1). Como un resultado, los objetivos terapéuticos de PD-1 y otras moléculas que señalizan a través de interacciones con PD-1, tales como el ligando de muerte programada 1 (PD-L1) y el ligando de muerte programada 2 (PD-L2) son un área de interés intenso.

El PD-L1 está sobreexpresado en muchos cánceres y a menudo se lo asocia con un mal pronóstico (Okazaki T et al., *Intern. Immun.* 2007 19(7):813) (Thompson RH et al., *Cancer Res* 2006, 66(7):3381). En forma interesante, la mayor parte de los linfocitos T que se infiltran en los tumores predominantemente expresan PD-1, lo contrario a los linfocitos T en tejidos normales y linfocitos T sanguíneos periféricos que indican que la regulación por aumento de PD-1 en células T reactivas a tumores puede contribuir a respuestas inmunes anti-tumorales fallidas (Blood 2009 114(8):1537). Esto puede ser debido a la explotación de la señalización de PD-L1 mediada por PD-L1 que expresa células tumorales que interactúan con células T expresivas de PD-1 para dar lugar a una atenuación de la activación de células T y la evasión de la vigilancia inmune (Sharpe et al., *Nat Rev* 2002) (Keir ME et al., 2008 *Annu. Rev. Immunol.* 26:677). Por lo tanto, la inhibición de la interacción PD-L1/PD-1 puede potenciar la eliminación de tumores mediada por células T CD8+.

La inhibición de la señalización del eje PD-1 a través de sus ligandos directos (por ej., PD-L1, PD-L2) se ha propuesto como un medio para potenciar la inmunidad de las células T para el tratamiento del cáncer (por ej., inmunidad a tumores). Además, se han observado mejoras similares a la inmunidad a células T por medio de la inhibición de la unión de PD-L1 a la pareja de unión B7-1. Además, la combinación de la inhibición de la señalización de PD-1 con otras vías de señalización (por ej. la vía MAPK, "MEK") que están desreguladas en células tumorales puede además mejorar la eficacia del tratamiento. Sin embargo, un tratamiento terapéutico óptimo combinaría el bloqueo de la interacción receptor/ligando de PD-1 con un agente que inhiba directamente el crecimiento tumoral, y que en forma opcional incluya además propiedades inmunopotenciadoras únicas no proporcionadas por el bloqueo de PD-1 por sí solo. Aún existe una necesidad de una terapia óptima tal para tratar, estabilizar,

prevenir, y/o retrasar el desarrollo de varios cánceres.

Todas las referencias, publicaciones, y solicitudes de patente reveladas en la presente se incorporan como referencia en su totalidad en la presente.

Breve síntesis de la invención

La presente invención describe un tratamiento combinado que comprende un inhibidor de MEK (que tiene efectos dirigidos a tumores en forma directa y propiedades inmuno potenciadoras) y un antagonista de unión al eje PD-1.

Se proporcionan en la presente métodos para tratar el cáncer o demorar la progresión del cáncer en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad efectiva de un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK.

También se proporciona en la presente el uso de un antagonista de unión al eje PD-1 en la fabricación de un medicamento para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo en combinación con un inhibidor de MEK. También se proporciona en la presente el uso de un inhibidor de MEK en la fabricación de un medicamento para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo en combinación con un antagonista de unión al eje PD-1. También se proporciona en la presente el uso de un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK en la fabricación de medicamentos para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo. También se proporciona en la presente un proceso de fabricación de medicamentos para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo, caracterizado por el uso de un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK. También se proporciona en la presente un antagonista de unión al eje PD-1 para su uso en combinación con un inhibidor de MEK para tratar o retrasar la progresión del cáncer en el individuo. También se proporciona en la presente un inhibidor de MEK para su uso en combinación con un antagonista de unión al eje PD-1 para tratar o retrasar la progresión del cáncer en el individuo.

El cáncer tratado puede contener una mutación BRAF V600E, un BRAF de tipo salvaje, un KRAS de tipo salvaje, o una activación de mutación de KRAS. El cáncer puede ser un melanoma, un cáncer colorrectal, un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un cáncer de ovarios, un cáncer de mama, un cáncer de próstata, un cáncer pancreático, una malignidad hematológica o un carcinoma de células renales. El cáncer puede estar en una etapa temprana o en una etapa tardía. En algunas realizaciones, el individuo tratado es un humano.

En algunas realizaciones, el tratamiento da lugar una respuesta sostenida en el individuo después del cese del tratamiento. En algunas realizaciones, el tratamiento produce una respuesta completa, una respuesta parcial, o una

enfermedad estable en el individuo.

También se proporcionan en la presente métodos para potenciar la función inmune en un individuo que tiene cáncer que comprende administrar una cantidad efectiva de un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK. En algunas realizaciones, el individuo es un humano.

También se proporciona en la presente el uso de un antagonista de unión al eje PD-1 en la fabricación de un medicamento para potenciar la función inmune en un individuo que tiene cáncer en combinación con un inhibidor de MEK. También se proporciona en la presente el uso de un inhibidor de MEK en la fabricación de un medicamento para potenciar la función inmune en un individuo que tiene cáncer en combinación con un antagonista de unión al eje PD-1. También se proporciona en la presente el uso de un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK en la fabricación de medicamentos para potenciar la función inmune en el individuo que tiene cáncer. También se proporciona en la presente un proceso de fabricación de medicamentos para potenciar la función inmune en un individuo, caracterizado por el uso de un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK. También se proporciona en la presente un antagonista de unión al eje PD-1 para su uso en combinación con un inhibidor de MEK para potenciar la función inmune en el individuo que tiene cáncer. También se proporciona en la presente un inhibidor de MEK para su uso en combinación con un antagonista de unión al eje PD-1 para potenciar la función inmune en el individuo que tiene cáncer. En algunas realizaciones, el individuo es un humano.

En algunas realizaciones, el antagonista de unión al eje PD-1 es un antagonista de unión de PD-1, un antagonista de unión de PD-L1 o un antagonista de unión de PD-L2. En algunas realizaciones, el antagonista de unión de PD-1 inhibe la unión de PD-1 a PD-L1 y/o la unión de PD-1 a PD-L2. En algunas realizaciones, el antagonista de unión de PD-1 es un anticuerpo (por ej., los anticuerpos MDX-1106, CT-011 y Merck 3745 descritos en la presente), un fragmento de unión a antígeno del mismo, una inmunoadhesina, una proteína de fusión, o un oligopéptido. En algunas realizaciones, el antagonista de unión de PD-1 es una inmunoadhesina que comprende un dominio extracelular de PD-L2 fusionado a un dominio Fc (por ej., AMP-224 descrito en la presente). En algunas realizaciones, el antagonista de unión de PD-L1 inhibe la unión de PD-L1 a PD-1 y/o la unión de PD-L1 a B7-1. En algunas realizaciones, el antagonista de unión de PD-L1 es un anticuerpo (por ej., los anticuerpos YW243.55.S70, MPDL3280A y MDX-1105 descritos en la presente), un fragmento de unión a antígeno del

mismo, una inmunoadhesina, una proteína de fusión, o un oligopéptido. En algunas realizaciones, el antagonista de unión de PD-L2 inhibe la unión de PD-L2 a PD-1. En algunas realizaciones, el antagonista de unión de PD-L2 es un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo, una inmunoadhesina, una proteína de fusión, o un oligopéptido.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es un compuesto de la fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI) de acuerdo con lo descrito en la presente a continuación, o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es un inhibidor competitivo de MEK. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es más selectivo contra activación de mutación de KRAS. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es un inhibidor alostérico de MEK. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es más selectivo contra una activación de mutación de BRAF. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK se selecciona del grupo que consiste en G02442104, G-38963, G02443714, G00039805 y GDC-0973, o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK se administra en forma continua o intermitente. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK se administra antes que la administración del antagonista de unión al eje PD-1, en forma simultánea con la administración del antagonista de unión al eje PD-1, o después de la administración del antagonista de unión al eje PD-1. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK y el antagonista de unión al eje PD-1 se administran con diferente frecuencia de dosificación.

En otro aspecto, se proporciona un kit que comprende un antagonista de unión al eje PD-1 y/o un inhibidor de MEK para tratar o retrasar la progresión de un cáncer en un individuo o para potenciar la función inmune en un individuo que tiene cáncer. El kit puede comprender un antagonista de unión al eje PD-1 y un prospecto de empaque que comprende instrucciones para utilizar el antagonista de unión al eje PD-1 en combinación con un inhibidor de MEK para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo, o para potenciar la función inmune en un individuo que tiene cáncer. El kit puede comprender un inhibidor de MEK y un prospecto de empaque que comprende instrucciones para utilizar el inhibidor de MEK en combinación con un antagonista de unión al eje PD-1 para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo, o para potenciar la función inmune en un individuo que tiene cáncer. El kit puede comprender un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK, y un prospecto de

empaquete que comprende instrucciones para utilizar el antagonista de unión al eje PD-1 y el inhibidor de MEK para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo, o para potenciar la función inmune en un individuo que tiene cáncer.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra una expresión superficial de MHC I potenciada sobre líneas celulares tumorales de melanoma y colorrectales tras el tratamiento con inhibidor de MEK. (A) Histograma que muestra una expresión de MHC I potenciada en la superficie de líneas celulares tumorales humanas tratadas con inhibidor de MEK. (B) Histograma que muestra una expresión de MHC I potenciada en la superficie de líneas celulares tumorales de ratón tratadas con inhibidor de MEK.

La Figura 2 es un histograma que muestra que el tratamiento de líneas celulares de melanoma humano (5/8 de las líneas celulares era mutantes BRAF; las células de tipo salvaje de BRAF están indicadas con un asterisco) con inhibidor de BRAF no regula por aumento la expresión superficial de MHC I.

La Figura 3 muestra que el tratamiento de células mononucleares de sangre periféricas humanas con inhibidor de MEK no regula por aumento la expresión superficial de MHC I. (A-D) Histograma que muestra una expresión superficial de MHC I inalterada en células T CD4+, células T CD8+, células B, o monocitos tras el tratamiento con un inhibidor de MEK.

La Figura 4 demuestra que las señales coestimuladoras hacen sensibles a las células T a pesar del tratamiento con un inhibidor de MEK. (A) Gráfico de niveles de células T CD8+ que muestra que el tratamiento con un inhibidor de MEK redujo la proliferación y activación de células T que normalmente se induce por estimulación de CD3. (B) Gráfico de células T CD8+ que muestra que la coestimulación de CD3 y CD28 fue suficiente para superar el efecto inhibitor del tratamiento con un inhibidor de MEK.

La Figura 5 muestra que el tratamiento con un inhibidor de MEK potenció la maduración y activación de células dendríticas estimuladas con anticuerpos anti-CD40. (A-C) Histograma que muestra las células dendríticas estimuladas con anticuerpos anti-CD40 y tratadas con inhibidor de MEK o BRAF. El inhibidor de MEK potenció la activación DC de acuerdo con lo evidenciado por la regulación por aumento de los marcadores de activación de superficie DC CD83, MHC II y CD86. (D-F) Gráficos de niveles de células dendríticas activadas que demuestra que el inhibidor de MEK potenció la activación DC en una manera dependiente de dosis.

La Figura 6 es un gráfico que muestra niveles de suero reducidos de citoquinas inmunosupresivas y pro-tumorales en modelos de cáncer *in vivo*. (A y C) La citoquina inmunosupresiva IL-10 disminuyó 7 días después del co-tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 e inhibidor de MEK en comparación con el tratamiento con anti-PD-L1 o el tratamiento con un inhibidor de MEK solos. (B y D) La quimioquina pro-tumoral KC disminuyó tras el co-tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 e inhibidor de MEK en comparación con el tratamiento con anti-PD-L1 o el tratamiento con un inhibidor de MEK solos.

La Figura 7 demuestra que el tratamiento con un inhibidor de MEK potenció la actividad anti-tumoral de anticuerpos anti-PD-L1 en modelos *in vivo* de cáncer colorrectal. (A) El gráfico que representa los cambios en el volumen tumoral con el co-tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 e inhibidor de MEK demuestra una reducción significativa del crecimiento tumoral en la etapa temprana y un efecto anti-tumor sostenido en comparación con el tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 o con un inhibidor de MEK solos. (B) El gráfico que representa los cambios en el volumen tumoral con el co-tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 e inhibidor de MEK demuestra una inhibición significativa del crecimiento tumoral en la etapa tardía en comparación con el tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 o con un inhibidor de MEK solos.

La Figura 8 es una serie de gráficos que demuestra que las dosis de inhibidor de MEK fueron más efectivas cuando se utilizaron en combinación con anticuerpo anti-PD-L1 para el tratamiento de modelos *in vivo* de cáncer colorrectal. (A) Gráfico que representa la reducción en el volumen tumoral con dosis aumentadas de tratamiento con inhibidor de MEK GDC-0973. (B) Gráfico que representa la reducción en el volumen tumoral tras la administración de anticuerpo anti-PD-L1 en combinación con diferentes dosis de inhibidor de MEK GDC-0973. Mpk indica miligramos por kilogramo (mg/kg).

La Figura 9 es un gráfico que demuestra que el tratamiento con inhibidor de MEK G02443714 potenció la actividad anti-tumoral de anticuerpos anti-PD-L1 en modelos *in vivo* de cáncer colorrectal. Se observó una reducción aumentada en el volumen tumoral con un tratamiento combinado de anticuerpo anti-PD-L1 e inhibidor de MEK en comparación con el tratamiento con anticuerpo anti-PD-L1 o inhibidor de MEK G02443714 solo.

La Figura 10 es un gráfico que demuestra que el tratamiento con inhibidor de MEK G02442104 potenció la actividad anti-tumoral de anticuerpos anti-PD-L1 en modelos *in vivo* de cáncer colorrectal. Se observó una reducción aumentada en

el volumen tumoral con un tratamiento combinado de anticuerpo anti-PD-L1 e inhibidor de MEK en comparación con el tratamiento con anticuerpo anti-PD-L1 o inhibidor de MEK G02442104 solo.

La Figura 11 es un gráfico que demuestra que el tratamiento con inhibidor de MEK G00039805 potenció la actividad anti-tumoral de anticuerpos anti-PD-L1 en modelos *in vivo* de cáncer colorrectal. Se observó una reducción aumentada en el volumen tumoral con un tratamiento combinado de anticuerpo anti-PD-L1 e inhibidor de MEK en comparación con el tratamiento con anticuerpo anti-PD-L1 o inhibidor de MEK G00039805 solo.

La Figura 12 demuestra que el tratamiento con un inhibidor de MEK potenció la actividad anti-tumoral de anticuerpos anti-PD-L1 en modelos de melanoma *in vivo*. (A y B) El gráfico que representa los cambios en el volumen tumoral con el co-tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 e inhibidor de MEK demuestra redujo en forma significativa crecimiento tumoral en comparación con anticuerpos anti-PD-L1 o el tratamiento con un inhibidor de MEK solo.

La Figura 13 es un gráfico que demuestra que el co-tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 y un agente quimioterapéutico Temodar no redujo el crecimiento tumoral en un modelo de melanoma *in vivo*. Por lo tanto, el efecto anti-tumoral del inhibidor de MEK y los anticuerpos anti-PD-L1 es específico.

La Figura 14 es un gráfico que demuestra que el co-tratamiento con anticuerpos anti-OX40 y un inhibidor de MEK no redujo el crecimiento tumoral en un modelo colorrectal *in vivo*. Por lo tanto, el efecto anti-tumoral del inhibidor de MEK y los anticuerpos anti-PD-L1 es específico.

La Figura 15 contiene varios gráficos que muestran que el inhibidor de MEK aumentó la activación de células dendríticas independientemente del tratamiento con anticuerpo anti-PD-L1. (A) Gráfico que demuestra que el tratamiento con anticuerpo anti-PD-L1 aumentó ligeramente la expresión superficial de MHC I. El tratamiento con un inhibidor de MEK potenció significativamente la expresión MHCI, sin embargo el co-tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 no potenció el efecto del tratamiento con un inhibidor de MEK. (B-D) Gráficos que demuestran que el tratamiento con anticuerpo anti-PD-L1 no aumentó la expresión de marcadores de activación de células dendríticas MHC II, CD80, y CD86. En contraste, el tratamiento con un inhibidor de MEK potenció significativamente la expresión de marcadores de activación de células dendríticas. El co-tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 no potenció el efecto del tratamiento con un inhibidor de MEK. (E-H) Gráficos que demuestran que la

estimulación de células dendríticas con anticuerpos anti-CD40 no alteró el efecto del co-tratamiento con inhibidor de MEK y anti-PD-L1 sobre la activación de células dendríticas.

Descripción detallada de la invención

I. Técnicas generales

Las técnicas y procedimientos descriptos o referenciados en la presente por lo general son bien comprendidos y se emplean comúnmente por el uso de metodología convencional por aquellos con experiencia en la técnica, tales como, por ejemplo, las metodologías ampliamente utilizadas se describen en Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3ra edición (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel, et al. eds., (2003)); las series *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc.): *PCR 2: A Practical Approach* (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, y *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney, ed. (1987)); *Oligonucleotide Synthesis* (M.J. Gait, ed., 1984); *Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Cell Biology: A Laboratory Notebook* (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney), ed., 1987); *Introduction to Cell and Tissue Culture* (J.P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures* (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; *Handbook of Experimental Immunology* (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.); *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987); *PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis et al., eds., 1994); *Current Protocols in Immunology* (J.E. Coligan et al., eds., 1991); *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley and Sons, 1999); *Immunobiology* (C.A. Janeway and P. Travers, 1997); *Antibodies* (P. Finch, 1997); *Antibodies: A Practical Approach* (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); *Monoclonal Antibodies: A Practical Approach* (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); *Using Antibodies: A Laboratory Manual* (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); *The Antibodies* (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); y *Cancer: Principles and Practice of Oncology* (V.T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993).

II. Definiciones

El término “*antagonista de unión al eje PD-1*” es una molécula que inhibe la

interacción de una pareja de unión al eje PD-1 ya sea con una o más de sus parejas de unión, de manera tal que elimine la disfunción de células T que resulta de la señalización en el eje de señalización PD-1– siendo su resultado restaurar o potenciar la función de células T (*por ej.*, proliferación, producción de citoquinas, eliminación de células blanco). De acuerdo con lo utilizado en la presente, un antagonista de unión al eje PD-1 incluye un antagonista de unión de PD-1, un antagonista de unión de PD-L1 y un antagonista de unión de PD-L2.

El término “*antagonista de unión a PD-1s*” es una molécula que disminuye, bloquea, inhibe, anula o interfiere con la transducción de señales que resulta de la interacción entre PD-1 y una o más de sus parejas de unión, tal como PD-L1, PD-L2. En algunas realizaciones, el antagonista de unión de PD-1 es una molécula que inhibe la unión de PD-1 a sus parejas de unión. En un aspecto específico, el antagonista de unión de PD-1 inhibe la unión de PD-1 a PD-L1 y/o PD-L2. Por ejemplo, los antagonistas de unión a PD-1 incluyen anticuerpos anti-PD-1, fragmentos de unión a antígeno del mismo, inmunoadhesinas, proteínas de fusión, oligopéptidos y otras moléculas que disminuyen, bloquean, inhiben, anulan o interfieren con la transducción de señales que resulta de la interacción entre PD-1 y PD-L1 y/o PD-L2. En una realización, un antagonista de unión de PD-1 reduce la señal coestimuladora negativa mediada por o a través de las proteínas de la superficie celular expresadas en la señalización mediada por linfocitos T a través de PD-1 de manera tal que provoca que una célula T disfuncional sea no disfuncional (*por ej.*, potenciando las respuestas efectoras para el reconocimiento de antígenos). En algunas realizaciones, el antagonista de unión de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1. En un aspecto específico, un antagonista de unión de PD-1 es MDX-1106 descrito en la presente. En otro aspecto específico, un antagonista de unión de PD-1 es Merck 3745 descrito en la presente. En otro aspecto específico, un antagonista de unión de PD-1 es CT-011 descrito en la presente.

El término “*antagonistas de unión a PD-L1*” es una molécula que disminuye, bloquea, inhibe, anula o interfiere con la transducción de señales que resulta de la interacción entre PD-L1 y ya sea una o más de sus parejas de unión, tales como PD-1, B7-1. En algunas realizaciones, un antagonista de unión de PD-L1 es una molécula que inhibe la unión de PD-L1 a sus parejas de unión. En un aspecto específico, el antagonista de unión de PD-L1 inhibe la unión de PD-L1 a PD-1 y/o B7-1. En algunas realizaciones, los antagonistas de unión de PD-L1 incluyen anticuerpos anti-PD-L1, fragmentos de unión a antígeno de los mismos, inmunoadhesinas, proteínas de fusión, oligopéptidos y otras moléculas que

disminuyen, bloquean, inhiben, anulan o interfieren con la transducción de señales que resulta de la interacción entre PD-L1 y una o más de sus parejas de unión, tales como PD-1, B7-1. En una realización, un antagonista de unión de PD-L1 reduce la señal coestimuladora negativa mediada por o a través de las proteínas de la superficie celular expresadas en la señalización mediada por linfocitos T a través de PD-L1 de manera tal que una célula T disfuncional sea menos disfuncional (*por ej.*, potenciando las respuestas efectoras para el reconocimiento de antígenos). En algunas realizaciones, un antagonista de unión de PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1. En un aspecto específico, un anticuerpo anti-PD-L1 es YW243.55.S70 descrito en la presente. En otro aspecto específico, un anticuerpo anti-PD-L1 es MDX-1105 descrito en la presente. Incluso en otro aspecto específico, un anticuerpo anti-PD-L1 es MPDL3280A descrito en la presente.

El término “*antagonistas de unión a PD-L2*” es una molécula que disminuye, bloquea, inhibe, anula o interfiere con la transducción de señales que resulta de la interacción entre PD-L2 y ya sea una o más de sus parejas de unión, tales como PD-1. En algunas realizaciones, un antagonista de unión de PD-L2 es una molécula que inhibe la unión de PD-L2 a sus parejas de unión. En un aspecto específico, el antagonista de unión de PD-L2 inhibe la unión de PD-L2 a PD-1. En algunas realizaciones, los antagonistas de PD-L2 incluyen anticuerpos anti-PD-L2, fragmentos de unión a antígeno de los mismos, inmunoadhesinas, proteínas de fusión, oligopéptidos y otras moléculas que disminuyen, bloquean, inhiben, anulan o interfieren con la transducción de señales que resulta de la interacción entre PD-L2 y ya sea una o más de sus parejas de unión, tales como PD-1. En una realización, un antagonista de unión de PD-L2 reduce la señal coestimuladora negativa mediada por o a través de las proteínas de la superficie celular expresadas en la señalización mediada por linfocitos T a través de PD-L2 de manera tal que provoca que una célula T disfuncional sea menos disfuncional (*por ej.*, potenciando las respuestas efectoras para el reconocimiento de antígenos). En algunas realizaciones, un antagonista de unión de PD-L2 es una inmunoadhesina.

El término “*disfunción*” en el contexto de disfunción inmune, se refiere a un estado de sensibilidad inmune reducida a la estimulación antigénica. El término incluye los elementos comunes tanto de *agotamiento* y/o *anergia* en los que puede suceder el reconocimiento de antígenos, pero la respuesta inmune subsiguiente es inefectiva para controlar una infección o crecimiento tumoral.

El término “*disfuncional*”, de acuerdo con lo utilizado en la presente, también incluye refractorio o insensible al reconocimiento de antígenos, en forma

específica, una capacidad disminuida para traducir el reconocimiento de antígenos en funciones efectoras de células T corriente abajo, tales como la proliferación, la producción de citoquinas (por ej., IL-2) y/o la eliminación de células blanco.

El término “*anergia*” se refiere al estado de insensibilidad ante una estimulación con antígeno que resulta de señales incompletas o insuficientes administradas a través del receptor de células T (*por ej.*, aumento de Ca^{+2} intracelular en la ausencia de ras-activación). La anergia de células T también puede resultar de la estimulación con antígeno en la ausencia de coestimulación, lo que da lugar a que la célula se vuelva refractoria a la activación posterior por el antígeno incluso en el contexto de coestimulación. El estado de insensibilidad a menudo se puede superar por la presencia de Interleuquina-2. Las células T anérgicas no se someten a una expansión clonal y/o no adquieren funciones efectoras.

El término, “*agotamiento*” se refiere al agotamiento de células T como un estado de disfunción de células que surge de una señalización de TCR sostenida que sucede durante varias infecciones crónicas y cáncer. Se distingue de la anergia en que no surge a través de una señalización incompleta o deficiente, sino de una señalización sostenida. Se define por una función efectora escasa, una expresión sostenida de receptores inhibidores y un estado transcripcional distinto del de las células T efectoras funcionales o de memoria. El agotamiento previene el control óptimo de infecciones y tumores. El agotamiento puede resultar tanto de vías regulatorias negativas extrínsecas (por ej., citoquinas inmunoregulatoras) así como también vías regulatorias negativas intrínsecas celulares (coestimuladoras) (PD-1, B7-H3, B7-H4, etc.).

“*Potenciar la función de células T*” significa inducir, provocar o estimular que una célula T tenga una función biológica sostenida o amplificada, o renovar o reactivar células T agotadas o inactivas. Los ejemplos de potenciación de la función de células T incluyen: secreción aumentada de $\gamma\gamma$ interferón a partir de células T CD8^{+} , proliferación aumentada, sensibilidad a antígenos aumentada (*por ej.*, la supresión viral, patógena, o tumoral) con relación a los niveles antes de la intervención. En una realización, el nivel de potenciación es de al menos 50%, en forma alternativa 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 120%, 150%, 200%. La manera para medir esta potenciación es conocida para aquellos con experiencia ordinaria en la técnica.

Un “*trastorno disfuncional de células T*” es un trastorno o afección de células T caracterizado por una sensibilidad disminuida a la estimulación

antigénica. En una realización particular, un trastorno disfuncional de células T es un trastorno que está asociado en forma específica con una señalización aumentada inapropiada a través de PD-1. En otra realización, un trastorno disfuncional de células T es aquel en el que las células T son anérgicas o tienen una capacidad disminuida para secretar citoquinas, proliferar, o ejecutar actividad citolítica. En un aspecto específico, la sensibilidad disminuida da lugar a un control inefectivo de un patógeno o tumor que expresa un inmunógeno. Los ejemplos de trastornos disfuncionales de células T caracterizados por una disfunción de células T incluyen una infección aguda no resuelta, una infección crónica e inmunidad tumoral.

“Inmunidad tumoral” se refiere al proceso en el que los tumores evaden el reconocimiento y la supresión inmune. Por lo tanto, como un concepto terapéutico, la inmunidad tumoral se “trata” cuando se atenúa tal evasión, y los tumores son reconocidos y atacados por el sistema inmune. Los ejemplos de reconocimiento tumoral incluyen la unión tumoral, el encogimiento tumoral y supresión tumoral.

“Inmunogenicidad” se refiere a la capacidad de una sustancia particular de provocar una respuesta inmune. Los tumores son inmunogénicos y la potenciación de la inmunogenicidad tumoral ayuda en la supresión de las células tumorales por medio de la respuesta inmune. Los ejemplos de potenciación de la inmunogenicidad tumoral incluyen el tratamiento con anticuerpos anti-PDL y un inhibidor de MEK.

“Respuesta sostenida” se refiere al efecto sostenido sobre la reducción del crecimiento tumoral después del cese de un tratamiento. Por ejemplo, el tamaño del tumor puede permanecer igual o más pequeño en comparación con el tamaño al *comienzo* de la fase de administración. En algunas realizaciones, la respuesta sostenida tiene una duración al menos igual a la duración del tratamiento, al menos 1,5X, 2,0X, 2,5X, o 3,0X de longitud de la duración del tratamiento.

El término *“anticuerpo”* incluye anticuerpos monoclonales (que incluyen anticuerpos de longitud completa que tienen una región Fc de inmunoglobulinas), composiciones de anticuerpo con especificidad poliepitópica, anticuerpos multiespecíficos (*por ej.*, anticuerpos biespecíficos, diacuerpos, y moléculas de cadena simple/única, así como también fragmentos de anticuerpos (*por ej.*, Fab, F(ab')₂, y Fv). El término *“inmunoglobulina”* (Ig) se utiliza en forma intercambiable con *“anticuerpo”* en la presente.

La unidad de anticuerpo básica de 4 cadenas es una glicoproteína heterotetramérica compuesta por dos cadenas ligeras (L) idénticas y dos cadenas

pesadas (H) idénticas. Un anticuerpo IgM consiste en 5 de las unidades heterotetraméricas básicas junto con un polipéptido adicional llamado cadena J, y contiene 10 sitios de unión a antígenos, mientras que los anticuerpos IgA comprenden de 2 a 5 de las unidades básicas de 4 cadenas que puede polimerizarse para formar ensamblajes polivalentes en combinación con la cadena J. En el caso de IgG, la unidad de 4 cadenas por lo general es de aproximadamente 150.000 daltons. Cada cadena L está unida a una cadena H por medio de un enlace de disulfuro covalente, mientras que las dos cadenas H están unidas entre sí por medio de uno o más enlaces de disulfuro dependiendo del isotipo de la cadena H. Cada cadena H y L también tiene puentes de disulfuro intracatenarios regularmente distanciados. Cada cadena H tiene un dominio variable (V_H) en el extremo N seguido de tres dominios constantes (C_H) para cada una de las cadenas κ y λ y cuatro dominios C_H para los isotipo μ y δ . Cada cadena L tiene un dominio variable (V_L) en el extremo N seguido de un dominio constante en su otro extremo. El V_L está alineado con el V_H y el C_L está alineado con el primer dominio constante de la cadena pesada (C_{H1}). Se cree que los residuos de aminoácido particulares forman una interfaz entre los dominios variables de cadena ligera y cadena pesada. El apareamiento de un V_H y un V_L forma un único sitio de unión a antígeno. Para la estructura y propiedades de las diferentes clases de anticuerpos, véase *por ej.*, *Basic and Clinical Immunology*, 8va Edición, Daniel P. Sties, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, página 71 y Capítulo 6. La cadena L de cualquier especie vertebrada se puede asignar a uno de dos tipos claramente distintos, llamados kappa y lambda, con base en las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes. Dependiendo de la secuencia de aminoácido del dominio constante de sus cadenas pesadas (C_H), las inmunoglobulinas se pueden asignar a diferentes clases o isotipos. Existen cinco clases de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, que tienen cadenas pesadas designadas μ , δ , ϵ , γ y α respectivamente. Las clases μ y γ están divididas en forma adicional en subclases con base a diferencias relativamente menores en la secuencia y función C_H , *por ej.*, las humanas expresan las siguientes subclases: IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2.

La “*región variable*” o “*dominio variable*” de un anticuerpo se refiere a los dominios de extremo amino de la cadena pesada o ligera del anticuerpo. Los dominios variables de la cadena pesada y la cadena ligera se pueden denominar “ V_H ” y “ V_L ”, respectivamente. Estos dominios por lo general son las partes más

variables del anticuerpo (con relación a otros anticuerpos de la misma clase) y contienen los sitios de unión a antígenos.

El término "*variable*" se refiere al hecho de que ciertos segmentos de los dominios variables difieren en forma extensiva en cuanto a la secuencia entre los anticuerpos. El dominio V media la unión a antígenos y define la especificidad de un anticuerpo particular para su antígeno particular. Sin embargo, la variabilidad no está distribuida en forma uniforme a lo largo del intervalo completo de los dominios variables. En cambio, está concentrada en tres segmentos llamados regiones hipervariables (HVR) tanto en los dominios variables de cadena ligera como en los de cadena pesada. Las porciones de dominios variables mejor conservadas se denominan regiones estructurales (FR). Cada uno de los dominios variables de cadenas pesadas y ligeras comprende cuatro regiones FR, que en gran parte adoptan una configuración de hoja beta, conectadas por tres HVR, que forman bucles que conectan, y en algunos casos forman parte de la estructura de hoja beta. Las HVR en cada cadena se mantienen juntas en cercana proximidad por medio de las regiones FR y, con la HVR de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión a antígenos de anticuerpos (véase Kabat *et al.*, *Sequences of Immunological Interest*, Quinta Edición, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Los dominios constantes no están implicados directamente en la unión de un anticuerpo a un antígeno, pero exhiben varias funciones efectoras, tales como la participación del anticuerpo en la toxicidad celular dependiente de anticuerpos.

El término "*anticuerpo monoclonal*" de acuerdo con lo utilizado en la presente se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es *decir*, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto por las posibles mutaciones y/o modificaciones post-traslación que se presentan en forma natural (*por ej.*, isomerizaciones, amidaciones) que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, dirigiéndose contra un sitio antigénico único. Por el contrario a las preparaciones de anticuerpos policlonales que en forma típica incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítomos), cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un determinante único en el antígeno. En adición a su especificidad, los anticuerpos monoclonales son ventajosos en que están sintetizados por el cultivo de hibridomas, sin contaminarse por otras inmunoglobulinas. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo

como obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, y no debe interpretarse que requiere la producción del anticuerpo por medio de ningún método particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales a utilizarse de acuerdo con la presente invención se pueden fabricar por medio de una variedad de técnicas, que incluyen, por ejemplo, el método hibridoma (*por ej.*, Kohler and Milstein., *Nature*, 256:495-97 (1975); Hongo *et al.*, *Hybridoma*, 14 (3): 253-260 (1995), Harlow *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2^{da} ed. 1988); Hammerling *et al.*, en: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)), métodos de ADN recombinante (véase, *por ej.*, la Patente de los Estados Unidos Núm. 4.816.567), tecnologías de despliegue en fagos (véase, *por ej.*, Clackson *et al.*, *Nature*, 352: 624-628 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Sidhu *et al.*, *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee *et al.*, *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); y Lee *et al.*, *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132 (2004), y tecnologías para producir anticuerpos humanos o similares a humanos en animales que tienen partes o todos los loci o genes de inmunoglobulinas humanas que codifican secuencias de inmunoglobulinas humanas (véase, *por ej.*, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 2551 (1993); Jakobovits *et al.*, *Nature* 362: 255-258 (1993); Bruggemann *et al.*, *Year in Immunol.* 7:33 (1993); las Patentes de los Estados Unidos Núms. 5.545.807; 5.545.806; 5.569.825; 5.625.126; 5.633.425; y 5.661.016; Marks *et al.*, *Bio/Technology* 10: 779-783 (1992); Lonberg *et al.*, *Nature* 368: 856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368: 812-813 (1994); Fishwild *et al.*, *Nature Biotechnol.* 14: 845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14: 826 (1996); y Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13: 65-93 (1995).

El término “*anticuerpo desnudo*” se refiere a un anticuerpo que no está conjugado a un resto o radioetiqueta citotóxica.

Los términos “*anticuerpo de longitud completa*,” “*anticuerpo intacto*” o “*anticuerpo entero*” se utilizan en forma intercambiable para referirse a un anticuerpo en su forma sustancialmente intacta, en oposición a un fragmento de anticuerpo. Los anticuerpos específicamente enteros incluyen aquellos con cadenas pesadas y ligeras que incluyen una región Fc. Los dominios constantes pueden ser dominios constantes de secuencia nativa (*por ej.*, dominios constantes de secuencia nativa humana) o variantes de secuencia de aminoácido de los mismos. En algunos casos, el anticuerpo intacto puede tener una o más funciones

efectoras.

Un “*fragmento de anticuerpo*” comprende una porción de un anticuerpo intacto, con preferencia la región de unión a antígenos y/o variable del anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales (véase la Patente de los Estados Unidos 5.641.870, Ejemplo 2; Zapata *et al.*, *Protein Eng.* 8(10): 1057-1062 [1995]); moléculas de anticuerpo de cadena única y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos. La digestión de papaína de anticuerpos produjo dos fragmentos de unión a antígeno idénticos, denominados fragmentos "Fab", y un fragmento residual "Fc", una designación que refleja la capacidad de cristalizarse con facilidad. El fragmento Fab consiste en una cadena L completa junto con el dominio de región variable de la cadena H (V_H), y el primer dominio constante de una cadena pesada (C_H1). Cada fragmento Fab es monovalente con respecto a la unión a antígenos, es *decir*, tiene un único sitio de unión a antígenos. El tratamiento de pepsinas de un anticuerpo produce un único fragmento F(ab')₂ extenso que aproximadamente corresponde a dos fragmentos Fab unidos por disulfuro que tienen diferente actividad unión a antígenos y aún son capaces de reticular antígenos. Los fragmentos Fab' difieren de los fragmentos Fab en que tienen algunos residuos adicionales en el extremo carboxi del dominio C_H1 que incluyen uno o más cisteínas de la región de articulación del anticuerpo. Fab'-SH es la designación en la presente para Fab' en la que el/los residuo(s) de cisteína de los dominios constantes portan un grupo tiol libre. Los fragmentos de anticuerpos F(ab')₂ originalmente se producían como pares de fragmentos Fab' que tenían cisteínas de articulación entre ellos. También son conocidos otros acoplamientos químicos de fragmentos de anticuerpos.

El fragmento Fc comprende las porciones del extremo terminal de carboxi de ambas cadenas H que se mantienen juntas por medio de disulfuros. Las funciones efectoras de anticuerpos están determinadas por secuenciass en la región Fc, la región que también es reconocida por receptores Fc (FcR) hallados en ciertos tipos de células.

“Fv” es el fragmento de anticuerpo mínimo que contiene un sitio completo de reconocimiento y unión a antígeno. Este fragmento consiste en un dímero de un dominio de región variable de cadena pesada y uno de cadena ligera en asociación firme y no covalente. Al plegar estos dos dominios emanan seis bucles hipervariables (3 bucles de cada cadena H y L) que contribuyen con los residuos de aminoácido para la unión a antígenos y confieren una especificidad de unión a

antígenos al anticuerpo. Sin embargo, incluso un único dominio variable (o la mitad de un Fv que comprende únicamente tres HVR específicas para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unir antígenos, si bien con una menor afinidad que el sitio de unión completo.

Los “*Fv de cadena única*” también abreviado como “*sFv*” o “*scFv*” son fragmentos de anticuerpos que comprenden los dominios de anticuerpos de V_H y V_L conectados a una única cadena de polipéptidos. Con preferencia, el polipéptido sFv además comprende un vinculador de polipéptido entre los dominios de V_H y V_L que permite que sFv forme la estructura deseada para la unión a antígenos. Para una revisión sobre el sFv, véase Pluckthun en *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

Los “*Fragmentos funcionales*” de los anticuerpos de la invención comprenden una porción de un anticuerpo intacto, por lo general que incluye la unión a antígenos o región variable del anticuerpo intacto o la región Fc de un anticuerpo que retiene o tiene una capacidad de unión a FcR modificada. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpos de cadena única y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos.

El término “*diacuerpos*” se refiere a fragmentos de anticuerpos pequeños preparados por medio de la construcción de fragmentos sFv (véase el párrafo anterior) con vinculadores cortos (aproximadamente de 5 a 10 residuos) entre los dominios V_H y V_L de manera tal que se logra el apareamiento intercatenario pero no intracatenario de los dominios V, lo que de ese modo da lugar a un fragmento bivalente, es *decir*, un fragmento que tiene dos sitios de unión a antígeno. Los diacuerpos biespecíficos son heterodímeros de dos fragmentos sFv “cruzados” en los que los dominios V_H y V_L de los dos anticuerpos están presentes en diferentes cadenas de polipéptido. Los diacuerpos se describen en mayor detalle en, por ejemplo, EP 404,097; WO 93/11161; Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993).

Los anticuerpos monoclonales en la presente en forma específica incluyen anticuerpos “*quiméricos*” (inmunoglobulinas) en los que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o pertenecientes a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de las cadenas son idénticas u homólogas a las secuencias correspondientes en anticuerpos

derivados de otra especie particular o pertenecientes a otra clase o subclase de anticuerpo, así como también fragmentos de tales anticuerpos, siempre y cuando exhiban la actividad biológica deseada (la Patente de los Estados Unidos Núm. 4.816.567; Morrison *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)). Los anticuerpos quiméricos de interés en la presente incluyen anticuerpos PRIMATIZED® donde la región de unión a antígenos del anticuerpo está derivada de un anticuerpo producido por medio de, *por ej.*, la inmunización de monos macacos con un antígeno de interés. De acuerdo con lo utilizado en la presente, “anticuerpo humanizado” se utiliza como un subconjunto de “anticuerpos quiméricos.”

Las formas "*humanizadas*" de anticuerpos no humanos (*por ej.*, murinos) son anticuerpos quiméricos que contienen una secuencia mínima derivada de una inmunoglobulina no humana. En una realización, un anticuerpo humanizado es una inmunoglobulina humana (anticuerpo receptor) en la que los residuos de una HVR (definida a continuación) del receptor están reemplazados por residuos de una HVR de una especie no humana (anticuerpo donante) tal como ratón, rata, conejo o primate no humano que tiene la especificidad, afinidad y/o capacidad deseadas. En algunas instancias, los residuos estructurales ("FR") de la inmunoglobulina humana están reemplazados por los residuos no humanos correspondientes. Además, los anticuerpos humanizados pueden comprender residuos que no se encuentran ni en el anticuerpo receptor ni en el anticuerpo donador. Estas modificaciones se pueden aplicar para refinar en forma adicional el rendimiento del anticuerpo, tal como la afinidad de unión. En general, un anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente todos o al menos uno, y en forma típica dos dominios variables, en los que todos o sustancialmente todos los bucles hipervariables corresponden a aquellos de una secuencia de inmunoglobulina no humana, y todas o sustancialmente todas las regiones FR son aquellas de una secuencia de inmunoglobulina humana, si bien las regiones de FR pueden incluir una o más sustituciones de residuos FR individuales que mejoran el rendimiento del anticuerpo, tal como la afinidad de unión, la isomerización, la inmunogenicidad, *etc.* El número de estas sustituciones de aminoácido en el FR en forma típica no es mayor que 6 en la cadena H, y en la cadena L, no es mayor que 3. El anticuerpo humanizado en forma opcional también comprenderá al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina (Fc), en forma típica la de una inmunoglobulina humana. Para detalles adicionales, véase, *por ej.*, Jones *et al.*, *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-329

(1988); y Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992). Véase también, por ejemplo, Vaswani and Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1:105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995); Hurle and Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5:428-433 (1994); y las Patentes de los Estados Unidos Núms. 6.982.321 y 7.087.409.

Un “*anticuerpo humano*” es un anticuerpo que posee una secuencia de aminoácido que corresponde a la de un anticuerpo producido por un humano y/o se ha producido por el uso de cualquiera de las técnicas para producir anticuerpos humanos de acuerdo con lo revelado en la presente. Esta definición de un anticuerpo humano excluye en forma específica un anticuerpo humanizado que comprende residuos de unión a antígeno no humanos. Los anticuerpos humanos se pueden producir por el uso de varias técnicas conocidas en la técnica, que incluyen las librerías de despliegue en fagos. Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991). También están disponibles para la preparación de anticuerpos monoclonales humanos los métodos que se describen en Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner *et al.*, *J. Immunol.*, 147(1):86-95 (1991). Véase también van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 5: 368-74 (2001). Los anticuerpos humanos se pueden preparar por medio de la administración del antígeno a un animal transgénico que ha sido modificado para producir tales anticuerpos en respuesta a un desafío antigénico, pero cuyos loci endógenos han sido deshabilitados, *por ej.*, xenoratonos inmunizados (véase, *por ej.*, las Patentes de los Estados Unidos Núms. 6.075.181 y 6.150.584 con respecto a la tecnología XENOMOUSE™). Véase también, por ejemplo, Li *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006) con respecto a los anticuerpos humanos generados a través de una tecnología de hibridomas de células B humanas.

El término “*región hipervariable*,” “*HVR*,” o “*HV*,” cuando se utiliza en la presente se refiere a las regiones de un dominio variable de anticuerpo que son hipervariables en secuencia y/o forman bucles estructuralmente definidos. Por lo general, los anticuerpos comprenden seis HVR; tres en la VH (H1, H2, H3), y tres en la VL (L1, L2, L3). En anticuerpos nativos, las H3 y L3 exhiben la mayor diversidad de las seis HVR, y se cree que H3 en particular juega un rol único al conferir una especificidad fina a los anticuerpos. Véase, por ej., Xu *et al.*, *Immunity* 13:37-45 (2000); Johnson and Wu, in *Methods in Molecular Biology* 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003). En efecto, los anticuerpos camélidos naturales que consisten en una cadena pesada únicameante son funcionales y

estables en la ausencia de la cadena ligera. Véase, *por ej.*, Hamers-Casterman *et al.*, *Nature* 363:446-448 (1993); Sheriff *et al.*, *Nature Struct. Biol.* 3:733-736 (1996).

Se utilizan y se abarcan en la presente un número de delineaciones de HVR. Las Regiones Determinantes de Complementariedad (CDR) de Kabat están basadas en la variabilidad de secuencia y son las más comúnmente utilizadas (Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). Chothia se refiere en cambio a la localización de los bucles estructurales (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). Las HVR de AbM representan un compromiso entre las HVR de Kabat y los bucles estructurales de Chothia, y son utilizadas por el software de modelaje del anticuerpo AbM de Oxford Molecular. Las HVR “de contacto” están basadas en el análisis de estructuras de cristales complejos disponibles. Los residuos de cada una de estas HVR se indican a continuación.

<u>Bucle</u>	<u>Kabat</u>	<u>AbM</u>	<u>Chothia</u>	<u>Contacto</u>
L1	L24-L34		L24-L34	L26-L32 L30-L36
L2	L50-L56		L50-L56	L50-L52 L46-L55
L3	L89-L97		L89-L97	L91-L96 L89-L96
H1	H31-H35B		H26-H35B	H26-H32 H30-H35B (numeración Kabat)
H1	H31-H35		H26-H35	H26-H32 H30-H35 (numeración Chothia)
H2	H50-H65		H50-H58	H53-H55 H47-H58
H3	H95-H102		H95-H102	H96-H101 H93-H101

Las HVR pueden comprender “HVR extendidas” de acuerdo con lo indicado a continuación: 24-36 o 24-34 (L1), 46-56 o 50-56 (L2) y 89-97 o 89-96 (L3) en la VL y 26-35 (H1), 50-65 o 49-65 (H2) y 93-102, 94-102, o 95-102 (H3) en la VH. Los residuos de dominio variable están enumerados de acuerdo con Kabat *et al.*, *supra*, para cada una de estas definiciones.

La expresión “*residuo de dominio variable enumerado de acuerdo con Kabat*” o “*posición de aminoácido enumerada de acuerdo con Kabat,*” y las variaciones de los mismos, se refiere al sistema de numeración utilizado para los dominios variables de cadena pesada o los dominios variables de cadena ligera de la compilación de anticuerpos en Kabat *et al.*, *supra*. Por el uso de este sistema de numeración, la secuencia de aminoácidos lineal real puede contener menos aminoácidos o aminoácidos adicionales correspondiente a un acortamiento o una inserción en una FR o HVR del dominio variable. Por ejemplo, un dominio variable de cadena pesada puede incluir una inserción de un único aminoácido (residuo

52a de acuerdo con Kabat) después del residuo 52 de H2 y residuos insertados (por ej. residuos 82a, 82b, y 82c, etc. de acuerdo con Kabat) después del residuo 82 de FR de la cadena pesada. La numeración de residuos de Kabat se puede determinar para un anticuerpo determinado por medio de la alineación en regiones de homología de la secuencia del anticuerpo con una secuencia enumerada Kabat “estándar”.

Los residuos “estructurales” o “FR” son aquellos residuos de dominio variable distintos de los residuos HVR de acuerdo con lo definido en la presente.

Una “estructura de consenso humano” o “estructura aceptadora humana” es una estructura que representa los residuos de aminoácido que aparecen más comúnmente en una selección de secuencias estructurales de VL o VH de inmunoglobulinas humanas. Por lo general, la selección de secuencias de VL o VH de inmunoglobulinas humanas es a partir de un subgrupo de secuencias de dominio variable. En general, el subgrupo de secuencias es un subgrupo de acuerdo con Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). Los ejemplos incluyen para la VL, el subgrupo puede ser el subgrupo kappa I, kappa II, kappa III o kappa IV de acuerdo con Kabat *et al.*, *supra*. En forma adicional, para la VH, el subgrupo puede ser el subgrupo I, subgrupo II, o subgrupo III de acuerdo con Kabat *et al.*, *supra*. En forma alternativa, una estructura de consenso humano se puede derivar de los anteriores en los que algunos residuos particulares, tales como cuando un residuo estructural humano se selecciona con base en su homología con la estructura donante por medio de la alineación de la secuencia estructural donante con una recolección de varias secuencias estructurales humanas. Una estructura de aceptación humana “derivada de” una estructura de inmunoglobulina humana o una estructura de consenso humano puede comprender la misma la secuencia de aminoácido de la misma, o puede contener cambios en la secuencia de aminoácido de preexistente. En algunas realizaciones, el número de cambios de aminoácido preexistentes son 10 o menos, 9 o menos, 8 o menos, 7 o menos, 6 o menos, 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos, o 2 o menos.

Una “estructura de consenso del subgrupo III de VH” comprende la secuencia de consenso obtenida de las secuencias de aminoácido en el subgrupo III pesado variable de Kabat *et al.*, *supra*. En una realización, la secuencia de aminoácido estructural de consenso del subgrupo III de VH comprende al menos una porción o todas de cada una de las siguientes secuencias: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (HC-FR1) (SEQ ID NO:4),

WVRQAPGKGLEWV (HC-FR2), (SEQ ID NO:5),
 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (HC-FR3, SEQ ID NO:6),
 WGQGTTLVTVSA (HC-FR4), (SEQ ID NO:7).

Una “*estructura de consenso de kappa I de VL*” comprende la secuencia de consenso obtenida de las secuencias de aminoácido en el subgrupo I de kappa ligera variable de Kabat *et al.*, *supra*. En una realización, la secuencia de aminoácido estructural de consenso del subgrupo I de VH comprende al menos una porción o todas de cada una de las siguientes secuencias: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (LC-FR1) (SEQ ID NO:11), WYQQKPGKAPKLLIY (LC-FR2) (SEQ ID NO:12), GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (LC-FR3)(SEQ ID NO:13), FGQGTKVEIKR (LC-FR4)(SEQ ID NO:14).

Una “*modificación de aminoácido*” en una posición especificada, *por ej.* de la región Fc, se refiere a la sustitución o eliminación del residuo especificado, o a una inserción de al menos un residuo de aminoácido adyacente al residuo especificado. Una inserción “*adyacente*” a un residuo especificado significa una inserción dentro de uno a dos residuos del mismo. La inserción puede ser en el extremo N o el extremo C del residuo especificado. La modificación de aminoácido preferida en la presente es una sustitución.

Un anticuerpo “*madurado por afinidad*” es aquel con una o más alteraciones en una o más HVR del mismo que dan lugar a una mejora en la afinidad del anticuerpo por el antígeno, en comparación con un anticuerpo parental que no posee esa(s) alteración(es). En una realización, un anticuerpo madurado por afinidad tiene afinidades nanomolares o incluso picomolares para el antígeno blanco. Los anticuerpos madurados por afinidad se producen por medio de procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, Marks *et al.*, *Bio/Technology* 10:779-783 (1992) describe la maduración por afinidad por medio de barajado de dominios VH y VL. La mutagénesis aleatoria de residuos de HVR y/o residuos estructurales se describe en, por ejemplo: Barbas *et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813 (1994); Schier *et al. Gene* 169:147-155 (1995); Yelton *et al. J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995); Jackson *et al., J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995); y Hawkins *et al, J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992).

De acuerdo con lo utilizado en la presente, el término “*se une en forma específica*” o es “*específico para*” se refiere a interacciones medibles y reproducibles tales como la unión entre un blanco y un anticuerpo, que es determinante de la presencia del blanco en la presencia de una población

heterogénea de moléculas que incluyen moléculas biológicas. Por ejemplo, un anticuerpo que se une en forma específica a un blanco (que puede ser un epítipo) es un anticuerpo que se une a este blanco con mayor afinidad, avidez, facilidad, y/o con mayor duración que con la que se une a otros blancos. En una realización, la extensión de la unión de un anticuerpo a un blanco no relacionado es menor que aproximadamente 10% de la unión del anticuerpo al blanco de acuerdo con lo medido, *por ej.*, por medio de un radioinmunoensayo (RIA). En ciertas realizaciones, un anticuerpo que se une en forma específica a un blanco tiene una constante de disociación (K_d) de $\leq 1\mu\text{M}$, $\leq 100\text{ nM}$, $\leq 10\text{ nM}$, $\leq 1\text{ nM}$, o $\leq 0,1\text{ nM}$. En ciertas realizaciones, un anticuerpo se une en forma específica a un epítipo en una proteína que está conservada entre las proteínas de especies diferentes. En otra realización, la unión específica puede incluir, pero no requiere una unión exclusiva.

De acuerdo con lo utilizado en la presente, el término “*inmunoadhesina*” designa las moléculas similares a anticuerpos que combinan la especificidad de unión de una proteína heteróloga (una “adhesina”) con las funciones efectoras de dominios constantes de inmunoglobulina. En cuanto a su estructura, las inmunoadhesinas comprenden una fusión de una secuencia de aminoácido con la especificidad de unión deseada que es distinta al reconocimiento de antígenos y el sitio de unión de un anticuerpo (*es decir*, es “heteróloga”), y una secuencia de dominio constante de inmunoglobulina. La parte de adhesina de una molécula de inmunoadhesina en forma típica es una secuencia de aminoácido contigua que comprende al menos el sitio de unión de un receptor o un ligando. La secuencia de dominio constante de inmunoglobulina en la inmunoadhesina se puede obtener a partir de cualquier inmunoglobulina, tal como los subtipos IgG-1, IgG-2 (que incluyen IgG2A e IgG2B), IgG-3, o IgG-4, IgA (que incluyen IgA-1 e IgA-2), IgE, IgD o IgM. Las fusiones de Ig con preferencia incluyen la sustitución de un dominio de un polipéptido o anticuerpo descrito en la presente en lugar de al menos una región variable dentro de una molécula de Ig. En una realización preferida en particular, la fusión de inmunoglobulina incluye las regiones de articulación, CH2 y CH3, o las regiones de articulación, CH1, CH2 y CH3 de una molécula de IgG1. Para la producción de fusiones de inmunoglobulina véase también la Patente de los Estados Unidos Núm. 5.428.130 publicada el 27 de junio de 1995. Por ejemplo, las inmunoadhesinas útiles como segundos medicamentos útiles para una terapia de combinación en la presente incluyen polipéptidos que comprenden las porciones extracelulares o de unión a PD-1 de PD-L1 o PD-L2 o las porciones

extracelulares o de unión a PD-L1 o PD-L2 de PD-1, fusionadas a un dominio constante de una secuencia de inmunoglobulina, tal como una PD-L1 ECD – Fc, una PD-L2 ECD – Fc, y un PD-1 ECD - Fc, respectivamente. Las combinaciones de inmunoadhesinas de Ig Fc y ECD de los receptores de la superficie celular algunas veces se denominan receptores solubles.

Una “*proteína de fusión*” y un “*polipéptido de fusión*” se refieren a un polipéptido que tiene dos porciones unidas entre sí en forma covalente, donde cada una de las porciones es un polipéptido que tiene una propiedad diferente. La propiedad puede ser una propiedad biológica, tal como la actividad *in vitro* o *in vivo*. La propiedad también puede ser una propiedad química o física simple, tal como la unión a una molécula blanco, la catálisis de una reacción, etc. Las dos porciones pueden estar unidas directamente por medio de un enlace peptídico simple o a través de un vinculador peptídico pero están en un marco de lectura entre sí.

Un “*oligopéptido PD-1*,” “*oligopéptido PD-L1*,” u “*oligopéptido PD-L2*” es un oligopéptido que se une, con preferencia en forma específica, a un polipéptido coestimulador negativo de PD-1, PD-L1 o PD-L2, respectivamente, que incluye un receptor, un ligando o un componente de señalización, respectivamente, de acuerdo con lo descrito en la presente. Tales oligopéptidos se pueden sintetizar en forma química por el uso de metodologías de síntesis de oligopéptidos conocidas o se puede preparar y purificar por el uso de tecnología recombinante. Tales oligopéptidos normalmente tienen al menos aproximadamente 5 aminoácidos de longitud, en forma alternativa al menos aproximadamente 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, o 100 aminoácidos de longitud o más. Tales oligopéptidos se pueden identificar por el uso de técnicas muy conocidas. En este aspecto, se destaca que las técnicas para observar librerías de oligopéptidos para oligopéptidos que son capaces de unirse en forma específica a un polipéptido blanco son muy conocidas en la técnica (véanse, *por ej.*, las Patentes de los Estados Unidos Núms. 5.556.762, 5.750.373, 4.708.871, 4.833.092, 5.223.409, 5.403.484, 5.571.689, 5.663.143; Publicación PCT Núms. WO 84/03506 y WO84/03564; Geysen *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 81:3998-4002 (1984); Geysen *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 82:178-182 (1985); Geysen *et al.*, in *Synthetic Peptides as Antigens*, 130-

149 (1986); Geysen *et al.*, *J. Immunol. Meth.*, 102:259-274 (1987); Schoofs *et al.*, *J. Immunol.*, 140:611-616 (1988), Cwirla, S. E. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87:6378 (1990); Lowman, H.B. *et al. Biochemistry*, 30:10832 (1991); Clackson, T. *et al. Nature*, 352: 624 (1991); Marks, J. D. *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991); Kang, A.S. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:8363 (1991), and Smith, G. P., *Current Opin. Biotechnol.*, 2:668 (1991).

Un anticuerpo “*de bloqueo*” o un anticuerpo “*antagonista*” es aquel que inhibe o reduce una actividad biológica del antígeno que une. En algunas realizaciones, los anticuerpos de bloqueo o los anticuerpos antagonistas inhiben sustancial o completamente la actividad biológica del antígeno. Los anticuerpos anti-PD-L1 de la invención bloquean la señalización a través de PD-1 de manera tal que restauran una respuesta funcional por medio de células T (*por ej.*, proliferación, producción de citoquinas, eliminación de células blanco) a partir de un estado disfuncional a la estimulación de antígenos.

Un anticuerpo “*agonista*” o de activación es aquel que potencia o inicia la señalización por medio del antígeno al cual se une. En algunas realizaciones, los anticuerpos agonistas provocan o activan la señalización sin la presencia del ligando natural.

El término “*región Fc*” en la presente se utiliza para definir una región del extremo C de una cadena pesada de inmunoglobulina, que incluyen las regiones Fc de secuencia nativa y regiones Fc variantes. Si bien los límites de la región Fc inmunoglobulinas pueden variar, la región Fc de la cadena pesada de IgG humana normalmente se define para estirarse desde un residuo de aminoácido en la posición Cys226, o desde la posición Pro230, hasta el extremo carboxilo del mismo. La lisina de del extremo C (residuo 447 de acuerdo con el sistema de numeración de EU) de la región Fc se puede eliminar, por ejemplo, durante la producción o purificación del anticuerpo, o por medio de manipulación recombinante que codifica una cadena pesada del anticuerpo. Por consiguiente, una composición de anticuerpos intactos puede comprender poblaciones de anticuerpos con todos los residuos K447 eliminados, poblaciones de anticuerpos sin residuos K447 eliminados, y poblaciones de anticuerpos que tiene una mezcla de anticuerpos con y sin el residuo K447. Las regiones Fc de secuencia nativa adecuadas para su uso en los anticuerpos de la invención incluyen IgG1, IgG2 (IgG2A, IgG2B), IgG3 e IgG4 humanas.

“*Receptor Fc*” o “*FcR*” describe un receptor que se une a la región Fc de un anticuerpo. El FcR preferido es un FcR humano de secuencia nativa. Además, un

FcR preferido es aquel que se une a un anticuerpo IgG (un receptor gamma) e incluye receptores de las subclases Fc γ RI, Fc γ RII, y Fc γ RIII, que incluyen variantes alélicas y alternativamente formas empalmadas de estos receptores, los receptores Fc γ RII incluyen Fc γ RIIA (un "receptor de activación") y Fc γ RIIB (un "receptor de inhibición"), que tienen secuencias de aminoácidos similares que difieren principalmente en los dominios citoplásmicos de los mismos. El receptor de activación Fc γ RIIA contiene un motivo de activación de inmunoreceptores basado en tirosina (ITAM) en su dominio citoplásmico. El receptor de inhibición Fc γ RIIB contiene un motivo de inhibición de inmunoreceptores basado en tirosina (ITIM) en su dominio citoplásmico. (véase M. Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997). Los FcR se revisan en Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9: 457-92 (1991); Capel *et al.*, *Immunomethods* 4: 25-34 (1994); y de Haas *et al.*, *J. Lab. Clin. Med.* 126: 330-41 (1995). Otros FcR, que incluyen aquellos que se identificarán en el futuro, están abarcados por el término "FcR" en la presente.

El término "receptor Fc" o "FcR" también incluye el receptor neonatal, FcRn, que es responsable de la transferencia de IgG maternas al feto. Guyer *et al.*, *J. Immunol.* 117: 587 (1976) and Kim *et al.*, *J. Immunol.* 24: 249 (1994). Los métodos para medir la unión a un FcRn son conocidos (véase, *por ej.*, Ghetie and Ward, *Immunol. Today* 18: (12): 592-8 (1997); Ghetie *et al.*, *Nature Biotechnology* 15 (7): 637-40 (1997); Hinton *et al.*, *J. Biol. Chem.* 279 (8): 6213-6 (2004); WO 2004/92219 (Hinton *et al.*). La unión a un FcRn in vivo y la vida media en suero de polipéptidos de unión de alta afinidad de FcRn humanos se puede ensayar, *por ej.*, en ratones transgénicos o líneas celulares humanas transfectadas que expresen FcRn humano, o en primates a los que se administran los polipéptidos que tienen una región Fc variante. WO 2004/42072 (Presta) describe variantes de anticuerpos que mejoraron o disminuyeron la unión a FcR. Véase también, *por ej.*, Shields *et al.*, *J. Biol. Chem.* 276(2): 6591-6604 (2001).

La frase "sustancialmente reducido/a," o "sustancialmente diferente," de acuerdo con lo utilizado en la presente, denota un grado de diferencia suficiente entre dos valores numéricos (por lo general uno asociado con una molécula y el otro asociado con una molécula de referencia/comparación) de manera tal que aquellos con experiencia en la técnica considerarían que la diferencia entre los dos valores tiene importancia estadística dentro del contexto de la característica biológica medida por dichos valores (*por ej.*, valores de Kd). La diferencia entre dichos dos valores es, por ejemplo, mayor que aproximadamente 10%, mayor que

aproximadamente 20%, mayor que aproximadamente 30%, mayor que aproximadamente 40%, y/o mayor que aproximadamente 50% en función del valor para la molécula de referencia/comparación.

El término “*sustancialmente similar*” o “*sustancialmente el mismo/la misma*,” de acuerdo con lo utilizado en la presente, denota un grado de similitud suficiente entre dos valores numéricos (por ejemplo, uno asociado con un anticuerpo y el otro asociado con un anticuerpo de referencia/comparación), de manera tal que aquellos con experiencia en la técnica considerarían que la diferencia entre los dos valores tiene una importancia biológica y/o estadística escasa o nula dentro del contexto de la característica biológica medida por dichos valores (*por ej.*, valores de Kd). La diferencia entre dichos dos valores es, por ejemplo, menor que aproximadamente 50%, menor que aproximadamente 40%, menor que aproximadamente 30%, menor que aproximadamente 20%, y/o menor que aproximadamente 10% en función del valor de referencia/comparación.

“*Portadores*” de acuerdo con lo utilizado en la presente incluyen portadores excipientes, o estabilizadores aceptables para uso farmacéutico, que son no tóxicos para la célula o mamífero que se expone al mismo en las dosificaciones y concentraciones empleadas. A menudo el portador aceptable para uso fisiológico es una solución acuosa de pH tamponado. Los ejemplos de portadores aceptables para uso fisiológico incluyen tampones tales como fosfato, citrato, y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico; polipéptidos de bajo peso molecular (menor que aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como albúmina de suero, gelatina, o inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos, y otros carbohidratos que incluyen glucosa, manosa, o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; alcoholes de azúcar tales como manitol o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN™, polietilen glicol (PEG), y PLURONICS™.

A “*prospecto de empaque*” se refiere a instrucciones incluidas en forma habitual en los empaques comerciales de medicamentos que contienen información sobre las indicaciones, uso, dosificación, administración, contraindicaciones, otros medicamentos a combinarse con el producto empaquetado, y/o advertencias referentes al uso de tales medicamentos, *etc.*

De acuerdo con lo utilizado en la presente, el término “*tratamiento*” se refiere a una intervención clínica diseñada para alterar el transcurso natural del

individuo o célula que se trate durante el transcurso de una patología clínica. Los efectos deseables de tratamiento incluyen la disminución de la tasa de progresión de la enfermedad, el alivio o paliación del estado de la enfermedad, y la remisión o pronóstico mejorado. Por ejemplo, un individuo ha sido “tratado” con éxito si uno o más síntomas asociados con el cáncer han sido mitigados o eliminados, que incluyen, pero sin limitación, la reducción de la proliferación (o destrucción) de células cancerígenas, la disminución de los síntomas que resultan de la enfermedad, la mejora de la calidad de vida de aquellos que sufren de la enfermedad, la disminución de la dosis de otras medicaciones requeridas para tratar la enfermedad, el retraso de la progresión de la enfermedad, y/o la prolongación de la supervivencia de los individuos.

De acuerdo con lo utilizado en la presente, “retrasar la progresión de una enfermedad” significa diferir, dificultar, demorar, retardar, estabilizar, y/o posponer el desarrollo de la enfermedad (tal como cáncer). Este retraso puede ser de longitudes de tiempo variables, dependiendo de la historia de la enfermedad y/o el individuo que se trate. Como será evidente para aquellos con experiencia en la técnica, un retraso suficiente o significativo puede, en efecto, abarcar la prevención de que el individuo no desarrolle la enfermedad. Por ejemplo, se puede retrasar un cáncer en etapa tardía, tal como el desarrollo de metástasis.

Una “cantidad efectiva” es al menos la concentración mínima requerida para efectuar una mejora o prevención medible de un trastorno particular. Una cantidad efectiva en la presente puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo, y el peso del paciente, y la capacidad del anticuerpo para obtener una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad efectiva también es aquella en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial del tratamiento es superado por los efectos terapéuticamente beneficiosos. Para uso profiláctico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados tales como la eliminación o reducción del riesgo, la disminución de la severidad, o el retraso del inicio de la enfermedad, que incluyen síntomas bioquímicos, histológicos y/o de conducta de la enfermedad, sus complicaciones y fenotipos patológicos intermedios que se presentan durante desarrollo de la enfermedad. Para uso terapéutico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados clínicos tales como la disminución de uno o más síntomas que resultan de la enfermedad, la mejora de la calidad de vida de aquellos que sufren de la enfermedad, la disminución de la dosis de otras medicaciones requeridas para tratar la enfermedad, la potenciación del efecto de otra medicación tal como a través de

localización, el retraso de la progresión de la enfermedad, y/o la prolongación de la supervivencia. En el caso de cáncer o tumor, una cantidad efectiva del fármaco puede tener un efecto en la reducción del número de células cancerígenas; la reducción en el tamaño del tumor; la inhibición (*es decir*, detener hasta cierto punto o en forma deseable) de la infiltración de células cancerígenas en los órganos periféricos; la inhibición (*es decir*, detener hasta cierto punto o en forma deseable) de la metástasis tumoral; la inhibición hasta cierto punto del crecimiento tumoral ; y/o el alivio hasta cierto punto de uno o más de los síntomas asociados con el trastorno. Una cantidad efectiva se puede administrar en una o más administraciones. Para los propósitos de esta invención, una cantidad efectiva de un fármaco, compuesto, o composición farmacéutica es una cantidad suficiente para conseguir un tratamiento profiláctico o terapéutico ya sea en forma directa o indirecta. De acuerdo con lo que se comprende en el contexto clínico, una cantidad efectiva de un fármaco, compuesto, o composición farmacéutica se puede lograr o no en conjunto con otro fármaco, compuesto, o composición farmacéutica. Por lo tanto, una “cantidad efectiva” se puede considerar en el contexto de la administración de uno o más agentes terapéuticos, y se puede considerar que un único agente se dé en una cantidad efectiva si, en conjunto con uno o más otros agentes, se puede lograr o se logra un resultado deseable.

De acuerdo con lo utilizado en la presente, “en conjunto con” se refiere a la administración de una modalidad de tratamiento en adición a otra modalidad de tratamiento. Como tal, “en conjunto con” se refiere a la administración de una modalidad de tratamiento antes, durante, o después de la administración de otra modalidad de tratamiento al individuo.

De acuerdo con lo utilizado en la presente, “respuesta completa” o “CR” se refiere a la desaparición de todas las lesiones blanco; “respuesta parcial” o “PR” se refiere a una disminución de al menos 30% en la suma de los diámetros mayores (SLD) de las lesiones blanco, tomando como referencia la SLD del valor de referencia; y “enfermedad estable” o “SD” se refiere a ningún encogimiento suficiente de lesiones blanco para calificar para PR, ni tampoco un aumento suficiente para calificar para PD, tomando como referencia la SLD más pequeña registrada desde que comenzó el tratamiento.

De acuerdo con lo utilizado en la presente, “enfermedad progresiva” o “PD” se refiere a un aumento de al menos 20% en la SLD de las lesiones blanco, tomando como referencia la SLD más pequeña registrada desde que comenzó el tratamiento o la presencia de una o más nuevas lesiones.

De acuerdo con lo utilizado en la presente, “supervivencia libre de progresión” (PFS) se refiere a la longitud de tiempo durante y después del tratamiento durante la cual la enfermedad que se está tratando (por ej., cáncer) no empeora. La supervivencia libre de progresión puede incluir la cantidad de tiempo que los pacientes han experimentado una respuesta completa o una respuesta parcial, así como también la cantidad de tiempo que los pacientes han experimentado una enfermedad estable.

De acuerdo con lo utilizado en la presente, “tasa de respuesta global” (ORR) se refiere a la suma de la tasa de respuesta completa (CR) y la tasa de respuesta parcial (PR).

De acuerdo con lo utilizado en la presente, “supervivencia global” se refiere al porcentaje de individuos en un grupo que es probable que estén vivos después de una duración de tiempo particular.

Un “*agente quimioterapéutico*” es un compuesto químico útil para el tratamiento del cáncer. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida (CYTOXAN®); alquilsulfonatos tales como busulfán, improsulfán, y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carboquona, meturedopa, y uredopa; etileniminas y metilamelaminas que incluyen altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bullatacina y bullatacinona); delta-9-tetrahidrocannabinol (dronabinol, MARINOL®); beta-lapacina; lapacol; colquicinas; ácido betulínico; una camptotecina (que incluye el análogo sintético topotecan (HYCAMTIN®), CPT-11 (irinotecan, CAMPTOSAR®), acetilcamptotecina, escopoletina, y 9-aminocamptotecina); briostatina; pemetrexed; calistatina; CC-1065 (que incluye sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); podofilotoxina; ácido podofílico; teniposida; criptoficinas (en particular criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (que incluye los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; TLK-286; CDP323, un inhibidor de alfa-4 integrina oral; una sarcodictina; espongistatina; mostazas nitrogenadas tales como clorambucilo, clornafacina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, hidrocloreto del óxido de mecloretamina, melfalán, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, y ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enediina (*por ej.*, caliqueamicina, especialmente caliqueamicina gammall y caliqueamicina omegall (véase, *por ej.*, Nicolaou *et al.*,

Angew. Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)); dinemicina, que incluye dinemicina A; una esperamicina; así como también cromóforo de neocarzinostatina y cromóforos de antibióticos de enediina cromoproteínas relacionadas), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina (que incluye ADRIAMICINA®, morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina, inyección de doxorubicina HCl liposoma (DOXIL®) y deoxidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; anti-metabolitos tal como metotrexato, gemcitabina (GEMZAR®), tegafur (UFTORAL®), capecitabina (XELODA®), una epotilona, y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, dideoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, e imatinib (un derivado de 2-fenilaminopirimidina), así como también otros inhibidores de c-Kit; anti-adrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; rellenos de ácido fólico tal como ácido folínico; aceglatona; glicósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziquona; elfornitina; acetato de eliptinio; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxurea; lentinano; lonidainina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenameto; pirarubicina; losoxantrona; 2-etilhidrazida; procarbazona; el complejo de polisacáridos PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxana; rizoxina; sizofirano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triaziquona; 2,2',2''-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina (ELDISINE®, FILDESIN®); dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); tiotepa; taxoides, *por ej.*, paclitaxel (TAXOL®), formulación en nanopartículas de paclitaxel diseñado en albúmina (ABRAXANE™), y doxetaxel (TAXOTERE®); cloranbucilo; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina (VELBAN®); platino; etopósido (VP-16);

ifosfamida; mitoxantrona; vincristina (ONCOVIN®); oxaliplatina; leucovovina; vinorelbina (NAVELBINE®); novantrona; edatrexato; daunomicina; aminopterina; ibandronato; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; sales, ácidos o derivados aceptables para uso farmacéutico de cualquiera de los anteriores; así como también combinaciones de dos o más de los anteriores tales como CHOP, una abreviatura para una terapia combinada de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, y prednisolona, y FOLFOX, una abreviatura para un régimen de tratamiento con oxaliplatino (ELOXATIN™) combinado con 5-FU y leucovovina.

Los ejemplos adicionales de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes anti-hormonales que actúan para regular, reducir, bloquear, o inhibir los efectos de hormonas que pueden promover el crecimiento del cáncer, y a menudo están en forma de tratamiento sistémico, o de todo el cuerpo. Pueden ser hormonas en sí mismas. Los ejemplos incluyen antiestrógenos y moduladores de receptores de estrógeno selectivos (SERMs), que incluyen, por ejemplo, tamoxifeno (que incluyen NOLVADEX® tamoxifeno), raloxifeno (EVISTA®), droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona, y toremifeno (FARESTON®); anti-progesteronea; subreguladores del receptor de estrógeno (ERD); antagonistas del receptor de estrógeno tales como fulvestrant (FASLODEX®); agentes que funcionan para suprimir o desactivar los ovarios, por ejemplo, agonistas de la hormona liberadora de hormona leutinizante (LHRH) tales como acetato de leuprolida (LUPRON® y ELIGARD®), acetato de goserelina, acetato de buserelina y tripterelina; antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida y bicalutamida; e inhibidores de aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógeno en las glándulas adrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazolas, aminoglutetimida, acetato de megestrol (MEGASE®), exemestano (AROMASIN®), formestanie, fadrozol, vorozol (RIVISOR®), letrozol (FEMARA®), y anastrozol (ARIMIDEX®). En adición, tal definición de agentes quimioterapéuticos incluye bisfosfonatos tales como clodronato (por ejemplo, BONEFOS® u OSTAC®), etidronato (DIDROCAL®), NE-58095, ácido zoledrónico/zoledronato (ZOMETA®), alendronato (FOSAMAX®), pamidronato (AREDIA®), tiludronato (SKELID®), o risedronato (ACTONEL®); así como también troxacitabina (un análogo del 1, 3-dioxolano nucleósido citosina); oligonucleótidos antisentido, en particular aquellos que inhiben la expresión de genes en vías de señalización implicados en la proliferación celular aberrante, tales como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf, H-Ras, y receptor de factor de crecimiento

epidérmico (EGF-R); vacunas tales como la vacuna THERATOPE® y vacunas con terapia génica, por ejemplo, vacuna ALLOVECTIN®, vacuna LEUVECTIN®, y vacuna VAXID®; inhibidor de topoisomerasa 1 (*por ej.*, LURTOTECAN®); un antiestrógeno tal como fulvestrant; un kit inhibidor tal como imatinib o EXEL-0862 (un inhibidor de la tirosina quinasa); inhibidor EGFR tal como erlotinib o cetuximab; un inhibidor anti-VEGF tal como bevacizumab; arinotecan; rmRH (*por ej.*, ABARELIX®); lapatinib y ditosilato de lapatinib (un inhibidor de molécula pequeña de tirosina quinasa dual de ErbB-2 y EGFR también conocido como GW572016); 17AAG (un derivado de geldanamicina que es una proteína de choque de calor (Hsp) veneno 90), y sales, ácidos o derivados aceptables para uso farmacéutico de cualquiera de los anteriores.

De acuerdo con lo utilizado en la presente, el término “*citoquina*” se refiere en forma genérica a las proteínas liberadas por una población celular que actúan sobre otra célula como mediadores intercelulares o tienen un efecto autócrino sobre las células que producen proteínas. Los ejemplos de tales citoquinas incluyen linfoquinas, monoquinas; interleuquinas (“IL”) tales como IL-1, IL-1 α , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17A-F, IL-18 a IL-29 (tal como IL-23), IL-31, que incluyen PROLEUKIN® rIL-2; un factor de necrosis tumoral tal como TNF- α o TNF- β , TGF β 1-3; y otros factores de polipéptidos que incluyen factor inhibidor de leucemia (“LIF”), factor neurotrófico ciliar (“CNTF”), citoquina similar a CNTF (“CLC”), cardiotrofina (“CT”), y kit ligando (“KL”).

De acuerdo con lo utilizado en la presente, el término “*quimioquina*” se refiere a factores solubles (*por ej.*, citoquinas) que tienen la capacidad de inducir en forma selectiva quimiotaxis y activación de leucocitos. También activan procesos de angiogénesis, inflamación, cicatrización de heridas, y tumorigénesis. Un ejemplo de quimioquinas incluyen IL-8, un homólogo humano del queratinocito quimioatrayente murino (KC).

De acuerdo con lo utilizado en la presente y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un/una,” “o,” y “el/la” incluyen referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

La referencia a “aproximadamente” un valor o parámetro en la presente incluye (y describe) variaciones que están dirigidas a ese valor o parámetro *per se*. Por ejemplo, la descripción que se refiere a “aproximadamente X” incluye la descripción de “X”.

El término “alquilo” de acuerdo con lo utilizado en la presente se refiere a un

radical hidrocarburo monovalente de cadena lineal o ramificada saturado de uno a doce átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero sin limitación, metil (Me, $-\text{CH}_3$), etil (Et, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1-propil (n-Pr, n-propil, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-propil (i-Pr, i-propil, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1-butil (n-Bu, n-butil, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-metil-1-propil (i-Bu, i-butil, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2-butil (s-Bu, s-butil, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-metil-2-propil (t-Bu, t-butil, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1-pentil (n-pentil, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-pentil ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-pentil ($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 2-metil-2-butil ($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-metil-2-butil ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3-metil-1-butil ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2-metil-1-butil ($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1-hexil ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-hexil ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-hexil ($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)$), 2-metil-2-pentil ($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-metil-2-pentil ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4-metil-2-pentil ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3-metil-3-pentil ($-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 2-metil-3-pentil ($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,3-dimetil-2-butil ($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3,3-dimetil-2-butil ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1-heptilo, 1-octilo, y similares.

El término "alquenilo" se refiere a un radical hidrocarburo monovalente de cadena lineal o ramificada de dos a doce átomos de carbono con al menos un sitio de no saturación, es decir, un enlace doble de sp^2 carbono-carbono, donde el radical de alquenilo incluye radicales que tienen orientaciones "cis" y "trans", o en forma alternativa, orientaciones "E" y "Z". Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, etilenilo o vinilo ($-\text{CH}=\text{CH}_2$), alilo ($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), y similares.

El término "alquinilo" se refiere a un radical hidrocarburo monovalente de cadena lineal o ramificada de dos a doce átomos de carbono con al menos un sitio de no saturación, es decir, un enlace triple de sp carbono-carbono. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, etinilo ($-\text{C}\equiv\text{CH}$), propinilo (propargilo, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), y similares.

Los términos "carbociclo", "carbociclilo", "anillo carbocíclico" y "cicloalquilo" se refieren a un anillo monovalente no aromático saturado o parcialmente no saturado que tiene de 3 a 12 átomos de carbono como un anillo monocíclico o de 7 a 12 átomos de carbono como un anillo bicíclico. Los carbociclos bicíclicos que tienen de 7 a 12 átomos se puede disponer, por ejemplo, como un sistema biciclo [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6], y los carbociclos bicíclicos que tienen 9 o 10 átomos en anillo se pueden disponer como un sistema biciclo [5,6] o [6,6], o como sistemas puente tales como biciclo[2.2.1]heptano, biciclo[2.2.2]octano y biciclo[3.2.2]nonano. Los ejemplos de carbociclos monocíclicos incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, 1-ciclopent-1-enilo, 1-ciclopent-2-enilo, 1-ciclopent-3-enilo,

ciclohexilo, 1-ciclohex-1-enilo, 1-ciclohex-2-enilo, 1-ciclohex-3-enilo, ciclohexadienilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclonoilo, ciclodecilo, cicloundecilo, ciclododecilo, y similares.

"Arilo" significa un radical hidrocarburo aromático monovalente de 6 a 18 átomos de carbono derivado por medio de la eliminación de un átomo de hidrógeno de un único átomo de carbono de un sistema anular aromático parental. Algunos grupos arilo están representados en las estructuras ejemplares como "Ar". Arilo incluye radicales bicíclicos que comprenden un anillo aromático fusionado a un anillo saturado, parcialmente no saturado, o un anillo heterocíclico o carbocíclico aromático. Los grupos arilo típicos incluyen, pero sin limitación, radicales derivados de benceno (fenilo), bencenos sustituidos, naftaleno, antraceno, indenilo, indanilo, 1,2-dihidronaftaleno, 1,2,3,4-tetrahidronaftilo, y similares.

Los términos "heterociclo," "heterociclilo" y "anillo heterocíclico" se utilizan en forma indistinta en la presente y se refieren a un radical carbocíclico saturado o parcialmente no saturado (es decir, que tiene uno o más enlaces dobles y/o triples en el anillo) de 3 a 18 átomos anulares, en los que al menos un átomo anular es un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre, el resto de los átomos anulares es C, donde uno o más átomos anulares está sustituido en forma opcional e independiente con uno o más sustituyentes descritos a continuación. Un heterociclo puede ser un monociclo que tiene de 3 a 7 miembros anulares (de 2 a 6 átomos de carbono y de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de N, O, P, y S) o un biciclo que tiene de 7 a 10 miembros anulares (de 4 a 9 átomos de carbono y de 1 a 6 heteroátomos seleccionados de N, O, P, y S), por ejemplo: un sistema biciclo [4,5], [5,5], [5,6], o [6,6]. Los heterociclos se describen en Paquette, Leo A.; "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A. Benjamin, New York, 1968), en particular Capítulos 1, 3, 4, 6, 7, y 9; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950 hasta el presente), en particular los Volúmenes 13, 14, 16, 19, y 28; y J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566. "Heterociclilo" también incluye radicales donde los radicales heterociclos se fusionan con un anillo saturado, parcialmente no saturado, o un anillo heterocíclico o carbocíclico aromático. Los ejemplos de anillos heterocíclicos incluyen, pero sin limitación, pirrolidinilo, tetrahidrofurano, dihidrofurano, tetrahidrotienilo, tetrahidropirano, dihidropirano, tetrahidrotiopirano, piperidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, tioxanilo, piperazinilo, homopiperazinilo, azetidínilo, oxetanilo, tietanilo, homopiperidinilo, oxepanilo, tiepanilo, oxazepínilo, diazepínilo,

tiazepinilo, 2-pirrolinilo, 3-pirrolinilo, indolinilo, 2H-piranilo, 4H-piranilo, dioxanilo, 1,3-dioxolanilo, pirazolinilo, ditanilo, ditiolanilo, dihidropiranilo, dihidrotienilo, dihidrofuranilo, pirazolidinilimidazolinilo, imidazolidinilo, 3-azabicyclo[3.1.0]hexanilo, 3-azabicyclo[4.1.0]heptanilo, y azabicyclo[2.2.2]hexanilo. Los restos espiro también están incluidos dentro del alcance de esta definición. Los ejemplos de un grupo heterocíclico donde los átomos anulares sustituidos con restos oxo (=O) son pirimidinonilo y 1,1-dioxo-tiomorfolinilo.

El término "heteroarilo" se refiere a un radical aromático monovalente de anillos de 5 o 6 miembros, e incluye sistemas anulares fusionados (al menos uno de los cuales es aromático) de 5 a 18 átomos, que contiene uno o más heteroátomos seleccionados en forma independiente de nitrógeno, oxígeno y azufre. Los ejemplos de grupos heteroarilo son piridinilo (que incluye, por ejemplo, 2-hidroxipiridinilo), imidazolilo, imidazopiridinilo, pirimidinilo (que incluye, por ejemplo, 4-hidroxipirimidinilo), pirazolilo, triazolilo, pirazinilo, tetrazolilo, furilo, tienilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isotiazolilo, pirrolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, indolilo, benzimidazolilo, benzofuranilo, cinnolinilo, indazolilo, indolizinilo, ftalazinilo, piridazinilo, triazinilo, isoindolilo, pteridinilo, purinilo, oxadiazolilo, triazolilo, tiadiazolilo, furazanilo, benzofurazanilo, benzotiofenilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, naftiridinilo, y furopiridinilo.

Los grupos heterociclo o heteroarilo pueden estar unidos a carbono (enlace a carbono) o nitrógeno (enlace a nitrógeno) cuando esto sea posible. A modo de ejemplo y no de limitación, los heterociclos o heteroarilos unidos a carbono están unidos en la posición 2, 3, 4, 5, o 6 de una piridina, la posición 3, 4, 5, o 6 de una piridazina, la posición 2, 4, 5, o 6 de una pirimidina, la posición 2, 3, 5, o 6 de una pirazina, la posición 2, 3, 4, o 5 de un furano, tetrahydrofurano, tiofurano, tiofeno, pirrol o tetrahidropirrol, la posición 2, 4, o 5 de un oxazol, imidazol o tiazol, la posición 3, 4, o 5 de un isoxazol, pirazol, o isotiazol, la posición 2 o 3 de una aziridina, la posición 2, 3, o 4 de una azetidina, la posición 2, 3, 4, 5, 6, 7, u 8 de una quinolina o la posición 1, 3, 4, 5, 6, 7, o 8 de una isoquinolina.

A modo de ejemplo y no de limitación, los heterociclos o heteroarilos unidos a nitrógeno se unen en la posición 1 de una aziridina, azetidina, pirrol, pirrolidina, 2-pirrolina, 3-pirrolina, imidazol, imidazolidina, 2-imidazolina, 3-imidazolina, pirazol, pirazolina, 2-pirazolina, 3-pirazolina, piperidina, piperazina, indol, indolina, 1H-indazol, la posición 2 de un isoindol, o isoindolina, la posición 4 de una morfolina, y la posición 9 de un carbazol, o β -carbolina.

Los heteroátomos presentes en heteroarilo o heterociclilo incluyen las

formas oxidadas tales como $N^+ \rightarrow O^-$, $S(O)$ y $S(O)_2$.

El término "halo" se refiere a F, Cl, Br o I.

La frase "sal aceptable para uso farmacéutico" de acuerdo con lo utilizado en la presente, se refiere a sales orgánicas o inorgánicas aceptables para uso farmacéutico de un compuesto de la invención. Las sales representativas incluyen, pero sin limitación, sulfato, citrato, acetato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, lactato, saliciloato, citrato ácido, tartrato, oleato, tannato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucuronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metansulfonato "mesiloato", etansulfonato, bencensulfonato, *p*-toluensulfonato, sales de pamoato (es decir, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)), sales de metales alcalinos (por ej., sodio y potasio), sales de metales alcalinotérreos (por ej., magnesio), y sales de amonio. Una sal aceptable para uso farmacéutico puede implicar la inclusión de otra molécula tal como un ión de acetato, un ión de succinato u otro contraión. El contraión puede ser un resto orgánico o inorgánico que estabiliza la carga en el compuesto original. Además, una sal aceptable para uso farmacéutico puede tener más de un átomo cargado en su estructura. En los casos en los que múltiples átomos cargados son parte de la sal aceptable para uso farmacéutico pueden tener múltiples contraiones. Por lo tanto, una sal aceptable para uso farmacéutico puede tener uno o más átomos cargados y/o uno o más contraiones.

Si el compuesto de la invención es una base, la sal aceptable para uso farmacéutico deseada se puede preparar por medio de cualquier método adecuado disponible en la técnica, por ejemplo, el tratamiento de la base libre con un ácido inorgánico, tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido metanolsulfónico, ácido fosfórico, y similares, o con un ácido orgánico, tal como ácido acético, ácido maleico, ácido succínico, ácido mandélico, ácido fumárico, ácido malónico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido salicílico, un ácido piranosidilo, tal como ácido glucurónico o ácido galacturónico, un alfa hidroxiaácido, tal como ácido cítrico o ácido tartárico, un aminoácido, tal como ácido aspártico o ácido glutámico, un ácido aromático, tal como ácido benzoico o ácido cinámico, un ácido sulfónico, tal como ácido *p*-toluensulfónico o ácido etansulfónico, o similares.

Si el compuesto de la invención es un ácido, la sal aceptable para uso farmacéutico deseada se puede preparar por medio de cualquier método adecuado, por ejemplo, el tratamiento del ácido libre con una base inorgánica u

orgánica, tal como una amina (primaria, secundaria o terciaria), un hidróxido de metal alcalino o hidróxido de metal alcalinotérreo, o similares. Los ejemplos ilustrativos de sales adecuadas incluyen, pero sin limitación, sales orgánicas derivadas de aminoácidos, tales como glicina y arginina, amoniaco, aminas primaria, secundaria y terciaria, y aminas cíclicas, tales como piperidina, morfolina y piperazina, y sales inorgánicas derivadas de sodio, calcio, potasio, magnesio, manganeso, hierro, cobre, zinc, aluminio y litio.

La frase "aceptable para uso farmacéutico" indica que la sustancia o composición debe química y/o toxicológicamente compatible, con los otros ingredientes que comprenden una formulación, y/o el mamífero tratado con los mismos.

Un "solvato" se refiere a una asociación o complejo de una o más moléculas de solvente y un compuesto de la invención. Los ejemplos de solventes que formar solvatos incluyen, pero sin limitación, agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético, y etanolamina. El término "hidrato" se refiere al complejo donde la molécula de solvente es agua.

Se comprende que los aspectos y variaciones de la invención descriptas en la presente incluyen "consiste en" y/o "consiste esencialmente en" aspectos y variaciones.

III Métodos

En un aspecto, se proporciona en la presente un método para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad efectiva de un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK. En algunas realizaciones, el tratamiento da lugar una respuesta sostenida en el individuo después del cese del tratamiento.

Los métodos para esta invención pueden hallar uso para tratar afecciones donde se desea una inmunogenicidad potenciada tal como el aumento de la inmunogenicidad tumoral para el tratamiento del cáncer. Se puede tratar una variedad de cánceres, o retrasar su progresión, que incluyen pero sin limitación un cáncer que puede contener una mutación BRAF V600E, un cáncer que puede contener un BRAF de tipo salvaje, un cáncer que puede contener un KRAS de tipo salvaje, o un cáncer que puede contener una activación de mutación de KRAS.

En algunas realizaciones, el individuo tiene un melanoma. El melanoma puede estar en una etapa temprana o en una etapa tardía. En algunas realizaciones, el individuo tiene cáncer colorrectal. El cáncer colorrectal puede estar en una etapa temprana o en una etapa tardía. En algunas realizaciones, el

individuo tiene cáncer de pulmón de células no pequeñas. El cáncer de pulmón de células no pequeñas puede estar en una etapa temprana o en una etapa tardía. En algunas realizaciones, el individuo tiene cáncer pancreático. El cáncer pancreático puede estar en una etapa temprana o en una etapa tardía. En algunas realizaciones, el individuo tiene una malignidad hematológica. La malignidad hematológica puede estar en una etapa temprana o en una etapa tardía. En algunas realizaciones, el individuo tiene cáncer de ovarios. El cáncer de ovarios puede estar en una etapa temprana o en una etapa tardía. En algunas realizaciones, el individuo tiene cáncer de mama. El cáncer de mama puede estar en una etapa temprana o en una etapa tardía. En algunas realizaciones, el individuo tiene un carcinoma de células renales. El carcinoma de células renales puede estar en una etapa temprana o en una etapa tardía.

En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero, tal como animales domesticados (por ej., vacas, cabras, gatos, perros, y caballos), primates (por ej., primates humanos y no humanos tales como monos), conejos, y roedores (por ej., ratones y ratas). En algunas realizaciones, el individuo tratado es un humano.

En otro aspecto, se proporciona en la presente un método para potenciar la función inmune en un individuo que tiene cáncer que comprende administrar una cantidad efectiva de un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK.

En algunas realizaciones, las células T CD8 en el individuo que tiene cebado, activación, proliferación y/o actividad citolítica potenciada con relación a una etapa anterior a la administración del antagonista de la vía PD-1 y el inhibidor de MEK. En algunas realizaciones, el cebado de la célula T CD8 está caracterizado por una expresión de CD44 elevada y/o una actividad citolítica potenciada en las células T CD8. En algunas realizaciones, la activación de células T CD8 está caracterizada por una frecuencia elevada de células T CD8 γ -IFN⁺. En algunas realizaciones, la célula T CD8 es una célula T específica a antígeno. En algunas realizaciones, se inhibe la evasión inmune por medio de la señalización a través de la expresión de superficie de PD-L1.

En algunas realizaciones, las células cancerígenas en el individuo tienen una expresión elevada de la expresión de antígeno MHC de clase I con relación a una etapa anterior a la administración del antagonista de la vía PD-1 y el inhibidor de MEK.

En algunas realizaciones, las células que presentan antígeno en el individuo tienen una maduración y activación potenciadas con relación a una etapa anterior a la administración del antagonista de la vía PD-1 y el inhibidor de MEK. En

algunas realizaciones, las células que presentan antígeno son células dendríticas. En algunas realizaciones, la maduración de las células que presentan antígeno está caracterizada por una frecuencia aumentada de células dendríticas CD83⁺. En algunas realizaciones, la activación de las células que presentan antígeno está caracterizada por una expresión elevada de CD80 y CD86 sobre las células dendríticas.

En algunas realizaciones, los niveles de suero en el individuo de citoquina IL-10 y/o quimioquina IL-8, un homólogo humano de KC murino, están reducidos con relación a una etapa anterior a la administración del anticuerpo anti-PD-L1 y el inhibidor de MEK.

En algunas realizaciones, el cáncer tiene niveles elevados de infiltración de células T.

En algunas realizaciones, la terapia de combinación de la invención comprende la administración de un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK. El antagonista de unión al eje PD-1 y el inhibidor de MEK se pueden administrar de cualquier manera adecuada conocida en la técnica. Por ejemplo, el antagonista de unión al eje PD-1 y el inhibidor de MEK se pueden administrar en forma secuencial (en diferentes momentos) o en forma simultánea (al mismo tiempo).

En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK se administra en forma continua. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK se administra en forma intermitente. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK se administra antes que la administración del antagonista de unión al eje PD-1. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK se administra en forma simultánea con la administración del antagonista de unión al eje PD-1. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK se administra después que la administración del antagonista de unión al eje PD-1.

En algunas realizaciones, se proporciona un método para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad efectiva de un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK, que además comprende administrar una terapia adicional. La terapia adicional puede ser terapia de radiación, cirugía (*por ej.*, lumpectomía y mastectomía), quimioterapia, terapia de genes, terapia de ADN, terapia viral, terapia de ARN, inmunoterapia, trasplante de médula ósea, nanoterapia, terapia de anticuerpos monoclonales, o una combinación de lo precedente. La terapia adicional puede estar en la forma de terapia adyuvante o neoadyuvante. En algunas realizaciones,

la terapia adicional es la administración de un inhibidor enzimático de moléculas pequeñas o un agente anti-metastásico. En algunas realizaciones, la terapia adicional es la administración de agente limitantes de efectos secundarios (*por ej.*, agentes que se pretenden para disminuir la aparición y/o severidad de los efectos secundarios del tratamiento, tales como agentes anti-náuseas, etc.). En algunas realizaciones, la terapia adicional es terapia de radiación. En algunas realizaciones, la terapia adicional es cirugía. En algunas realizaciones, la terapia adicional es una combinación de terapia de radiación y cirugía. En algunas realizaciones, la terapia adicional es irradiación gamma. En algunas realizaciones, la terapia adicional es una terapia dirigida a la vía PI3K/AKT/mTOR, inhibidor HSP90, inhibidor de tubulina, inhibidor de apoptosis, y/o un agente quimiopreventivo. La terapia adicional puede ser uno o más de los agentes quimioterapéuticos descritos en la presente con anterioridad.

El antagonista de unión al eje PD-1 y el inhibidor de MEK se puede administrar por la misma vía de administración o por vías de administración diferentes. En algunas realizaciones, el antagonista de unión al eje PD-1 se administra por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, tópica, oral, transdérmica, intraperitoneal, intraorbital, por implantación, por inhalación, por vía intratecal, intraventricular, o intranasal. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK se administra por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, tópica, oral, transdérmica, intraperitoneal, intraorbital, por implantación, por inhalación, por vía intratecal, intraventricular, o intranasal. Una cantidad efectiva del antagonista de unión al eje de PD-1 y el inhibidor de MEK puede administrarse para la prevención o tratamiento de enfermedades. La dosis adecuada del antagonista de unión al eje de PD-1 y/o al inhibidor de MEK puede determinarse con base en el tipo de enfermedad a tratar, el tipo del antagonista de unión al eje de PD-1 y el inhibidor de MEK, la severidad y el curso de la enfermedad, la condición clínica del individuo, el historial clínico del individuo y la respuesta al tratamiento, y la discreción del profesional a cargo del tratamiento.

En los métodos se puede utilizar cualquiera de los antagonistas de unión al eje PD-1 y los inhibidores de MEK conocidos en la técnica o descritos a continuación.

Antagonistas de unión al eje PD-1

Se proporciona en la presente un método para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad efectiva de un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK.

Por ejemplo, un antagonista de unión al eje PD-1 incluye un antagonista de unión de PD-1, un antagonista de unión de PD-L1 y un antagonista de unión de PD-L2. Los nombres alternativos para “PD-1” incluyen CD279 y SLEB2. Los nombres alternativos para “PD-L1” incluyen B7-H1, B7-4, CD274, y B7-H. Los nombres alternativos para “PD-L2” incluyen B7-DC, Btdc, y CD273. En algunas realizaciones, PD-1, PD-L1, y PD-L2 son PD-1, PD-L1 y PD-L2 humanos.

En algunas realizaciones, el antagonista de unión de PD-1 es una molécula que inhibe la unión de PD-1 a sus parejas de unión a ligandos. En un aspecto específico las parejas de unión a ligandos de PD-1 son PD-L1 y/o PD-L2. En otra realización, un antagonista de unión de PD-L1 es una molécula que inhibe la unión de PD-L1 a sus parejas de unión. En un aspecto específico, las parejas de unión de PD-L1 son PD-1 y/o B7-1. En otra realización, el antagonista de unión de PD-L2 es una molécula que inhibe la unión de PD-L2 a sus parejas de unión. En un aspecto específico, una pareja de unión de PD-L2 es PD-1. El antagonista puede ser un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo, una inmunoadhesina, una proteína de fusión, o un oligopéptido.

En algunas realizaciones, el antagonista de unión de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 (por ej., un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, o un anticuerpo quimérico). En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 se selecciona del grupo que consiste en MDX-1106, Merck 3475 y CT-011. En algunas realizaciones, el antagonista de unión de PD-1 es una inmunoadhesina (por ej., una inmunoadhesina que comprende una porción de unión extracelular o de PD-1 de PD-L1 o PD-L2 fusionada a una región constante (por ej., una región Fc de una secuencia de inmunoglobulinas). En algunas realizaciones, el antagonista de unión de PD-1 es AMP-224. En algunas realizaciones, el antagonista de unión de PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1. En algunas realizaciones, el antagonista de unión de anti-PD-L1 se selecciona del grupo que consiste en YW243.55.S70, MPDL3280A y MDX-1105. MDX-1105, también conocido como BMS-936559, es un anticuerpo anti-PD-L1 que se describe en WO2007/005874. El anticuerpo YW243.55.S70 (secuencias de región variable de cadena pesada y ligera que se muestran en las SEQ ID Núms. 20 y 21, respectivamente) es un anti-PD-L1 que se describe en WO 2010/077634 A1. MDX-1106, también conocido como MDX-1106-04, ONO-4538 o BMS-936558, es un anticuerpo anti-PD-1 que se describe en WO2006/121168. Merck 3745, también conocido como MK-3475 o SCH-900475, es un anticuerpo anti-PD-1 que se describe en WO2009/114335. CT-011, también conocido como hBAT o hBAT-

1, es un anticuerpo anti-PD-1 que se describe en WO2009/101611. AMP-224, también conocido como B7-DCIg, es un receptor soluble de fusión PD-L2-Fc que se describe en WO2010/027827 y WO2011/066342.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es MDX-1106. Los nombres alternativos para “MDX-1106” incluyen MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558 o Nivolumab. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es Nivolumab (Número de Registro CAS: 946414-94-4). Incluso en una realización adicional, se proporciona un anticuerpo anti-PD-1 aislado que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:22 y/o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:23. Incluso en una realización adicional, se proporciona un anticuerpo anti-PD-1 aislado que comprende una secuencia de cadena pesada y/o de cadena ligera, donde:

(a) la secuencia de cadena pesada tiene al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de cadena pesada:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWY
DGSK

RYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGT LTV
SSA

STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAV
LQ

SSGLYSLSVVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKR VESKYGPPCPPCPAP
EFL

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT
KPR

EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ
VY

TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FFL

YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:22),
o

(b) la secuencia de cadena ligera tiene al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% de identidad de

secuencia con la secuencia de cadena ligera:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA
TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGGTKVEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ
ID NO:23).

Los ejemplos de anticuerpos anti-PD-L1 útiles para los métodos de esta invención, y los métodos para la elaboración de los mismos se describen en la solicitud de patente PCT WO 2010/077634 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

En algunas realizaciones, el antagonista de unión al eje PD-1 es un anticuerpo anti-PD-L1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es capaz de inhibir la unión entre PD-L1 y PD-1 y/o entre PD-L1 y B7-1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es un anticuerpo monoclonal. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es un fragmento de anticuerpo que se selecciona del grupo que consiste en fragmentos Fab, Fab'-SH, Fv, scFv, y (Fab')₂. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es un anticuerpo humanizado. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es un anticuerpo humano.

Se pueden utilizar los anticuerpos anti-PD-L1 útiles en esta invención, que incluyen composiciones que contienen tales anticuerpos, tales como aquellos que se describen en WO 2010/077634 A1, en combinación con un inhibidor de MEK para tratar un cáncer. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:20 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:21.

En una realización, el anticuerpo anti-PD-L1 contiene una región variable de cadena pesada polipéptido que comprende una secuencia de HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3, donde:

- (a) la secuencia de HVR-H1 es GFTFSX₁SWIH (SEQ ID NO:1);
- (b) la secuencia de HVR-H2 es AWIX₂PYGGSX₃YYADSVKG (SEQ ID NO:2);
- (c) la secuencia de HVR-H3 es RHWPGGFDY (SEQ ID NO:3);

además donde: X₁ es D o G; X₂ es S o L; X₃ es T o S.

En un aspecto específico, X_1 es D; X_2 es S y X_3 es T. En otro aspecto, el polipéptido además comprende secuencias estructurales de región variable de cadena pesada yuxtapuestas entre las HVR de acuerdo con la fórmula: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4). Aún en otro aspecto, las secuencias estructurales están derivadas de secuencias estructurales humanas de consenso. En un aspecto adicional, las secuencias estructurales son estructuras de consenso del subgrupo III VH. Incluso en un aspecto adicional, al menos una de las secuencias estructurales es la siguiente:

HC-FR1 es EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:4)

HC-FR2 es WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:5)

HC-FR3 es RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:6)

HC-FR4 es WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:7).

Incluso en un aspecto adicional, el polipéptido de cadena pesada además se combina con una región variable de cadena ligera que comprende una HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3, donde:

(a) la secuencia de HVR-L1 es RASQX₄X₅X₆TX₇X₈A (SEQ ID NO:8);

(b) la secuencia de HVR-L2 es SASX₉LX₁₀S, (SEQ ID NO:9);

(c) la secuencia de HVR-L3 es QQX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄PX₁₅T (SEQ ID NO:10);

además donde: X_4 es D o V; X_5 es V o I; X_6 es S o N; X_7 es A o F; X_8 es V o L; X_9 es F o T; X_{10} es Y o A; X_{11} es Y, G, F, o S; X_{12} es L, Y, F o W; X_{13} es Y, N, A, T, G, F o I; X_{14} es H, V, P, T o I; X_{15} es A, W, R, P o T.

Incluso en un aspecto adicional, X_4 es D; X_5 es V; X_6 es S; X_7 es A; X_8 es V; X_9 es F; X_{10} es Y; X_{11} es Y; X_{12} es L; X_{13} es Y; X_{14} es H; X_{15} es A. Incluso en un aspecto adicional, la cadena ligera además comprende las secuencias estructurales de región variable de cadena ligera yuxtapuestas entre las HVR de acuerdo con la fórmula: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales están derivadas de secuencias estructurales humanas de consenso. Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales son estructuras de consenso de kappa I de VL. Incluso en un aspecto adicional, al menos una de las secuencias estructurales es la siguiente:

LC-FR1 es DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID

NO:11)

LC-FR2 es WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID

NO:12)

LC-FR3 es GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID

NO:13)

LC-FR4 es FGQGKVEIKR (SEQ ID

NO:14).

En otra realización, se proporciona un anticuerpo anti-PD-L1 aislado o un fragmento de unión a antígeno que comprende una secuencia de región variable de cadena pesada y cadena ligera, donde:

(a) la cadena pesada comprende una HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3, además donde:

(i) la secuencia de HVR-H1 es GFTFSX₁SWIH; (SEQ ID NO:1)

(ii) la secuencia de HVR-H2 es AWIX₂PYGGSX₃YYADSVKG (SEQ ID NO:2)

(iii) la secuencia de HVR-H3 es RHWPGGFDY, y (SEQ ID NO:3)

(b) la cadena ligera comprende una HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3, además donde:

(i) la secuencia de HVR-L1 es RASQX₄X₅X₆TX₇X₈A (SEQ ID NO:8)

(ii) la secuencia de HVR-L2 es SASX₉LX₁₀S; y (SEQ ID NO:9)

(iii) la secuencia de HVR-L3 es QQX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄PX₁₅T; (SEQ ID NO:10)

Además donde: X₁ es D o G; X₂ es S o L; X₃ es T o S; X₄ es D o V; X₅ es V o I; X₆ es S o N; X₇ es A o F; X₈ es V o L; X₉ es F o T; X₁₀ es Y o A; X₁₁ es Y, G, F, o S; X₁₂ es L, Y, F o W; X₁₃ es Y, N, A, T, G, F o I; X₁₄ es H, V, P, T o I; X₁₅ es A, W, R, P o T.

En un aspecto específico, X₁ es D; X₂ es S y X₃ es T. En otro aspecto, X₄ es D; X₅ es V; X₆ es S; X₇ es A; X₈ es V; X₉ es F; X₁₀ es Y; X₁₁ es Y; X₁₂ es L; X₁₃ es Y; X₁₄ es H; X₁₅ es A. Aún en otro aspecto, X₁ es D; X₂ es S y X₃ es T, X₄ es D; X₅ es V; X₆ es S; X₇ es A; X₈ es V; X₉ es F; X₁₀ es Y; X₁₁ es Y; X₁₂ es L; X₁₃ es Y; X₁₄ es H y X₁₅ es A.

En un aspecto adicional, la región variable de cadena pesada comprende

una o más secuencias estructurales yuxtapuestas entre las HVR como: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4), y las regiones variables de cadena ligera comprenden una o más secuencias estructurales yuxtapuestas entre las HVR como: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales están derivadas de secuencias estructurales humanas de consenso. Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales de cadena pesada están derivadas de una secuencia del subgrupo I, II, o III de Kabat. Incluso en un aspecto adicional, la secuencia estructural de cadena pesada es una estructura de consenso del subgrupo III de VH. Incluso en un aspecto adicional, una o más de las secuencias estructurales de cadena pesada es la siguiente:

HC-FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	(SEQ ID NO:4)
HC-FR2	WVRQAPGKGLEWV	(SEQ ID NO:5)
HC-FR3	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	(SEQ ID NO:6)
HC-FR4	WGQGTLVTVSA	(SEQ ID NO:7).

Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales de cadena ligera están derivadas de una secuencia del subgrupo kappa I, II, III o IV de Kabat. Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales de cadena ligera son estructuras de consenso de kappa I de VL. Incluso en un aspecto adicional, una o más de las secuencias estructurales de cadena ligera es la siguiente:

LC-FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	(SEQ ID NO:11)
LC-FR2	WYQQKPGKAPKLLIY	(SEQ ID NO:12)
LC-FR3	GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC	(SEQ ID NO:13)
LC-FR4	FGQGTKVEIKR	(SEQ ID NO:14).

Incluso en un aspecto específico adicional, el anticuerpo además comprende una región constante humana o murina. Incluso en un aspecto adicional, la región constante humana se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4. Incluso en un aspecto específico adicional, la región

constante humana es IgG1. Incluso en un aspecto adicional, la región constante murina se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3. Incluso en un aspecto adicional, la región constante murina es IgG2A. Incluso en un aspecto específico adicional, el anticuerpo tiene una función efectora reducida o mínima. Incluso en un aspecto específico adicional la función efectora mínima resulta de una “mutación Fc no efectora” o aglicosilación. Incluso en una realización adicional, la mutación Fc no efectora es una sustitución N297A o D265A/N297A en la región constante.

Aún en otra realización, se proporciona un anticuerpo anti-PD-L1 que comprende una secuencia de región variable de cadena pesada y cadena ligera, donde:

- (a) la cadena pesada además comprende una secuencia de HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 que tiene al menos 85% de identidad de secuencia con GFTFSDSWIH (SEQ ID NO:15), AWISPYGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:16) y RHWPGGFDY (SEQ ID NO:3), respectivamente, o
- (b) la cadena ligera además comprende una secuencia de HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 que tiene al menos 85% de identidad de secuencia con RASQDVSTAVA (SEQ ID NO:17), SASFLYS (SEQ ID NO:18) y QQYLYHPAT (SEQ ID NO:19), respectivamente.

En un aspecto específico, la identidad de secuencia es de 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%. En otro aspecto, la región variable de cadena pesada comprende una o más secuencias estructurales yuxtapuestas entre las HVR como: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4), y las regiones variables de cadena ligera comprenden una o más secuencias estructurales yuxtapuestas entre las HVR como: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). Aún en otro aspecto, las secuencias estructurales están derivadas de secuencias estructurales humanas de consenso. Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales de cadena pesada están derivadas de una secuencia del subgrupo I, II, o III de Kabat. Incluso en un aspecto adicional, la secuencia estructural de cadena pesada es una estructura de consenso del subgrupo III de VH. Incluso en un aspecto adicional, una o más de las secuencias estructurales de cadena pesada es la siguiente:

HC-FR1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:4)

HC-FR2	WVRQAPGKGLEWV	(SEQ ID NO:5)
HC-FR3	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	(SEQ ID NO:6)
HC-FR4	WGQGTLVTVSA	(SEQ ID NO:7).

Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales de cadena ligera están derivadas de una secuencia del subgrupo kappa I, II, III o IV de Kabat. Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales de cadena ligera son estructuras de consenso de kappa I de VL. Incluso en un aspecto adicional, una o más de las secuencias estructurales de cadena ligera es la siguiente:

LC-FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	(SEQ ID NO:11)
LC-FR2	WYQQKPGKAPKLLIY	(SEQ ID NO:12)
LC-FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	(SEQ ID NO:13)
LC-FR4	FGQGTKVEIKR	(SEQ ID NO:14).

Incluso en un aspecto específico adicional, el anticuerpo además comprende una región constante humana o murina. Incluso en un aspecto adicional, la región constante humana se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4. Incluso en un aspecto específico adicional, la región constante humana es IgG1. Incluso en un aspecto adicional, la región constante murina se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3. Incluso en un aspecto adicional, la región constante murina es IgG2A. Incluso en un aspecto específico adicional, el anticuerpo tiene una función efectora reducida o mínima. Incluso en un aspecto específico adicional la función efectora mínima resulta de una “mutación Fc no efectora” o aglicosilación. Incluso en una realización adicional, la mutación Fc no efectora es una sustitución N297A o D265A/N297A en la región constante.

Incluso en una realización adicional, se proporciona un anticuerpo anti-PD-L1 aislado que comprende una secuencia de región variable de cadena pesada y cadena ligera, donde:

- (a) la secuencia de cadena pesada tiene al menos 85% de identidad de secuencia con la secuencia de cadena pesada:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISP
YGGG

TTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQ
GTLV

TVSA (SEQ ID NO:20), o

(b) la secuencia de cadena ligera tiene al menos 85% de identidad de secuencia con la secuencia de cadena ligera:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAWAYQQKPGKAPKLLIYSASFLY
SG
VPSRFGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:21).

En un aspecto específico, la identidad de secuencia es de 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%. En otro aspecto, la región variable de cadena pesada comprende una o más secuencias estructurales yuxtapuestas entre las HVR como: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4), y las regiones variables de cadena ligera comprende una o más secuencias estructurales yuxtapuestas entre las HVR como: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). Aún en otro aspecto, las secuencias estructurales están derivadas de secuencias estructurales humanas de consenso. En un aspecto adicional, las secuencias estructurales de cadena pesada están derivadas de una secuencia del subgrupo I, II, o III de Kabat. Incluso en un aspecto adicional, la secuencia estructural de cadena pesada es una estructura de consenso del subgrupo III de VH. Incluso en un aspecto adicional, una o más de las secuencias estructurales de cadena pesada es la siguiente:

HC-FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	(SEQ ID NO:4)
HC-FR2	WVRQAPGKGLEWV	(SEQ ID NO:5)
HC-FR3	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	(SEQ ID NO:6)
HC-FR4	WGQGTLVTVSA	(SEQ ID NO:7).

Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales de cadena ligera están derivadas de una secuencia del subgrupo kappa I, II, III o IV de Kabat. Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales de cadena ligera son estructuras de consenso de kappa I de VL. Incluso en un aspecto adicional, una o más de las secuencias estructurales de cadena ligera es la siguiente:

LC-FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	(SEQ ID
--------	-------------------------	---------

NO:11)

LC-FR2 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID

NO:12)

LC-FR3 GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID

NO:13)

LC-FR4 FGQGTKVEIKR (SEQ ID

NO:14).

Incluso en un aspecto específico adicional, el anticuerpo además comprende una región constante humana o murina. Incluso en un aspecto adicional, la región constante humana se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4. Incluso en un aspecto específico adicional, la región constante humana es IgG1. Incluso en un aspecto adicional, la región constante murina se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3. Incluso en un aspecto adicional, la región constante murina es IgG2A. Incluso en un aspecto específico adicional, el anticuerpo tiene una función efectora reducida o mínima. Incluso en un aspecto específico adicional, la función efectora mínima resulta de la producción en células procariotas. Incluso en un aspecto específico adicional la función efectora mínima resulta de una “mutación Fc no efectora” o aglicosilación. Incluso en una realización adicional, la mutación Fc no efectora es una sustitución N297A o D265A/N297A en la región constante.

En otra realización adicional, se proporciona un anticuerpo anti-PD-L1 aislado que comprende una secuencia de región variable de cadena pesada y cadena ligera, donde:

(a) la secuencia de cadena pesada tiene al menos 85% de identidad de secuencia con la secuencia de cadena pesada:EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWV
AW

ISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGG
FDY

WGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:24), o

(b) la secuencia de cadena ligera tiene al menos 85% de identidad de secuencia con la secuencia de cadena ligera:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIY
SASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKV
EIKR (SEQ ID NO:21).

En un aspecto específico, la identidad de secuencia es de 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%. En otro aspecto, la región variable de cadena pesada comprende una o más secuencias estructurales yuxtapuestas entre las HVR como: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4), y las regiones variables de cadena ligera comprenden una o más secuencias estructurales yuxtapuestas entre las HVR como: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). Aún en otro aspecto, las secuencias estructurales están derivadas de secuencias estructurales humanas de consenso. En un aspecto adicional, las secuencias estructurales de cadena pesada están derivadas de una secuencia del subgrupo I, II, o III de Kabat. En un aspecto adicional, la secuencia estructural de cadena pesada es una estructura de consenso del subgrupo III de VH. Incluso en un aspecto adicional, una o más de las secuencias estructurales de cadena pesada es la siguiente:

HC-FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	(SEQ ID NO:4)
HC-FR2	WVRQAPGKGLEWV	(SEQ ID NO:5)
HC-FR3	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	(SEQ ID NO:6)
HC-FR4	WGQGTLVTVSS	(SEQ ID NO:25).

Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales de cadena ligera están derivadas de una secuencia del subgrupo kappa I, II, III o IV de Kabat. Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales de cadena ligera son estructuras de consenso de kappa I de VL. Incluso en un aspecto adicional, una o más de las secuencias estructurales de cadena ligera es la siguiente:

LC-FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	(SEQ ID NO:11)
LC-FR2	WYQQKPGKAPKLLIY	(SEQ ID NO:12)
LC-FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	(SEQ ID NO:13)
LC-FR4	FGQGTKVEIKR	(SEQ ID NO:14).

Incluso en un aspecto específico adicional, el anticuerpo además comprende una región constante humana o murina. Incluso en un aspecto adicional, la región constante humana se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4. Incluso en un aspecto específico adicional, la región

constante humana es IgG1. Incluso en un aspecto adicional, la región constante murina se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3. Incluso en un aspecto adicional, la región constante murina es IgG2A. Incluso en un aspecto específico adicional, el anticuerpo tiene una función efectora reducida o mínima. Incluso en un aspecto específico adicional, la función efectora mínima resulta de la producción en células procariotas. Incluso en un aspecto específico adicional la función efectora mínima resulta de una “mutación Fc no efectora” o aglicosilación. Incluso en una realización adicional, la mutación Fc no efectora es una sustitución N297A o D265A/N297A en la región constante.

Aún en otra realización, el anticuerpo anti-PD-1 es MPDL3280A. Incluso en una realización adicional, se proporciona un anticuerpo anti-PD-1 aislado que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:24 y/o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácido de de SEQ ID NO:25. Incluso en una realización adicional, se proporciona un anticuerpo anti-PD-1 aislado que comprende una secuencia de cadena pesada y/o cadena ligera, donde:

(a) la secuencia de cadena pesada tiene al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de cadena pesada:
 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAVWISP
 YGGS
 TYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQ
 GTLV
 TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
 HTF
 PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
 CP
 PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
 EV
 HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
 KG
 QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
 PVL
 DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ
 ID NO:26), o

(b) la secuencia de cadena ligera tiene al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de cadena ligera:
 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY
 SG
 VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAA
 PS
 VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
 KDS
 TYSLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:27).

Incluso en una realización adicional, la invención proporciona composiciones que comprenden cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1 descritos con anterioridad en combinación con al menos un portador aceptable para uso farmacéutico.

Incluso en una realización adicional, se proporciona un ácido nucleico aislado que codifica una secuencia de región variable de cadena ligera o cadena pesada de un anticuerpo anti-PD-L1, donde:

- (a) la cadena pesada además comprende una secuencia de HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 que tiene al menos 85% de identidad de secuencia con GFTFSDSWIH (SEQ ID NO:15), AWISPYGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:16) y RHWPGGFDY (SEQ ID NO:3), respectivamente, y
- (b) la cadena ligera además comprende una secuencia de HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 que tiene al menos 85% de identidad de secuencia con RASQDVSTAVA (SEQ ID NO:17), SASFLYS (SEQ ID NO:18) y QQYLYHPAT (SEQ ID NO:19), respectivamente.

En un aspecto específico, la identidad de secuencia es de 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%. En otro aspecto, la región variable de cadena pesada comprende una o más secuencias estructurales yuxtapuestas entre las HVR como: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4), y las regiones variables de cadena ligera comprende una o más secuencias estructurales yuxtapuestas entre las HVR como: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). Aún en otro aspecto, las secuencias estructurales están derivadas de secuencias estructurales humanas de consenso. En un aspecto adicional, las secuencias

estructurales de cadena pesada están derivadas de una secuencia del subgrupo I, II, o III de Kabat. Incluso en un aspecto adicional, la secuencia estructural de cadena pesada es una estructura de consenso del subgrupo III de VH. Incluso en un aspecto adicional, una o más de las secuencias estructurales de cadena pesada es la siguiente:

HC-FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	(SEQ ID NO:4)
HC-FR2	WVRQAPGKGLEWV	(SEQ ID NO:5)
HC-FR3	RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	(SEQ ID NO:6)
HC-FR4	WGQGTLVTVSA	(SEQ ID NO:7).

Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales de cadena ligera están derivadas de una secuencia del subgrupo kappa I, II, III o IV de Kabat. Incluso en un aspecto adicional, las secuencias estructurales de cadena ligera son estructuras de consenso de kappa I de VL. Incluso en un aspecto adicional, una o más de las secuencias estructurales de cadena ligera es la siguiente:

LC-FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	(SEQ ID NO:11)
LC-FR2	WYQQKPGKAPKLLIY	(SEQ ID NO:12)
LC-FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	(SEQ ID NO:13)
LC-FR4	FGQGTKVEIKR	(SEQ ID NO:14).

Incluso en un aspecto específico adicional, el anticuerpo descrito en la presente (tal como un anticuerpo anti-PD-1, un anticuerpo anti-PD-L1, o un anticuerpo anti-PD-L2) además comprende una región constante humana o murina. Incluso en un aspecto adicional, la región constante humana se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4. Incluso en un aspecto específico adicional, la región constante humana es IgG1. Incluso en un aspecto adicional, la región constante murina se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3. Incluso en un aspecto adicional, la región constante murina es IgG2A. Incluso en un aspecto específico adicional, el anticuerpo tiene una función efectora reducida o mínima. Incluso en un aspecto específico adicional, la función efectora mínima resulta de la producción en células procariotas. Incluso en un aspecto específico adicional la función efectora mínima

resulta de una “mutación Fc no efectora” o aglicosilación. Incluso en un aspecto adicional, la mutación Fc no efectora es una sustitución N297A o D265A/N297A en la región constante.

Incluso en un aspecto adicional, se proporcionan en la presente ácidos nucleicos que codifican cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente. En algunas realizaciones, el ácido nucleico además comprende un vector adecuado para la expresión del ácido nucleico que codifica cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1, anti-PD-1, o anti-PD-L2 descritos previamente. Incluso en un aspecto específico adicional, el vector además comprende una célula huésped adecuada para la expresión del ácido nucleico. Incluso en un aspecto específico adicional, la célula huésped es una célula eucariota o una célula procariota. Incluso en un aspecto específico adicional, la célula eucariota es una célula de mamífero, tal como Ovario de Hámster Chino (CHO).

El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se puede elaborar por el uso de métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, por medio de un proceso que comprende el cultivo de una célula huésped que contiene ácido nucleico que codifica cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1, anti-PD-1, o anti-PD-L2 descritos previamente o fragmento de unión a antígeno en una forma adecuada para su expresión, bajo condiciones adecuadas para producir tal anticuerpo o fragmento, y la recuperación del anticuerpo o fragmento.

Incluso en una realización adicional, la invención proporciona una composición que comprende un anticuerpo anti-PD-L1, anti-PD-1, o anti-PD-L2 o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con lo proporcionado en la presente y al menos un portador aceptable para uso farmacéutico. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1, anti-PD-1, o anti-PD-L2 o el fragmento de unión a antígeno del mismo que se administra al individuo es una composición que comprende uno o más portadores aceptables para uso farmacéutico. Se puede utilizar cualquiera de los portadores aceptables para uso farmacéutico descritos en la presente o conocidos en la técnica.

Inhibidores de MEK

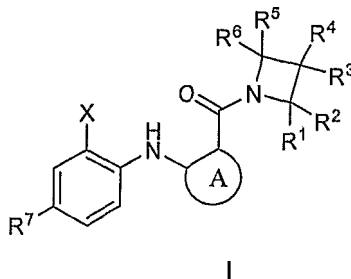
La invención proporciona métodos para tratar el cáncer o demorar la progresión del cáncer en un individuo que comprende administrar una cantidad efectiva de un antagonista de la vía PD-1 y un inhibidor de MEK. Se pretende cualquier inhibidor de MEK conocido, tal como los compuestos inhibidores de MEK que se describen en las solicitudes de patente PCT WO 03/077914 A1, WO 2005/121142 A1, WO 2007/044515 A1, WO 2008/024725 A1 y WO 2009/085983

A1, cuyos contenidos se incorporan como referencia en su totalidad en la presente. El inhibidor de MEK administrado puede ser una composición o formulación farmacéutica. En algunas realizaciones, la composición o formulación farmacéutica comprende uno o más inhibidores de MEK descritos en la presente y un vehículo o excipiente aceptable para uso farmacéutico.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es un inhibidor competitivo de MEK. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es más selectivo contra una activación de mutación de KRAS. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es un inhibidor alostérico de MEK. En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es más selectivo contra una activación de mutación de BRAF (por ej., la mutación BRAF V600E). En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK se une e inhibe la actividad de MEK1 y/o MEK2 (tal como MEK1 humano y/o MEK2 humano).

En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es un compuesto que se selecciona del grupo que consiste en GDC-0973, G-38963, G02443714 (también conocido como “AS703206”), G02442104 (también conocido como “GSK-1120212”), y G00039805 (también conocido como “AZD-6244”), o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es un compuesto de la fórmula (I),



una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde A, X, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , y R^7 son de acuerdo con lo definido en el Grupo A, Grupo B, Grupo C, o el Grupo D:

Grupo A:

A es arileno sustituido en forma opcional con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de R^{10} , R^{12} , R^{14} , R^{16} , y R^{19} donde R^{10} , R^{12} , R^{14} y R^{16} son en forma independiente hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, halo, haloalcoxi, hidroxi, alcoxi, amino, alquilamino, dialquilamino, haloalquilo, $-NHS(O)_2R^8$, $-CN$, $-C(O)R^8$, $-C(O)OR^8$, $-C(O)NR^8R^8$ y $-NR^8C(O)R^8$ y donde R^{19} es hidrógeno, alquilo, o alquenilo;

X es alquilo, halo, haloalquilo, o haloalcoxi;

R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 y R^6 son en forma independiente hidrógeno, halo, nitro, $-NR^8R^{8'}$, $-OR^8$, $-NHS(O)_2R^8$, $-CN$, $-S(O)_mR^8$, $-S(O)_2NR^8R^{8'}$, $-C(O)R^8$, $-C(O)OR^8$, $-C(O)NR^8R^{8'}$, $-NR^8C(O)OR^8$, $-NR^8C(O)NR^8R^{8'}$, $-NR^8C(O)OR^8$, $-NR^8C(O)R^{8'}$, $-CH_2N(R^{25})(NR^{25a}R^{25b})$, $-CH_2NR^{25}C(=NH)(NR^{25a}R^{25b})$, $-CH_2NR^{25}C(=NH)(N(R^{25a})(NO_2))$, $-CH_2NR^{25}C(=NH)(N(R^{25a})(CN))$, $-CH_2NR^{25}C(=NH)(R^{25})$, $-CH_2NR^{25}C(NR^{25a}R^{25b})=CH(NO_2)$, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroarilo, o heterocicloalquilo; donde el alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroarilo, y heterocicloalquilo están sustituidos en forma independiente y opcional con uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete grupos seleccionados en forma independiente de halo, alquilo, haloalquilo, nitro, cicloalquilo sustituido en forma opcional, heterocicloalquilo sustituido en forma opcional, arilo sustituido en forma opcional, arilalquilo sustituido en forma opcional, heteroarilo sustituido en forma opcional, $-OR^8$, $-NR^8R^{8'}$, $-NR^8S(O)_2R^9$, $-CN$, $-S(O)_mR^9$, $-C(O)R^8$, $-C(O)OR^8$, $-C(O)NR^8R^{8'}$, $-NR^8C(O)NR^8R^{8'}$, $-NR^8C(O)OR^8$ y $-NR^8C(O)R^{8'}$; o uno de R^1 y R^2 junto con el carbono al cual están unidos, R^3 y R^4 junto con el carbono al cual están unidos, y R^5 y R^6 junto con el carbono al cual están unidos forman $C(O)$ o $C(=NOH)$;

m es 0, 1, o 2;

R^7 es hidrógeno, halo o alquilo;

cada $R^8, R^{8'}$ y $R^{8''}$ se selecciona en forma independiente de hidrógeno, hidroxilo, alcoxi sustituido en forma opcional, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, heteroarilo, y heterocicloalquilo; donde el alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, heteroarilo, y heterocicloalquilo sustituidos en forma independiente y opcional con uno, dos, tres, cuatro, o cinco grupos seleccionados en forma independiente de alquilo, halo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi sustituido en forma opcional, alcoxialquilo, haloalquilo, carboxi, alcoxicarbonilo, alqueniloxicarbonilo, cicloalquilo sustituido en forma opcional, cicloalquiloxicarbonilo sustituido en forma opcional, arilo sustituido en forma opcional, ariloxi sustituido en forma opcional, ariloxicarbonilo sustituido en forma opcional, arilalquilo sustituido en forma opcional, arilalquiloxi sustituido en forma opcional, arilalquiloxicarbonilo sustituido en forma opcional, nitro, ciano, heterocicloalquilo sustituido en forma opcional, heteroarilo sustituido en forma opcional, $-S(O)R^{31}$ (donde n es 0, 1, o 2 y R^{31} es alquilo sustituido en forma opcional, arilo sustituido en

forma opcional, heterocicloalquilo sustituido en forma opcional, o heteroarilo sustituido en forma opcional), $-\text{NR}^{34}\text{SO}_2\text{R}^{34a}$ (donde R^{34} es hidrógeno o alquilo y R^{34a} es alquilo, alquenilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, o heterocicloalquilo), $-\text{SO}_2\text{NR}^{35}\text{R}^{35a}$ (donde R^{35} es hidrógeno o alquilo y R^{35a} es alquilo, alquenilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, o heterocicloalquilo), $-\text{NR}^{32}\text{C}(\text{O})\text{R}^{32a}$ (donde R^{32} es hidrógeno o alquilo y R^{32a} es alquilo, alquenilo, alcoxi, o cicloalquilo), $-\text{NR}^{30}\text{R}^{30'}$ (donde R^{30} y $\text{R}^{30'}$ son en forma independiente hidrógeno, alquilo, o hidroxialquilo), y $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{33}\text{R}^{33a}$ (donde R^{33} es hidrógeno o alquilo y R^{33a} es alquilo, alquenilo, alquinilo, o cicloalquilo); y

cada R^9 se selecciona en forma independiente de alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, heteroarilo, y heterocicloalquilo; donde el alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, heteroarilo, y heterocicloalquilo sustituidos en forma independiente y opcional con uno, dos, tres, cuatro, o cinco grupos seleccionados de halo, hidroxilo, alquilo, haloalquilo, haloalcoxi, amino, alquilamino, y dialquilamino;

Grupo B:

A es heteroarileno sustituido en forma opcional con uno, dos, tres, o cuatro grupos seleccionados de R^{10} , R^{12} , R^{14} , R^{16} y R^{19} donde R^{10} , R^{12} , R^{14} y R^{16} son en forma independiente hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, halo, haloalcoxi, hidroxilo, alcoxi, ciano, amino, alquilamino, dialquilamino, haloalquilo, alquilsulfonilamino, alquilcarbonilo, alquenilcarbonilo, alcoxycarbonilo, alqueniloxycarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, o alquilcarbonilamino; donde R^{19} es hidrógeno, alquilo, o alquenilo; y donde cada alquilo y alquenilo, ya sea solo o como parte de otro grupo dentro de R^{10} , R^{12} , R^{14} , R^{16} , y R^{19} , está sustituido en forma independiente y opcional con halo, hidroxilo, o alcoxi;

X es alquilo, halo, haloalquilo, o haloalcoxi;

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son en forma independiente hidrógeno, halo, nitro, $-\text{NR}^8\text{R}^{8'}$, $-\text{OR}^8$, $-\text{NHS}(\text{O})_2\text{R}^8$, $-\text{CN}$, $-\text{S}(\text{O})_m\text{R}^8$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^8\text{R}^{8'}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^8$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^8$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^8\text{R}^{8'}$, $-\text{NR}^8\text{C}(\text{O})\text{OR}^{8'}$, $-\text{NR}^8\text{C}(\text{O})\text{NR}^{8'}\text{R}^{8''}$, $-\text{NR}^8\text{C}(\text{O})\text{OR}^{8'}$, $-\text{NR}^8\text{C}(\text{O})\text{R}^{8'}$, $-\text{CH}_2\text{N}(\text{R}^{25})(\text{NR}^{25a}\text{R}^{25b})$, $-\text{CH}_2\text{NR}^{25}\text{C}(=\text{NH})(\text{NR}^{25a}\text{R}^{25b})$, $-\text{CH}_2\text{NR}^{25}\text{C}(=\text{NH})(\text{N}(\text{R}^{25a})(\text{NO}_2))$, $-\text{CH}_2\text{NR}^{25}\text{C}(\text{NH})(\text{N}(\text{R}^{25a})(\text{CN}))$, $-\text{CH}_2\text{NR}^{25}\text{C}(=\text{NH})(\text{R}^{25})$, $-\text{CH}_2\text{NR}^{25}\text{C}(\text{NR}^{25a}\text{R}^{25b})=\text{CH}(\text{NO}_2)$, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroarilo, o heterocicloalquilo, donde el alquilo, alquenilo, alquinilo,

cicloalquilo, heteroarilo, y heterocicloalquilo están sustituidos en forma independiente y opcional con uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete grupos seleccionados en forma independiente de halo, alquilo, haloalquilo, nitro, cicloalquilo sustituido en forma opcional, heterocicloalquilo sustituido en forma opcional, arilo sustituido en forma opcional, arilalquilo sustituido en forma opcional, heteroarilo sustituido en forma opcional, $-OR^8$, $-NR^8R^{8'}$, $-NR^8S(O)_2R^9$, $-CN$, $-S(O)_mR^9$, $-C(O)R^8$, $-C(O)OR^8$, $-C(O)NR^8R^{8'}$, $-NR^8C(O)NR^{8'}R^{8''}$, $-NR^8C(O)OR^8$ y $-NR^8C(O)R^8$; o uno de R^1 y R^2 junto con el carbono al cual están unidos, R^3 y R^4 junto con el carbono al cual están unidos, y R^5 y R^6 junto con el carbono al cual están unidos forman $C(O)$ o $C(=NOH)$;

m es 1 o 2;

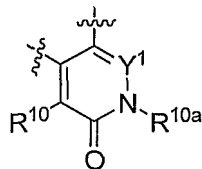
R^7 es hidrógeno, halo o alquilo; y

cada R^8 , $R^{8'}$ y $R^{8''}$ se selecciona en forma independiente de hidrógeno, hidroxilo, alcoxi sustituido en forma opcional, alquilo, haloalquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, heteroarilo, y heterocicloalquilo, donde el alquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, heteroarilo, y heterocicloalquilo sustituidos en forma independiente y opcional con uno, dos, tres, cuatro, o cinco grupos seleccionados en forma independiente de alquilo, halo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi sustituido en forma opcional, alcoxialquilo, haloalquilo, carboxi, carboxiéster, nitro, ciano, $-S(O)_nR^{31}$ (donde n es 0, 1, o 2 y R^{31} es alquilo sustituido en forma opcional, arilo sustituido en forma opcional, cicloalquilo sustituido en forma opcional, heterocicloalquilo sustituido en forma opcional, o heteroarilo sustituido en forma opcional), $-NR^{36}S(O)_2R^{36a}$ (donde R^{36} es hidrógeno, alquilo, o alqueno y R^{36a} es alquilo, alqueno, arilo sustituido en forma opcional, cicloalquilo sustituido en forma opcional, heterocicloalquilo sustituido en forma opcional, o heteroarilo sustituido en forma opcional), $-S(O)_2NR^{37}R^{37a}$ (donde R^{37} es hidrógeno, alquilo, o alqueno y R^{37a} es alquilo, alqueno, arilo sustituido en forma opcional, cicloalquilo sustituido en forma opcional, heterocicloalquilo sustituido en forma opcional, o heteroarilo sustituido en forma opcional), cicloalquilo sustituido en forma opcional, heterocicloalquilo sustituido en forma opcional, arilo sustituido en forma opcional, arilalquilo sustituido en forma opcional, ariloxi sustituido en forma opcional, arilalquilo sustituido en forma opcional, heteroarilo sustituido en forma opcional, $-NHC(O)R^{32}$ (donde R^{32} es alquilo, alqueno, alquino, o cicloalquilo) y $-NR^{30}R^{30'}$ (donde R^{30} y $R^{30'}$ son en forma

independiente hidrógeno, alquilo, o hidroxialquilo), y $-\text{C}(\text{O})\text{NHR}^{33}$ (donde R^{33} es alquilo, alquenilo, alquinilo, o cicloalquilo);

Grupo C:

A es



(a)

donde R^{10} es hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, halo, haloalcoxi, hidroxialcoxi, amino, alquilamino, dialquilamino, haloalquilo, $-\text{NHS}(\text{O})_2\text{R}^8$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^8$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^8$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^8\text{R}^{8'}$ y $-\text{NR}^8\text{C}(\text{O})\text{R}^{8'}$;

R^{10a} es hidrógeno, alquilo, o alquenilo;

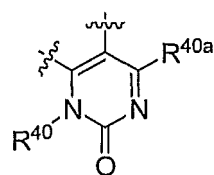
Y^1 es $=\text{CH}-$ o $=\text{N}-$;

X es alquilo, halo, haloalquilo, o haloalcoxi;

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son en forma independiente hidrógeno, halo, nitro, $-\text{NR}^8\text{R}^{8'}$, $-\text{OR}^8$, $-\text{NHS}(\text{O})_2\text{R}^8$, $-\text{CN}$, $-\text{S}(\text{O})_m\text{R}^8$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^8\text{R}^{8'}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^8$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^8$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^8\text{R}^{8'}$, $-\text{NR}^8\text{C}(\text{O})\text{OR}^{8'}$, $-\text{NR}^8\text{C}(\text{O})\text{NR}^{8'}\text{R}^{8''}$, $-\text{NR}^8\text{C}(\text{O})\text{OR}^{8'}$, $-\text{NR}^8\text{C}(\text{O})\text{R}^{8'}$, $-\text{CH}_2\text{N}(\text{R}^{25})\text{NR}^{25a}\text{R}^{25b}$, $\text{CH}_2\text{NR}^{25}\text{C}(=\text{NH})(\text{NR}^{25a}\text{R}^{25b})$, $-\text{CH}_2\text{NR}^{25}\text{C}(=\text{NH})(\text{N}(\text{R}^{25a})(\text{NO}_2))$, $\text{CH}_2\text{NR}^{25}\text{C}(=\text{NH})(\text{N}(\text{R}^{25a})(\text{CN}))$, $-\text{CH}_2\text{NR}^{25}\text{C}(=\text{NH})(\text{R}^{25})$, $\text{CH}_2\text{NR}^{25}\text{C}(\text{NR}^{25a}\text{R}^{25b})=\text{CH}(\text{NO}_2)$, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroarilo, o heterocicloalquilo, donde el alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroarilo, y heterocicloalquilo están sustituidos en forma independiente y opcional con uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete grupos seleccionados en forma independiente de halo, alquilo, haloalquilo, nitro, cicloalquilo sustituido en forma opcional, heterocicloalquilo sustituido en forma opcional, arilo sustituido en forma opcional, arilalquilo sustituido en forma opcional, heteroarilo sustituido en forma opcional, $-\text{OR}^8$, $-\text{NR}^8\text{R}^{8'}$, $-\text{NR}^8\text{S}(\text{O})_2\text{R}^9$, $-\text{CN}$, $-\text{S}(\text{O})_m\text{R}^9$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^8$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^8$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^8\text{R}^{8'}$, $-\text{NR}^8\text{C}(\text{O})\text{NR}^{8'}\text{R}^{8''}$, $-\text{NR}^8\text{C}(\text{O})\text{OR}^{8'}$ y $-\text{NR}^8\text{C}(\text{O})\text{R}^{8'}$; o uno de R^1 y R^2 junto con el carbono al cual están unidos, R^3 y R^4 junto con el carbono al cual están unidos, y R^5 y R^6 junto con el carbono al cual están unidos forman $\text{C}(\text{O})$ o $\text{C}(\text{NOH})$;

m es 1 o 2;

R^7 es hidrógeno, halo o alquilo; y



(c)

R^{40} y R^{40a} son en forma independiente hidrógeno o alquilo;

X es alquilo, halo, haloalquilo, o haloalcoxi;

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son en forma independiente hidrógeno, halo, nitro, $-NR^8R^{8'}$, $-OR^8$, $-NHS(O)_2R^8$, $-CN$, $-S(O)_mR^8$, $-S(O)_2NR^8R^{8'}$, $-C(O)R^8$, $-C(O)OR^8$, $-C(O)NR^8R^{8'}$, $-NR^8C(O)OR^8$, $-NR^8C(O)NR^8R^{8''}$, $-NR^8C(O)OR^8$, $-NR^8C(O)R^8$, $-CH_2N(R^{25})(NR^{25a}R^{25b})$, $-CH_2NR^{25}C(=NH)(NR^{25a}R^{25b})$, $-CH_2NR^{25}C(=NH)(N(R^{25a})(NO_2))$, $-CH_2NR^{25}C(=NH)(N(R^{25a})(CN))$, $-CH_2NR^{25}C(=NH)(R^{25})$, $-CH_2NR^{25}C(NR^{25a}R^{25b})=CH(NO_2)$, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroarilo, o heterocicloalquilo, donde el alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroarilo, y heterocicloalquilo están sustituidos en forma independiente y opcional con uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete grupos seleccionados en forma independiente de halo, alquilo, haloalquilo, nitro, cicloalquilo sustituido en forma opcional, heterocicloalquilo sustituido en forma opcional, arilo sustituido en forma opcional, arilalquilo sustituido en forma opcional, heteroarilo sustituido en forma opcional, $-OR^8$, $-NR^8R^{8'}$, $-NR^8S(O)_2R^9$, $-CN$, $-S(O)_mR^9$, $-C(O)R^8$, $-C(O)OR^8$, $-C(O)NR^8R^{8'}$, $-NR^8C(O)NR^8R^{8''}$, $-NR^8C(O)OR^8$ y $-NR^8C(O)R^8$; o uno de R^1 y R^2 junto con el carbono al cual están unidos, R^3 y R^4 junto con el carbono al cual están unidos, y R^5 y R^6 junto con el carbono al cual están unidos forman $C(O)$ o $C(NOH)$;

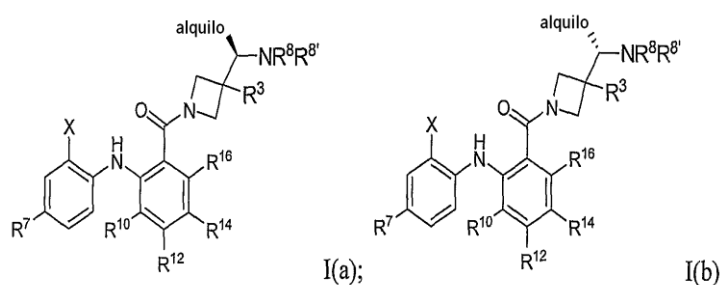
m es 1 o 2;

R^7 es hidrógeno, halo o alquilo; y

R^8 , $R^{8'}$ y $R^{8''}$ se seleccionan en forma independiente de hidrógeno, hidroxilo, alcoxi sustituido en forma opcional, alquilo, haloalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, heteroarilo, y heterocicloalquilo, donde el alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, heteroarilo, y heterocicloalquilo sustituidos en forma independiente y opcional con uno, dos, tres, cuatro, o cinco grupos seleccionados en forma independiente de alquilo, halo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi sustituido en forma opcional, alcoxialquilo, haloalquilo, carboxi, carboxiéster, nitro, ciano, $-S(O)_nR^{31}$ (donde n es 0, 1, o 2 y R^{31} es alquilo sustituido en forma opcional, arilo sustituido en forma opcional,

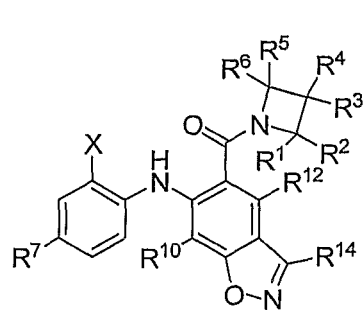
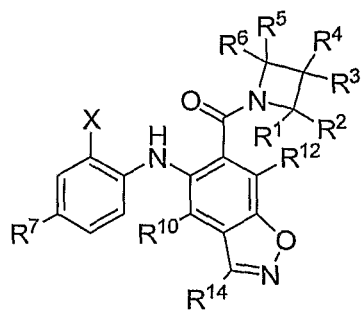
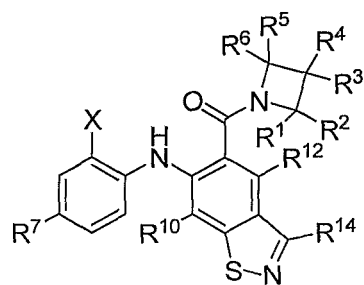
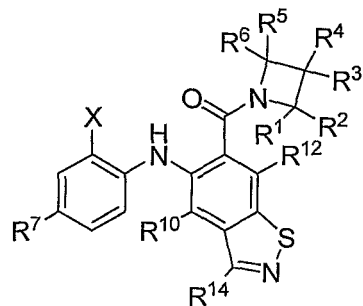
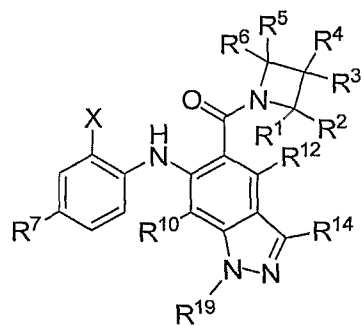
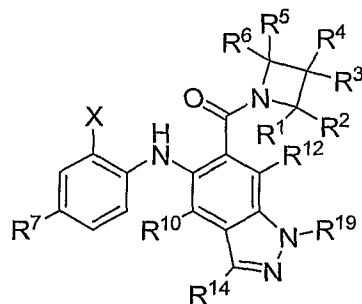
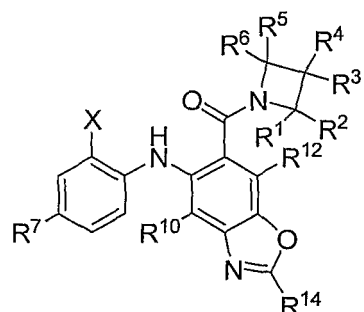
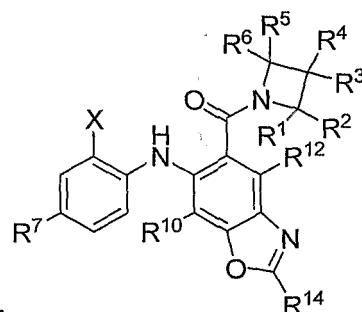
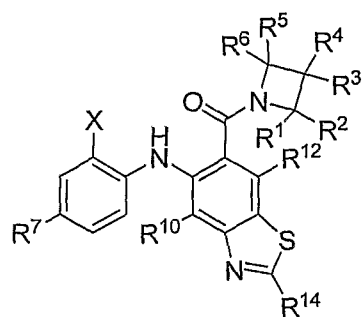
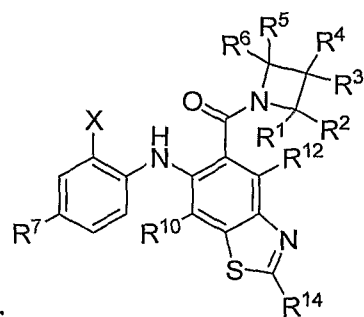
cicloalquilo sustituido en forma opcional, heterocicloalquilo sustituido en forma opcional, o heteroarilo sustituido en forma opcional), $-\text{NR}^{36}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{36a}$ (donde R^{36} es hidrógeno, alquilo, o alquenil y R^{36a} es alquilo, alquenilo, arilo sustituido en forma opcional, cicloalquilo sustituido en forma opcional, heterocicloalquilo sustituido en forma opcional, o heteroarilo sustituido en forma opcional), $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{37}\text{R}^{37a}$ (donde R^{37} es hidrógeno, alquilo, o alquenil y R^{37a} es alquilo, alquenilo, arilo sustituido en forma opcional, cicloalquilo sustituido en forma opcional, heterocicloalquilo sustituido en forma opcional, o heteroarilo sustituido en forma opcional), cicloalquilo sustituido en forma opcional, heterocicloalquilo sustituido en forma opcional, arilo sustituido en forma opcional, arilalquilo sustituido en forma opcional, ariloxi sustituido en forma opcional, arilalquiloxi sustituido en forma opcional, heteroarilo sustituido en forma opcional, $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{32}$ (donde R^{32} es alquilo, alquenilo, alcoxi, o cicloalquilo) y $-\text{NR}^{30}\text{R}^{30'}$ (donde R^{30} y $\text{R}^{30'}$ son en forma independiente hidrógeno, alquilo, o hidroxialquilo), y $-\text{C}(\text{O})\text{NHR}^{33}$ (donde R^{33} es alquilo, alquenilo, alquinilo, o cicloalquilo).

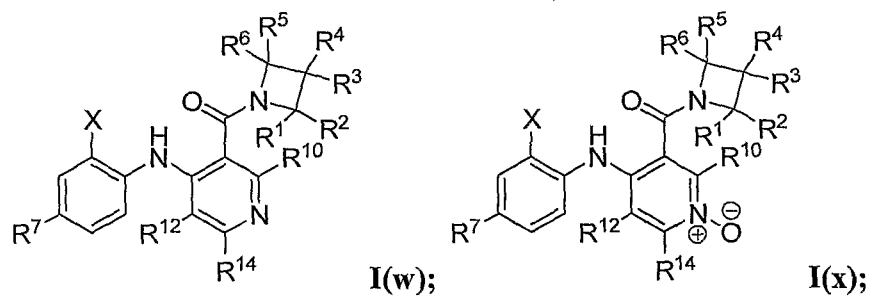
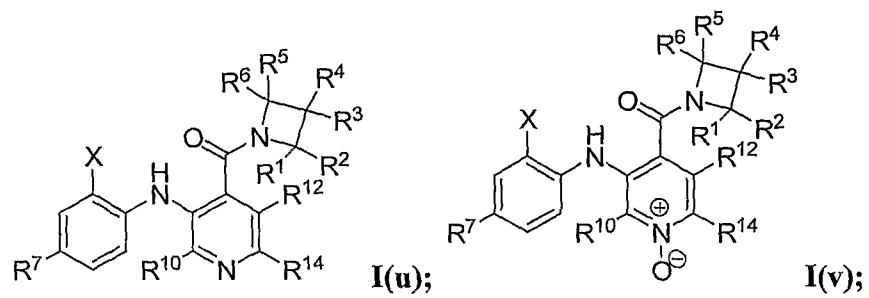
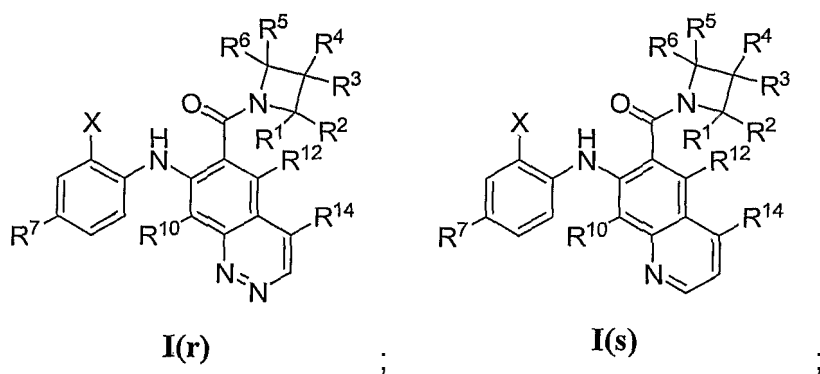
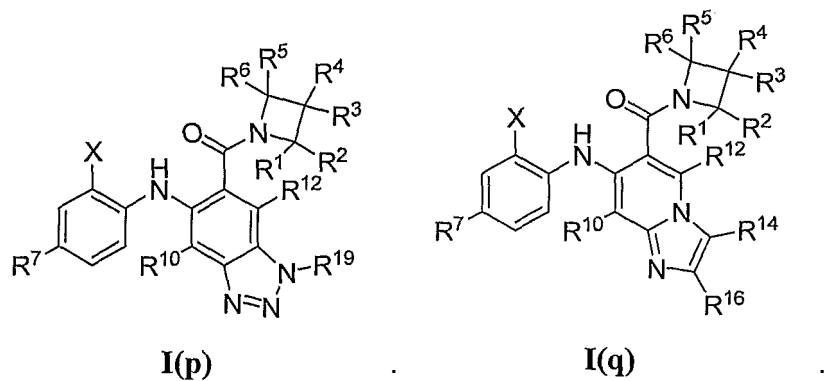
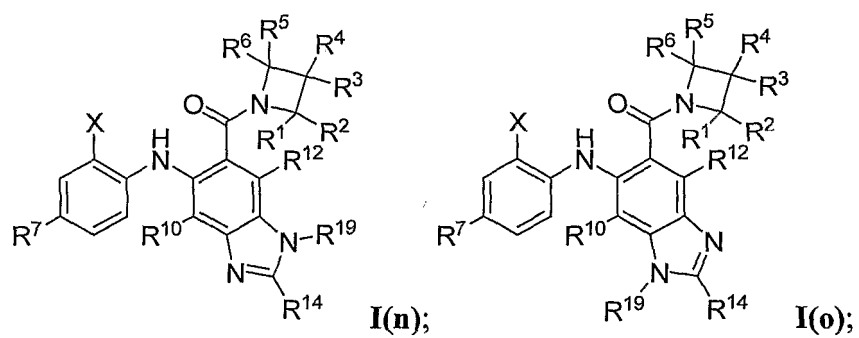
En algunas variaciones, el compuesto inhibidor de MEK de la fórmula (I) es un compuesto del Grupo A, que tiene la fórmula I(a) o I(b):

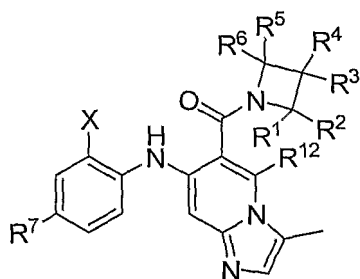


o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde las variables son de acuerdo con lo definido para la fórmula (I), Grupo A, o de acuerdo con lo definido en WO 2007/044515 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

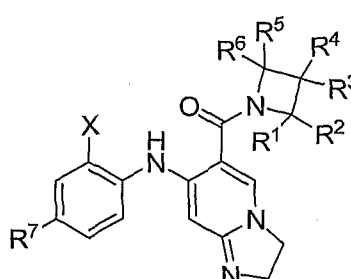
En algunas variaciones, el compuesto inhibidor de MEK de la fórmula (I) es un compuesto del Grupo B, que tiene la fórmula I(c), I(d), I(e), I(f), I(g), I(h), I(i), I(j), I(k), I(m), I(n), I(o), I(p), I(q), I(r), I(s), I(u), I(v), I(w), I(x), I(cc) o I(dd):

**I(c);****I(d);****I(e);****I(f);****I(g);****I(h);****I(i);****I(j);****I(k);****I(m);**



**I(cc)**

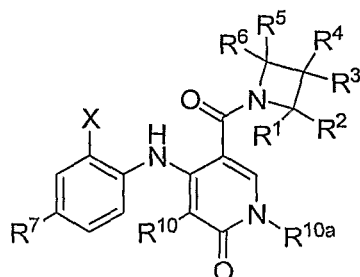
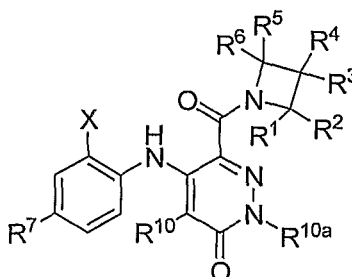
o

**I(dd)**

;

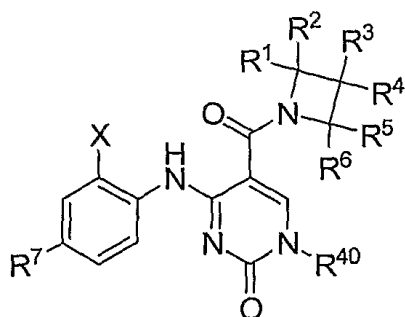
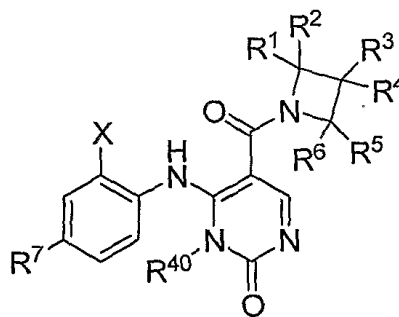
o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde las variables son de acuerdo con lo definido para la fórmula (I), Grupo B, o de acuerdo con lo definido en WO 2007/044515 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

En algunas variaciones, el compuesto inhibidor de MEK de la fórmula (I) es un compuesto del Grupo C, que tiene la fórmula I(y) o I(z):

**I(y);****I(z)**

o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde las variables son de acuerdo con lo definido para la fórmula (I), Grupo C, o de acuerdo con lo definido en WO 2007/044515 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

En algunas variaciones, el compuesto inhibidor de MEK de la fórmula (I) es un compuesto del Grupo D, que tiene la fórmula I(aa) o I(bb):

**I(aa) o****I(bb)**

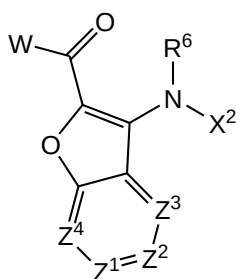
o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde las variables son de acuerdo con lo definido para la fórmula (I), Grupo D, o de acuerdo con lo definido en WO 2007/044515 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

En algunas realizaciones, el compuesto inhibidor de MEK de la fórmula (I) es un compuesto que se selecciona del compuesto Núms. 1-362 de acuerdo con lo enumerado en WO 2007/044515 A1, Tabla 1 en las páginas 71 a 144 (denominado en forma colectiva en la presente la Especie de la fórmula I), o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo.

También se abarca cualquier variación de la fórmula (I) de acuerdo con lo descrito en WO 2007/044515 A1, que se incorpora como referencia en la presente. Los compuestos de la fórmula (I) o cualquier variación de los mismos se pueden sintetizar por el uso de métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, los métodos sintéticos que se describen en WO 2007/044515 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

A menos que se defina lo contrario en la presente, se debe comprender que los términos que se utilizan para describir los compuestos de la fórmula (I) tienen el mismo significado que lo definido en WO 2007/044515 A1.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es un compuesto de la fórmula (II):



(II)

o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde:

Z^1 es CR^1 o N;

Z^2 es CR^2 o N;

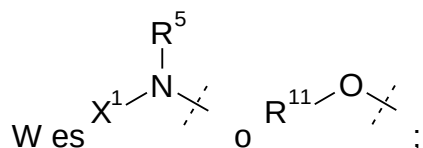
Z^3 es CR^3 o N;

Z^4 es CR^4 o N;

donde uno o dos de Z^1 , Z^2 , Z^3 , y Z^4 son N;

R^1 , R^2 , R^3 y R^4 se seleccionan en forma independiente de H, halo, CN, CF_3 , $-OCF_3$, $-NO_2$, $-(CR^{14}R^{15})_nC(=Y)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nC(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nC(=Y)NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_nNR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_nOR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nSR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nNR^{12}C(=Y)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nNR^{12}C(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nNR^{13}C(=Y)NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_nNR^{12}SO_2R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nOC(=Y)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nOC(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nOC(=Y)NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_nOS(O)_2(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_nOP(=Y)(OR^{11})(OR^{12})$, $-(CR^{14}R^{15})_nOP(OR^{11})(OR^{12})$,

$-(CR^{14}R^{15})_nS(O)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nS(O)_2R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nS(O)_2NR^{11}R^{12}$,
 $-(CR^{14}R^{15})_nS(O)(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_nS(O)_2(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_nSC(=Y)R^{11}$,
 $-(CR^{14}R^{15})_nSC(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nSC(=Y)NR^{11}R^{12}$, alquilo C_1-C_{12} , alquenilo
 C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 , carbociclilo, heterociclilo, arilo, y heteroarilo;



R^5 y R^6 se seleccionan en forma independiente de H o alquilo C_1-C_{12} ;

X^1 se selecciona de R^{11} , $-OR^{11}$, $-NR^{11}R^{12}$, $-S(O)R^{11}$, y $-S(O)_2R^{11}$; cuando
 X^1 es R^{11} u $-OR^{11}$, R^{11} u $-OR^{11}$ de X^1 y $-R^5$ se toman en forma opcional junto con
 el átomo de nitrógeno al cual están adjuntos para formar un anillo saturado o no
 saturado de 4 a 7 miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales
 seleccionados de O, S y N, donde dicho anillo está sustituido en forma opcional
 con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, CF_3 , $-OCF_3$, $-NO_2$, oxo, -
 $Si(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-(CR^{19}R^{20})_nC(=Y')R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_nC(=Y')OR^{16}$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nC(=Y')NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_nNR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_nOR^{16}$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nSR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_nNR^{16}C(=Y')R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_nNR^{16}C(=Y')OR^{17}$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nNR^{16}C(=Y')NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_nNR^{17}SO_2R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_nOC(=Y')R^{16}$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nOC(=Y')OR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_nOC(=Y')NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_nOS(O)_2(OR^{16})$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nOP(=Y')(OR^{16})(OR^{17})$, $-(CR^{19}R^{20})_nOP(OR^{16})(OR^{17})$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nS(O)R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_nS(O)_2R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_nS(O)_2NR^{16}R^{17}$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nS(O)(OR^{16})$, $-(CR^{19}R^{20})_nS(O)_2(OR^{16})$, $-(CR^{19}R^{20})_nSC(=Y')R^{16}$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nSC(=Y')OR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_nSC(=Y')NR^{16}R^{17}$, y R^{21} ;

X^2 se selecciona de carbociclilo, heterociclilo, arilo, y heteroarilo;

R^{11} , R^{12} y R^{13} son en forma independiente H, alquilo C_1-C_{12} , alquenilo
 C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 , carbociclilo, heterociclilo, arilo, o heteroarilo,

o R^{11} y R^{12} junto con el nitrógeno al cual están adjuntos forman un anillo
 saturado, no saturado o aromático de 3 a 8 miembros que tiene de 0 a 2
 heteroátomos seleccionados de O, S y N, donde dicho anillo está sustituido en
 forma opcional con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, CF_3 , $-OCF_3$,
 $-NO_2$, alquilo C_1-C_6 , $-OH$, $-SH$, $-O(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-S(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NH_2$,
 $-NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-SO_2(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-CO_2H$, $-CO_2(\text{alquilo } C_1-C_6)$,
 $-C(O)NH_2$, $-C(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-C(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-N(\text{alquil } C_1-C_6)C(O)(\text{alquilo } C_1-C_6)$,
 $-NHC(O)(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHSO_2(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-N(\text{alquilo } C_1-C_6)$

C_1-C_6)SO₂(alquilo C_1-C_6), –SO₂NH₂, –SO₂NH(alquilo C_1-C_6), –SO₂N(alquilo C_1-C_6)₂, –OC(O)NH₂, –OC(O)NH(alquilo C_1-C_6), –OC(O)N(alquilo C_1-C_6)₂, –OC(O)O(alquilo C_1-C_6), –NHC(O)NH(alquilo C_1-C_6), –NHC(O)N(alquilo C_1-C_6)₂, –N(alquil C_1-C_6)C(O)NH(alquilo C_1-C_6), –N(alquil C_1-C_6)C(O)N(alquilo C_1-C_6)₂, –NHC(O)NH(alquilo C_1-C_6), –NHC(O)N(alquilo C_1-C_6)₂, –NHC(O)O(alquilo C_1-C_6), y –N(alquil C_1-C_6)C(O)O(alquilo C_1-C_6);

R^{14} y R^{15} se seleccionan en forma independiente de H, alquilo C_1-C_{12} , arilo, carbociclilo, heterociclilo, y heteroarilo;

m y n se seleccionan en forma independiente de 0, 1, 2, 3, 4, 5, o 6;

Y es en forma independiente O, NR^{11} , o S;

donde alquilo, alqueno, alquino, carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , X^1 , X^2 , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} , y R^{15} están sustituidos en forma independiente y opcional con uno o más grupos seleccionados en forma independiente de halo, CN, CF₃, –OCF₃, –NO₂, oxo, –Si(alquilo C_1-C_6), –(CR¹⁹R²⁰)_nC(=Y')R¹⁶, –(CR¹⁹R²⁰)_nC(=Y')OR¹⁶, –(CR¹⁹R²⁰)_nC(=Y')NR¹⁶R¹⁷, –(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁶R¹⁷, –(CR¹⁹R²⁰)_nOR¹⁶, –(CR¹⁹R²⁰)_n–SR¹⁶, –(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁶C(=Y')R¹⁷, –(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁶C(=Y')OR¹⁷, –(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁸C(=Y')NR¹⁶R¹⁷, –(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁷SO₂R¹⁶, –(CR¹⁹R²⁰)_nOC(=Y')R¹⁶, –(CR¹⁹R²⁰)_nOC(=Y')OR¹⁶, –(CR¹⁹R²⁰)_nOC(=Y')NR¹⁶R¹⁷, –(CR¹⁹R²⁰)_nOS(O)₂(OR¹⁶), –(CR¹⁹R²⁰)_nOP(=Y')(OR¹⁶)(OR¹⁷), –(CR¹⁹R²⁰)_nOP(OR¹⁶)(OR¹⁷), –(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)R¹⁶, –(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)₂R¹⁶, –(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)₂NR¹⁶R¹⁷, –(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)(OR¹⁶), –(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)₂(OR¹⁶), –(CR¹⁹R²⁰)_nSC(=Y')R¹⁶, –(CR¹⁹R²⁰)_nSC(=Y')OR¹⁶, –(CR¹⁹R²⁰)_nSC(=Y')NR¹⁶R¹⁷, y R^{21} ;

cada R^{16} , R^{17} y R^{18} es en forma independiente H, alquilo C_1-C_{12} , alqueno C_2-C_8 , alquino C_2-C_8 , carbociclilo, heterociclilo, arilo, o heteroarilo, donde dicho alquilo, alqueno, alquino, carbociclilo, heterociclilo, arilo, o heteroarilo está sustituido en forma opcional con uno o más grupos seleccionados de halo, oxo, CN, –OCF₃, CF₃, –NO₂, alquilo C_1-C_6 , –OH, –SH, –O(alquilo C_1-C_6), –S(alquilo C_1-C_6), –NH₂, –NH(alquilo C_1-C_6), –N(alquilo C_1-C_6)₂, –SO₂(alquilo C_1-C_6), –CO₂H, –CO₂(alquilo C_1-C_6), –C(O)NH₂, –C(O)NH(alquilo C_1-C_6), –C(O)N(alquilo C_1-C_6)₂, –N(alquil C_1-C_6)C(O)(alquilo C_1-C_6), –NHC(O)(alquilo C_1-C_6), –NHSO₂(alquilo C_1-C_6), –N(alquilo C_1-C_6)SO₂(alquilo C_1-C_6), –SO₂NH₂, –SO₂NH(alquilo C_1-C_6), –SO₂N(alquilo C_1-C_6)₂, –OC(O)NH₂, –OC(O)NH(alquilo C_1-C_6), –OC(O)N(alquilo C_1-C_6)₂, –OC(O)O(alquilo C_1-C_6), –NHC(O)NH(alquilo C_1-C_6), –NHC(O)N(alquilo

$C_1-C_6)_2$, $-N(\text{alquil } C_1-C_6)C(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-N(\text{alquil } C_1-C_6)C(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-NHC(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHC(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-NHC(O)O(\text{alquilo } C_1-C_6)$, y $-N(\text{alquil } C_1-C_6)C(O)O(\text{alquilo } C_1-C_6)$;

o R^{16} y R^{17} junto con el nitrógeno al cual están adjuntos forman un anillo saturado, no saturado o aromático de 3 a 8 miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos seleccionados de O, S y N, donde dicho anillo está sustituido en forma opcional con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, $-OCF_3$, CF_3 , $-NO_2$, alquilo C_1-C_6 , $-OH$, $-SH$, $-O(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-S(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NH_2$, $-NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-SO_2(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-CO_2H$, $-CO_2(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-C(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-N(\text{alquil } C_1-C_6)C(O)(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHC(O)(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHSO_2(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-N(\text{alquil } C_1-C_6)SO_2(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-SO_2N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-OC(O)NH_2$, $-OC(O)NH(C_1 \text{ alquilo } C_6)$, $-OC(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-OC(O)O(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHC(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHC(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-N(\text{alquil } C_1-C_6)C(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-N(\text{alquil } C_1-C_6)C(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-NHC(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHC(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-NHC(O)O(\text{alquilo } C_1-C_6)$, y $-N(\text{alquil } C_1-C_6)C(O)O(\text{alquilo } C_1-C_6)$;

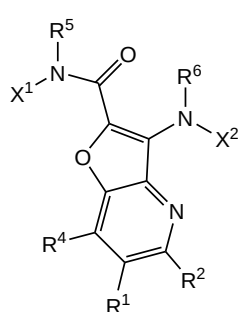
R^{19} y R^{20} se seleccionan en forma independiente de H, alquilo C_1-C_{12} , $-(CH_2)_n\text{-arilo}$, $-(CH_2)_n\text{-carbociclilo}$, $-(CH_2)_n\text{-heterociclilo}$, y $-(CH_2)_n\text{-heteroarilo}$;

R^{21} es alquilo C_1-C_{12} , alqueno C_2-C_8 , alquino C_2-C_8 , carbociclilo, heterociclilo, arilo, o heteroarilo, donde cada miembro de R^{21} está sustituido en forma opcional con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, $-OCF_3$, CF_3 , $-NO_2$, alquilo C_1-C_6 , $-OH$, $-SH$, $-O(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-S(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NH_2$, $-NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-SO_2(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-CO_2H$, $-CO_2(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-C(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-N(\text{alquil } C_1-C_6)C(O)(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHC(O)(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHSO_2(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-N(\text{alquilo } C_1-C_6)SO_2(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-SO_2N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-OC(O)NH_2$, $-OC(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-OC(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-OC(O)O(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHC(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHC(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-N(\text{alquil } C_1-C_6)C(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-N(\text{alquil } C_1-C_6)C(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-NHC(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHC(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-NHC(O)O(\text{alquilo } C_1-C_6)$, y $-N(\text{alquil } C_1-C_6)C(O)O(\text{alquilo } C_1-C_6)$;

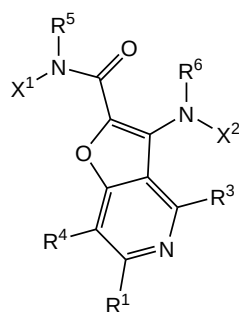
cada Y' es en forma independiente O, NR^{22} , o S; y

R^{22} es H o alquilo C_1-C_{12} .

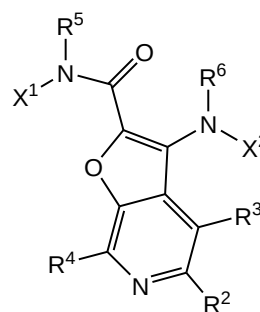
En algunas variaciones, el compuesto inhibidor de MEK de la fórmula (II) es un compuesto de la fórmula (II-1-a), (II-1-b), (II-1-c), (II-1-d), (II-1-e), (II-1-f), (II-1-g), (II-1-h), (II-1-i), (II-2-a), (II-2-b), (II-2-c), (II-2-d), (II-2-e), (II-2-f), (II-2-g), (II-2-h), (II-2-i), (II-3-a), (II-3-b), (II-3-c), (II-3-d), (II-3-e), (II-3-f), (II-3-g), (II-3-h), o (II-3-i):



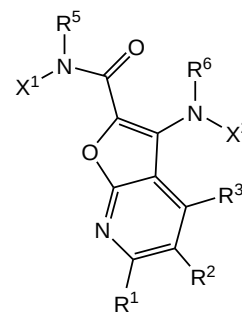
II-1-a



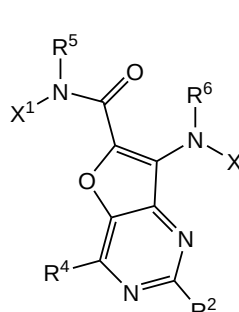
II-1-b



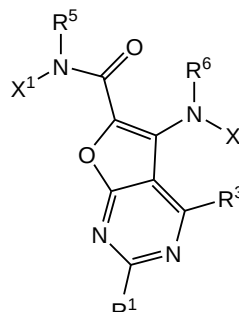
II-1-c



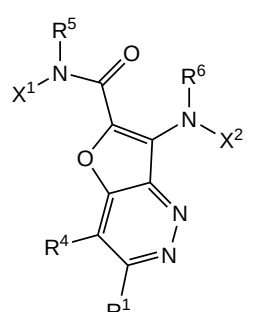
II-1-d



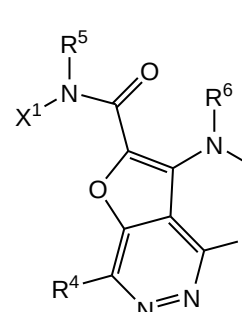
II-1-e



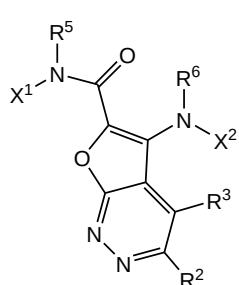
II-1-f



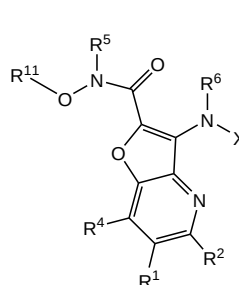
II-1-g



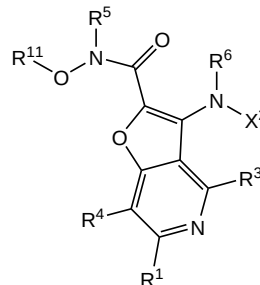
II-1-h



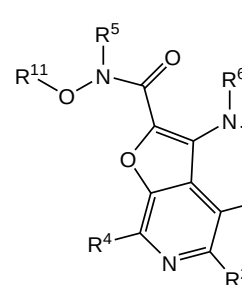
II-1-i



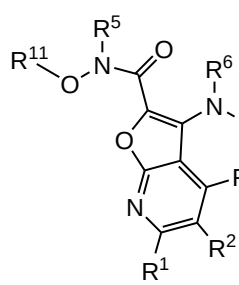
II-2-a



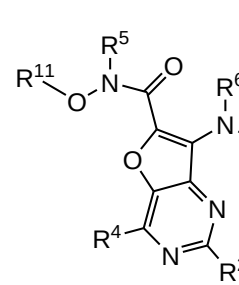
II-2-b



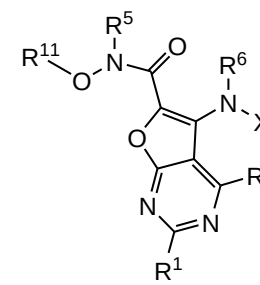
II-2-c



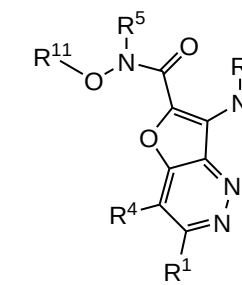
II-2-d



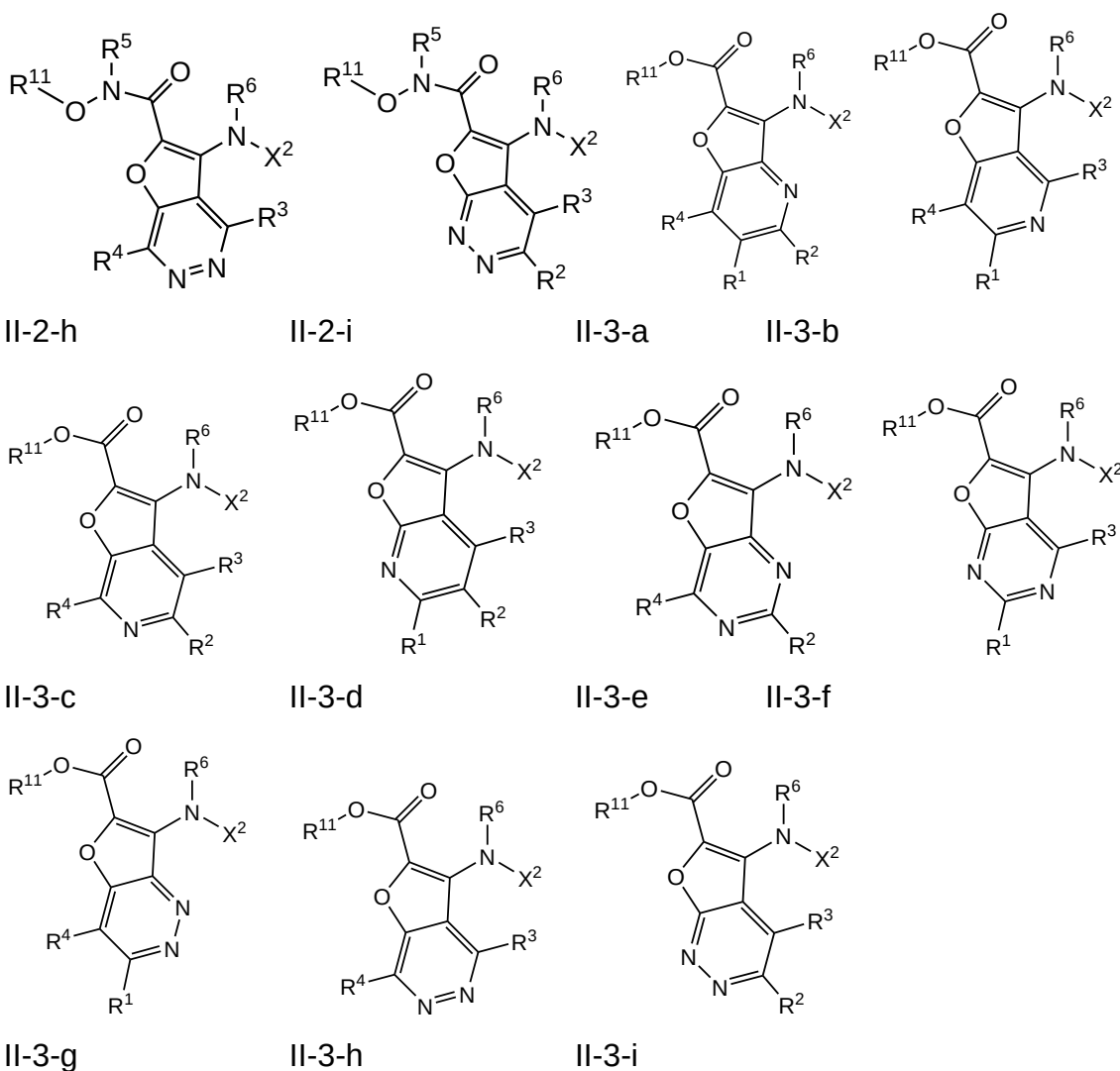
II-2-e



II-2-f



II-2-g



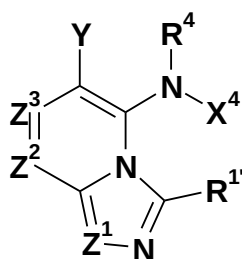
o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde las variables son de acuerdo con lo definido para la fórmula (II) o de acuerdo con lo definido en WO 2008/024725 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

En algunas realizaciones, el compuesto inhibidor de MEK de la fórmula (II) es un compuesto seleccionado de los compuestos de los Ejemplos 5 a 18, 20 a 102, 105 a 109, 111 a 118, 120 a 133, 136 a 149 y 151 a 160 en WO 2008/024725 A1 (denominado en forma colectiva en la presente la Especie de la fórmula II), o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo. Estos compuestos exhibieron un IC_{50} menor que 10 μM en el ensayo que se describe ya sea en el Ejemplo 8a u 8b (ensayos de actividad de MEK). La mayor parte de estos compuestos exhibieron un IC_{50} menor que 5 μM . Véase la página 62 en WO 2008/024725 A1.

También se abarcan compuestos inhibidores de MEK (y/o solvatos y sales de los mismos) que se describe en WO 2008/024725 A1, que se incorpora como

referencia en la presente, por ejemplo, compuestos de aza-benzofurano de la fórmula (II) (designados como la fórmula I en WO 2008/024725 A1, por ej., en la página 3) y variaciones de los mismos de acuerdo con lo descrito en WO 2008/024725 A1. Los compuestos de la fórmula (II) se pueden sintetizar por el uso de métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, los métodos sintéticos que se describen en WO 2008/024725 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es un compuesto de la fórmula (III):



(III)

o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde:

Z^1 es CR^1 o N;

R^1 es H, C_1 - C_3 alquilo, halo, CF_3 , CHF_2 , CN, OR^A o $NR^A R^A$;

$R^{1'}$ es H, C_1 - C_3 alquilo, halo, CF_3 , CHF_2 , CN, OR^A , o $NR^A R^A$;

donde cada R^A es en forma independiente H o C_1 - C_3 alquilo;

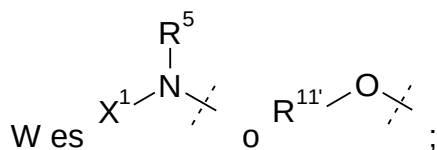
Z^2 es CR^2 o N;

Z^3 es CR^3 o N; con la condición de que sólo uno de Z^1 , Z^2 y Z^3 puede ser N al mismo tiempo;

R^2 y R^3 se seleccionan en forma independiente de H, halo, CN, CF_3 , $-OCF_3$, $-NO_2$, $-(CR^{14}R^{15})_n C(=Y')R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n C(=Y')OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n C(=Y')NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n SR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{12}C(=Y')R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{12}C(=Y')OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{13}C(=Y')NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{12}SO_2R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OC(=Y')R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OC(=Y')OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OC(=Y')NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OS(O)_2(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_n OP(=Y')(OR^{11})(OR^{12})$, $-(CR^{14}R^{15})_n OP(OR^{11})(OR^{12})$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)_2R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)_2NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)_2(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_n SC(=Y')R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n SC(=Y')OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n SC(=Y')NR^{11}R^{12}$, alquilo C_1 - C_{12} , alqueno C_2 - C_8 , alquinilo C_2 - C_8 , carbociclilo, heterociclilo, arilo, y heteroarilo;

R^4 es H, alquilo C_1 - C_6 o carbociclilo C_3 - C_4 ;

Y es W-C(O)- o W';



R⁵ es H o alquilo C₁-C₁₂;

X¹ se selecciona de R^{11'} y -OR^{11'}; cuando X¹ es R^{11'}, X¹ se toma en forma opcional junto con R⁵ y el átomo de nitrógeno al cual están adjuntos para formar un anillo saturado o no saturado de 4 a 7 miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales seleccionados de O, S y N, donde dicho anillo está sustituido en forma opcional con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, CF₃, -OCF₃, -NO₂, oxo, -(CR¹⁹R²⁰)_nC(=Y')R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nC(=Y')OR¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nC(=Y')NR¹⁶R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁶R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nOR¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_n-SR¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁶C(=Y')R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁶C(=Y')OR¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁸C(=Y')NR¹⁶R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁷SO₂R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nOC(=Y')R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nOC(=Y')OR¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nOC(=Y')NR¹⁶R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nOS(O)₂(OR¹⁶), -(CR¹⁹R²⁰)_nOP(=Y')(OR¹⁶)(OR¹⁷), -(CR¹⁹R²⁰)_nOP(OR¹⁶)(OR¹⁷), -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)₂R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)₂NR¹⁶R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)(OR¹⁶), -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)₂(OR¹⁶), -(CR¹⁹R²⁰)_nSC(=Y')R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nSC(=Y')OR¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nSC(=Y')NR¹⁶R¹⁷, y R²¹;

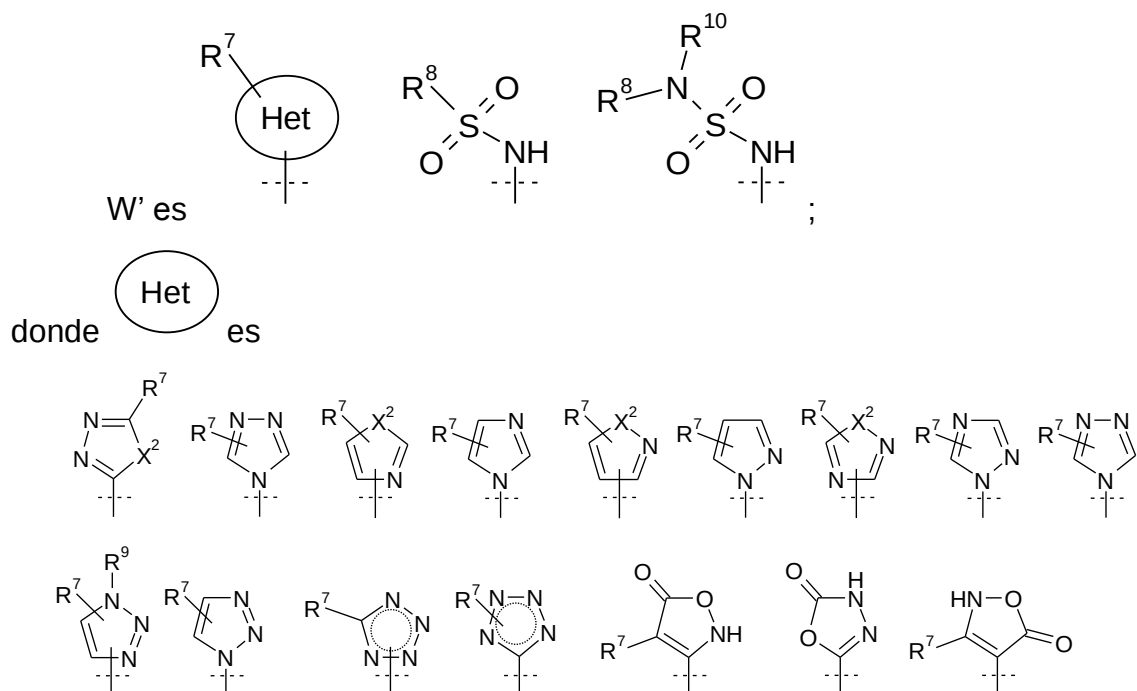
cada R^{11'} es en forma independiente H, alquilo C₁-C₁₂, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, carbociclilo, heterociclilo, arilo, o heteroarilo;

R¹¹, R¹² y R¹³ son en forma independiente H, alquilo C₁-C₁₂, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, carbociclilo, heterociclilo, arilo, o heteroarilo,

o R¹¹ y R¹² junto con el nitrógeno al cual están adjuntos forman un anillo saturado, no saturado o aromático de 3 a 8 miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos seleccionados de O, S y N, donde dicho anillo está sustituido en forma opcional con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, CF₃, -OCF₃, -NO₂, alquilo C₁-C₆, -OH, -SH, -O(alquilo C₁-C₆), -S(alquilo C₁-C₆), -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)₂, -SO₂(alquilo C₁-C₆), -CO₂H, -CO₂(alquilo C₁-C₆), -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)(alquilo C₁-C₆), -NHSO₂(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)SO₂(alquilo C₁-C₆), -SO₂NH₂, -SO₂NH(alquilo C₁-C₆), -SO₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)NH₂, -OC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -OC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)O(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-

$C_6)C(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-N(\text{alquil } C_1-C_6)C(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-NHC(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHC(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-NHC(O)O(\text{alquilo } C_1-C_6)$, y $-N(\text{alquil } C_1-C_6)C(O)O(\text{alquilo } C_1-C_6)$;

R^{14} y R^{15} se seleccionan en forma independiente de H, alquilo C_1-C_{12} , arilo, carbociclilo, heterociclilo, y heteroarilo;



cada X^2 es en forma independiente O, S, o NR^9 ;

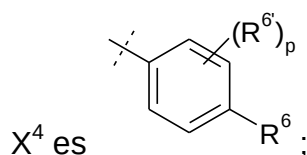
cada R^7 se selecciona en forma independiente de H, halo, CN, CF_3 , $-OCF_3$, $-NO_2$, $-(CR^{14}R^{15})_nC(=Y')R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nC(=Y')OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nC(=Y')NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_nNR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_nOR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nSR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nNR^{12}C(=Y')R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nNR^{12}C(=Y')OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nNR^{13}C(=Y')NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_nNR^{12}SO_2R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nOC(=Y')R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nOC(=Y')OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nOC(=Y')NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_nOS(O)_2(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_nOP(=Y')(OR^{11})(OR^{12})$, $-(CR^{14}R^{15})_nOP(OR^{11})(OR^{12})$, $-(CR^{14}R^{15})_nS(O)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nS(O)_2R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nS(O)_2NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_nS(O)(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_nS(O)_2(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_nSC(=Y')R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nSC(=Y')OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nSC(=Y')NR^{11}R^{12}$, alquilo C_1-C_{12} , alqueno C_2-C_8 , alquino C_2-C_8 , carbociclilo, heterociclilo, arilo, y heteroarilo;

cada R^8 se selecciona en forma independiente de alquilo C_1-C_{12} , arilo, carbociclilo, heterociclilo, y heteroarilo;

R^9 se selecciona de H, $-(CR^{14}R^{15})_nC(=Y')R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nC(=Y')OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nC(=Y')NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_qNR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_qOR^{11}$,

$-(CR^{14}R^{15})_qSR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_qNR^{12}C(=Y')R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_qNR^{12}C(=Y')OR^{11}$,
 $-(CR^{14}R^{15})_qNR^{13}C(=Y')NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_qNR^{12}SO_2R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_qOC(=Y')R^{11}$,
 $-(CR^{14}R^{15})_qOC(=Y')OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_qOC(=Y')NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_qOS(O)_2(OR^{11})$,
 $-(CR^{14}R^{15})_qOP(=Y')(OR^{11})(OR^{12})$, $-(CR^{14}R^{15})_qOP(OR^{11})(OR^{12})$,
 $-(CR^{14}R^{15})_nS(O)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nS(O)_2R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_nS(O)_2NR^{11}R^{12}$, alquilo
 C_1-C_{12} , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 , carbociclilo, heterociclilo, arilo, y
 heteroarilo;

R^{10} es H, alquilo C_1-C_6 o carbociclilo C_3-C_4 ;



R^6 es H, halo, alquilo C_1-C_6 , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 , carbociclilo,
 heteroarilo, heterociclilo, $-OCF_3$, $-NO_2$, $-Si(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-(CR^{19}R^{20})_nNR^{16}R^{17}$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nOR^{16}$, o $-(CR^{19}R^{20})_n-SR^{16}$;

$R^{6'}$ es H, halo, alquilo C_1-C_6 , carbociclilo, CF_3 , $-OCF_3$, $-NO_2$, $-Si(\text{alquilo } C_1-C_6)$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nNR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_nOR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n-SR^{16}$, alquenilo C_2-C_8 ,
 alquinilo C_2-C_8 , heterociclilo, arilo, o heteroarilo;

p es 0, 1, 2 o 3;

n es 0, 1, 2 o 3;

q es 2 o 3;

donde cada dicho alquilo, alquenilo, alquinilo, carbociclilo, heterociclilo, arilo
 y heteroarilo de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , $R^{6'}$, R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , $R^{11'}$, R^{12} , R^{13} , R^{14} ,
 R^{15} y R^A está sustituido en forma independiente y opcional con uno o más grupos
 seleccionados en forma independiente de halo, CN, CF_3 , $-OCF_3$, $-NO_2$, oxo, $-$
 $Si(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-(CR^{19}R^{20})_nC(=Y')R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_nC(=Y')OR^{16}$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nC(=Y')NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_nNR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_nOR^{16}$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nSR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_nNR^{16}C(=Y')R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_nNR^{16}C(=Y')OR^{17}$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nNR^{18}C(=Y')NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_nNR^{17}SO_2R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_nOC(=Y')R^{16}$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nOC(=Y')OR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_nOC(=Y')NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_nOS(O)_2(OR^{16})$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nOP(=Y')(OR^{16})(OR^{17})$, $-(CR^{19}R^{20})_nOP(OR^{16})(OR^{17})$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nS(O)R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_nS(O)_2R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_nS(O)_2NR^{16}R^{17}$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nS(O)(OR^{16})$, $-(CR^{19}R^{20})_nS(O)_2(OR^{16})$, $-(CR^{19}R^{20})_nSC(=Y')R^{16}$,
 $-(CR^{19}R^{20})_nSC(=Y')OR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_nSC(=Y')NR^{16}R^{17}$, y R^{21} ;

cada R^{16} , R^{17} y R^{18} es en forma independiente H, alquilo C_1-C_{12} , alquenilo

C₂–C₈, alquinilo C₂–C₈, carbociclilo, heterociclilo, arilo, o heteroarilo, donde dicho alquilo, alquenilo, alquinilo, carbociclilo, heterociclilo, arilo, o heteroarilo está sustituido en forma opcional con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, –OCF₃, CF₃, –NO₂, alquilo C₁–C₆, –OH, –SH, –O(alquilo C₁–C₆), –S(alquilo C₁–C₆), –NH₂, –NH(alquilo C₁–C₆), –N(alquilo C₁–C₆)₂, –SO₂(alquilo C₁–C₆), –CO₂H, –CO₂(alquilo C₁–C₆), –C(O)NH₂, –C(O)NH(alquilo C₁–C₆), –C(O)N(alquilo C₁–C₆)₂, –N(alquil C₁–C₆)C(O)(alquilo C₁–C₆), –NHC(O)(alquilo C₁–C₆), –NHSO₂(alquilo C₁–C₆), –N(alquil C₁–C₆)SO₂(alquilo C₁–C₆), –SO₂NH₂, –SO₂NH(alquilo C₁–C₆), –SO₂N(alquilo C₁–C₆)₂, –OC(O)NH₂, –OC(O)NH(alquilo C₁–C₆), –OC(O)N(alquilo C₁–C₆)₂, –OC(O)O(alquilo C₁–C₆), –NHC(O)NH(alquilo C₁–C₆), –NHC(O)N(alquilo C₁–C₆)₂, –N(alquil C₁–C₆)C(O)NH(alquilo C₁–C₆), –N(alquil C₁–C₆)C(O)N(alquilo C₁–C₆)₂, –NHC(O)NH(alquilo C₁–C₆), –NHC(O)N(alquilo C₁–C₆)₂, –NHC(O)O(alquilo C₁–C₆), y –N(alquil C₁–C₆)C(O)O(alquilo C₁–C₆);

o R¹⁶ y R¹⁷ junto con el nitrógeno al cual están adjuntos forman un anillo saturado, no saturado o aromático de 3 a 8 miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos seleccionados de O, S y N, donde dicho anillo está sustituido en forma opcional con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, –OCF₃, CF₃, –NO₂, alquilo C₁–C₆, –OH, –SH, –O(alquilo C₁–C₆), –S(alquilo C₁–C₆), –NH₂, –NH(alquilo C₁–C₆), –N(alquilo C₁–C₆)₂, –SO₂(alquilo C₁–C₆), –CO₂H, –CO₂(alquilo C₁–C₆), –C(O)NH₂, –C(O)NH(alquilo C₁–C₆), –C(O)N(alquilo C₁–C₆)₂, –N(alquil C₁–C₆)C(O)(alquilo C₁–C₆), –NHC(O)(alquilo C₁–C₆), –NHSO₂(alquilo C₁–C₆), –N(alquilo C₁–C₆)SO₂(alquilo C₁–C₆), –SO₂NH₂, –SO₂NH(alquilo C₁–C₆), –SO₂N(alquilo C₁–C₆)₂, –OC(O)NH₂, –OC(O)NH(alquilo C₁–C₆), –OC(O)N(alquilo C₁–C₆)₂, –OC(O)O(alquilo C₁–C₆), –NHC(O)NH(alquilo C₁–C₆), –NHC(O)N(alquilo C₁–C₆)₂, –N(alquil C₁–C₆)C(O)NH(alquilo C₁–C₆), –N(alquil C₁–C₆)C(O)N(alquilo C₁–C₆)₂, –NHC(O)NH(alquilo C₁–C₆), –NHC(O)N(alquilo C₁–C₆)₂, –NHC(O)O(alquilo C₁–C₆), y –N(alquil C₁–C₆)C(O)O(alquilo C₁–C₆);

R¹⁹ y R²⁰ se seleccionan en forma independiente de H, alquilo C₁–C₁₂, –(CH₂)_n-arilo, –(CH₂)_n-carbociclilo, –(CH₂)_n-heterociclilo, y –(CH₂)_n-heteroarilo;

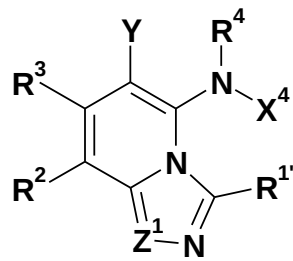
R²¹ es alquilo C₁–C₁₂, alquenilo C₂–C₈, alquinilo C₂–C₈, carbociclilo, heterociclilo, arilo, o heteroarilo, donde cada miembro de R²¹ está sustituido en forma opcional con uno o más grupos seleccionados de halo, oxo, CN, –OCF₃, CF₃, –NO₂, alquilo C₁–C₆, –OH, –SH, –O(alquilo C₁–C₆), –S(alquilo C₁–C₆), –NH₂, –NH(alquilo C₁–C₆), –N(alquilo C₁–C₆)₂, –SO₂(alquilo C₁–C₆), –CO₂H, –CO₂(alquilo

C₁-C₆), -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)(alquilo C₁-C₆), -NHSO₂(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)SO₂(alquilo C₁-C₆), -SO₂NH₂, -SO₂NH(alquilo C₁-C₆), -SO₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)NH₂, -OC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -OC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)O(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquil C₁-C₆)C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquil C₁-C₆)C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)O(alquilo C₁-C₆), y -N(alquil C₁-C₆)C(O)O(alquilo C₁-C₆);

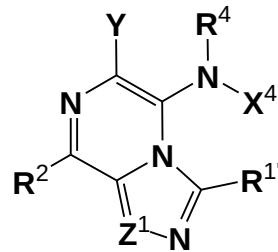
cada Y' es en forma independiente O, NR²², o S; y

R²² es H o alquilo C₁-C₁₂.

En algunas variaciones, el compuesto inhibidor de MEK de la fórmula (III) has la fórmula (III-a) o (III-b):



III-a



III-b

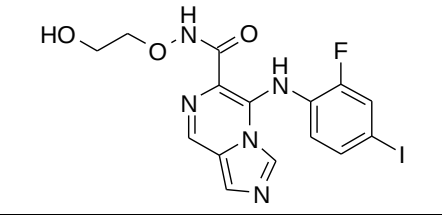
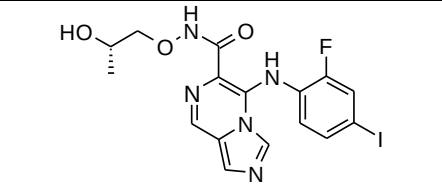
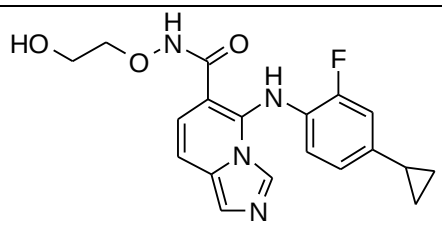
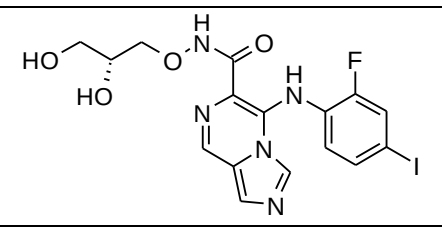
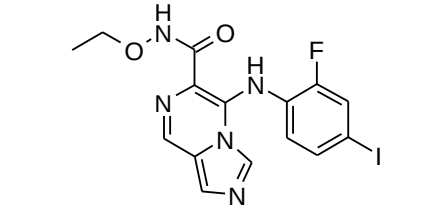
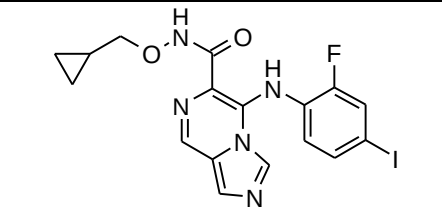
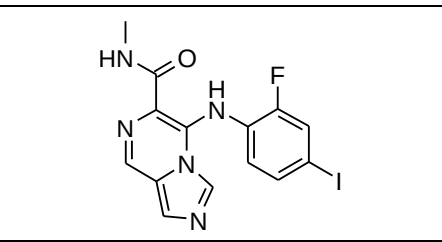
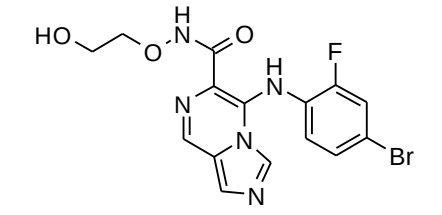
o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde las variables son de acuerdo con lo definido para la fórmula (III) o de acuerdo con lo definido en WO 2009/085983 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

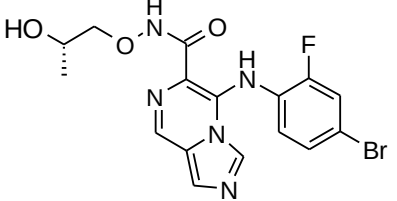
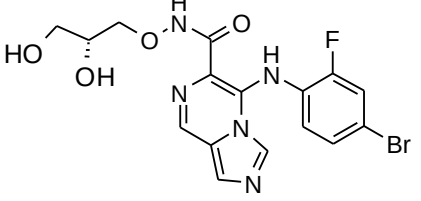
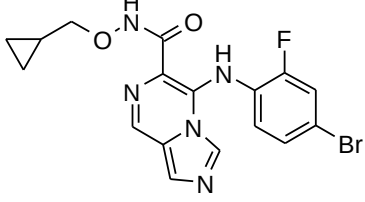
En algunas realizaciones, el compuesto inhibidor de MEK de la fórmula (III) es un compuesto seleccionado de los compuestos enumerados en la Tabla 1, o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo.

Tabla 1

Compuesto Núm.	Nombre Químico	Estructura
(III)-5	(2-hidroxietoxi)-amida del ácido 5-(2-Fluoro-4-iodofenilamino)-imidazo[1,5-a]piridina-6-carboxílico	
(III)-6	((R)-2,3-dihidroxi-propoxi)-amida del ácido 5-(2-Fluoro-4-iodo-fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridina-6-carboxílico	

Compuesto Núm.	Nombre Químico	Estructura
(III)-7	((S)-2-hidroxi-propoxi)-amida del ácido 5-(2-Fluoro-4-iodo+fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridina-6-carboxílico	
(III)-8	(2-hidroxietoxi)-amida del ácido 5-(4-Bromo-2-fluorofenilamino)-imidazo[1,5-a]piridina-6-carboxílico	
(III)-9	((S)-2-hidroxi-propoxi)-amida del ácido 5-(4-Bromo-2-fluoro-fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridina-6-carboxílico	
(III)-10	((S)-2-hidroxi-propoxi)-amida del ácido 5-(4-Bromo-2-fluoro-fenilamino)-8-fluoro-imidazo[1,5-a]piridina-6-carboxílico	
(III)-11	(2-hidroxi-etoxi)-amida del ácido 8-Fluoro-5-(2-fluoro-4-iodo-fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridina-6-carboxílico	
(III)-12	8-Fluoro-((R)-2,3-dihidroxi-propoxi)-amida del ácido 5-(2-Fluoro-4-iodo+fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridina-6-carboxílico	
(III)-13	8-Fluoro-((S)-2-hidroxi-propoxi)-amida del ácido 5-(2-Fluoro-4-iodo+fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridina-6-carboxílico	
(III)-14	(2-hidroxi-etoxi)-amida del ácido 5-(2-Fluoro-metansulfanil-fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridina-6-carboxílico	

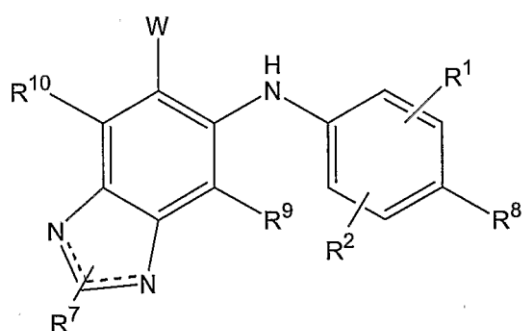
Compuesto Núm.	Nombre Químico	Estructura
(III)-15	(2-hidroxi-etoxi)-amida del ácido 5-(2-Fluoro-4-iodo-fenilamino)-imidazo[1,5-a]pirazina-6-carboxílico	
(III)-16	((S)-2-hidroxi-propoxi)-amida del ácido 5-(2-Fluoro-4-iodo-fenilamino)-imidazo[1,5-a]pirazina-6-carboxílico	
(III)-17	(2-hidroxi-etoxi)-amida del ácido 5-(4-Ciclopropil-2-fluoro-fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridina-6-carboxílico	
(III)-18	(R)-N-(2,3-Dihidroxi-propoxi)-5-(2-fluoro-4-iodofenilamino)imidazo[1,5-a]pirazina-6-carboxamida	
(III)-19	N-Etoxi-5-(2-fluoro-4-iodofenilamino)imidazo[1,5-a]pirazina-6-carboxamida	
(III)-20	N-(Ciclopropilmetoxi)-5-(2-fluoro-4-iodofenilamino)imidazo[1,5-a]pirazina-6-carboxamida	
(III)-21	5-(2-Fluoro-4-iodofenilamino)-N-metilimidazo[1,5-a]pirazina-6-carboxamida	
(III)-22	5-(4-Bromo-2-fluorofenilamino)-N-(2-hidroxi-etoxi)imidazo[1,5-a]pirazina-6-carboxamida	

Compuesto Núm.	Nombre Químico	Estructura
(III)-23	(S)-5-(4-Bromo-2-fluorofenilamino)- N-(2-hidroxi-propoxi)imidazo[1,5- a]pirazina-6-carboxamida	
(III)-24	(R)-5-(4-Bromo-2-fluorofenilamino)- N-(2,3-dihidroxi-propoxi)imidazo[1,5-a]pirazina-6- carboxamida	
(III)-25	5-(4-Bromo-2-fluorofenilamino)-N- (ciclopropil-metoxi)imidazo[1,5- a]pirazina-6-carboxamida	

Los compuestos en la Tabla 1 corresponden a los Ejemplos 5 a 25 en WO 2009/085983 A1. Los compuestos (III)-5 – (III)-20 y (III)-22 – (III)-24 exhibieron un IC₅₀ menor que 0,5 µM en el ensayo que se describe en el Ejemplo 8b (ensayo de actividad de MEK). Algunos de estos compuestos exhibieron un IC₅₀ menor que 0,1 µM. Los compuestos (III)-21 y (III)-25 exhibieron un IC₅₀ menor que 10 µM. Véase la página 49 en WO 2009/085983 A1.

También se abarcan compuestos inhibidores de MEK (y/o solvatos y sales de los mismos) que se describen en WO 2009/085983 A1, que se incorpora como referencia en la presente, por ejemplo, compuestos de imidazopiridina de la fórmula (III) (designados como la fórmula I en WO 2009/085983 A1, por ej., en la página 3) y variaciones de los mismos de acuerdo con lo descrito en WO 2009/085983 A1. Los compuestos de la fórmula (III) se pueden sintetizar por el uso de métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, los métodos sintéticos que se describen en WO 2009/085983 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

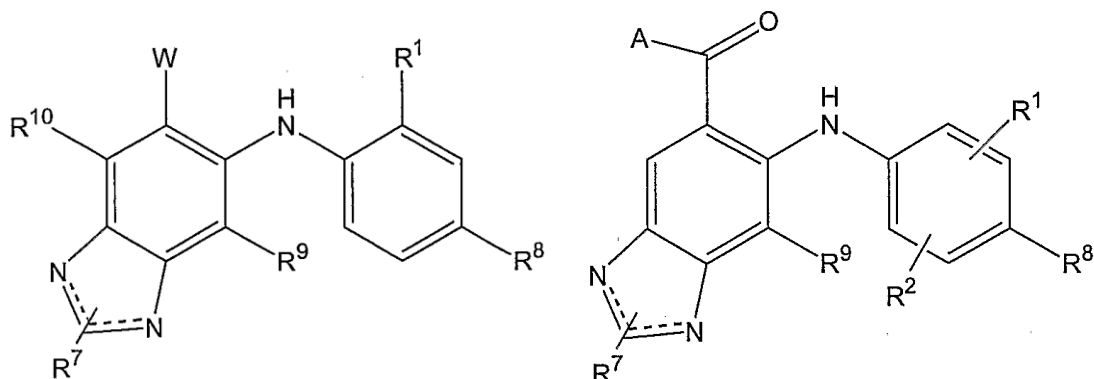
En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es un compuesto de la fórmula (IV),



IV

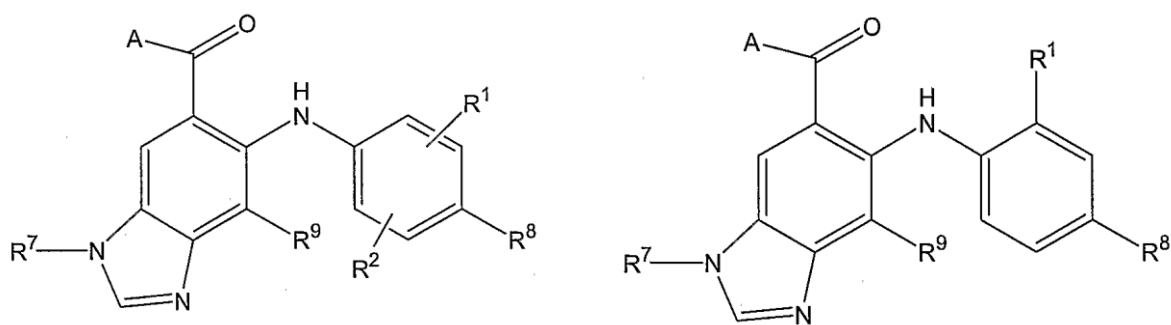
o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde las variables son de acuerdo con lo definido en el WO 03/077914 A1 para la fórmula I en las páginas 4 a 9 o cualquier variación aplicable que se describe en WO 03/077914 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

En algunas variaciones, el compuesto inhibidor de MEK de la fórmula (IV) es un compuesto de la fórmula (IV-a), (IV-b), (IV-c), o (IV-d):



IV-a

IV-b



IV-c

IV-d

o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde las variables son de acuerdo con lo definido en el WO 03/077914 A1 para las fórmulas II, III, IIIa y IIIb, respectivamente en las páginas 10 a 13 o cualquier variación aplicable que se describe en WO 03/077914 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

En algunas realizaciones, el compuesto inhibidor de MEK de la fórmula (IV) es un compuesto que se selecciona del grupo que consiste en:
ciclopropilmetoxi-amida del ácido 7-Fluoro-6-(4-bromo-2-metil-fenilamino)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico;

Ciclopropilmetoxi-amida del ácido 6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3H-benzoimidazol-5-carboxílico

(2-hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3H-benzoimidazol-5-carboxílico;

(2,3-dihidroxi-propoxi)-amida del ácido 6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3H-benzoimidazol-5-carboxílico;

(2-hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-(tetrahydro-piran-2-ilmetil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico;

[6-(5-Amino-[1,3,4]oxadiazol-2-il)-4-fluoro-1H-benzoimidazol-5-il]-(4-bromo-2-metil-fenil)-amina;

1-[6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3H-benzoimidazol-5-il]-2-hidroxi-etanona;

1-[6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3H-benzoimidazol-5-il]-2-metoxi etanona;

(2-hidroxi-1,1-dimetil-etoxi)-amida del ácido 6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3H-benzoimidazol-5-carboxílico;

(2-hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-(tetrahydro-furan-2-ilmetil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico;

(2-hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3H-benzoimidazol-5-carboxílico;

(2-hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(4-Bromo-2-fluoro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3H-benzoimidazol-5-carboxílico; y

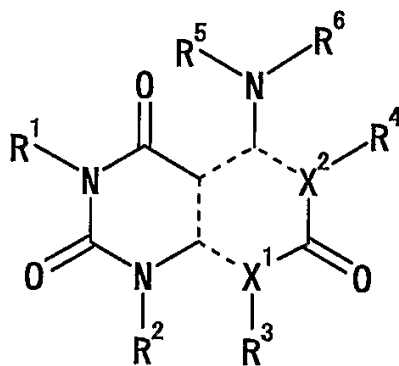
(2-hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(2,4-Dicloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3H-benzoimidazol-5-carboxílico;

o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo.

También se abarca cualquier variación de la fórmula (IV) de acuerdo con lo descrito en WO 03/077914 A1, que se incorpora como referencia en la presente. Los compuestos de la fórmula (IV) o cualquier variación de los mismos se pueden sintetizar por el uso de métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, los métodos sintéticos que se describen en WO 03/077914 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es un compuesto de la

fórmula (V),

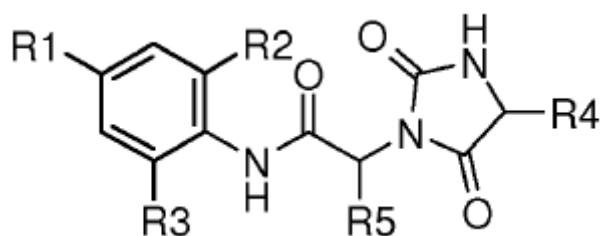


V

o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde las variables son de acuerdo con lo definido en el WO 2005/121142 A1 para la fórmula [I] en las páginas 6 a 10 o cualquier variación aplicable que se describe en WO 2005/121142 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

También se abarca cualquier variación de la fórmula (V) de acuerdo con lo descrito en WO 2005/121142 A1, tal como los compuestos inhibidores de MEK individuales que se describen en WO 2005/121142 A1, por ej., los Ejemplos 1-1 a 1-343 en la Tabla 1, los Ejemplos 2-1 y 2-2 en la Tabla 2, los Ejemplos 3-1 a 3-9 en la Tabla 3, y los Ejemplos 4-1 a 4-148 en la Tabla 4. Los compuestos de la fórmula (V) o cualquier variación de los mismos se pueden sintetizar por el uso de métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, los métodos sintéticos que se describen en WO 2005/121142 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es un compuesto de la fórmula (VI),



VI

o una sal o éster aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde:

R1 se selecciona del grupo que consiste en bromo, iodo, etinilo, cicloalquilo, alcoxi, azetidino, acetilo, heterociclo, ciano, alquilo de cadena recta y alquilo de cadena ramificada;

R2 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, cloro, flúor, y alquilo;

R3 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, cloro, y flúor;

R4 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, arilo sustituido en forma opcional, alquilo, y cicloalquilo;

R5 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y

$$\begin{array}{c} \text{R6} \text{---} \text{C} \text{---} \text{R8} \\ | \\ \text{R7} \end{array} ;$$

donde R6 se selecciona del grupo que consiste en hidroxilo, alcoxi, cicloalquilo, alquilo sustituido en forma opcional, arilo sustituido en forma opcional, y heteroarilo sustituido en forma opcional;

R7 y R8 son en forma independiente que se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y sustituido en forma opcional alquilo;

o R6 y R7 pueden formar juntos un grupo cicloalquilo y R8 puede ser hidrógeno.

En algunas variaciones, el compuesto inhibidor de MEK es de la fórmula (VI), o una sal o éster aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde las variables son de acuerdo con lo definido en el WO 2007/096259 A1 para la fórmula I o cualquier variación aplicable descripta en las páginas 4 a 10 en WO 2007/096259 A1, que se incorpora como referencia en la presente. Además se abarcan inhibidores de MEK que son compuestos que se describen en los Ejemplos 1 a 182 en WO 2007/096259 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

En algunas realizaciones, el compuesto inhibidor de MEK de la fórmula (VI) es un compuesto que se selecciona del grupo que consiste en:

(2S,3S)-N-(4-Bromo-fenil)-2-[(R)-4-(4-metoxi-fenil)-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;

(2S,3S)-N-(4-Iodo-fenil)-2-[(R)-4-(4-metoxi-fenil)-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;

(2S,3S)-N-(2-Fluoro-4-iodo-fenil)-2-[(R)-4-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;

(2S,3S)-N-(4-Etinil-2-fluoro-fenil)-2-[(R)-4-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;

(2R,3S)-N-(4-Etinil-2-fluoro-fenil)-2-[(R)-4-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;

(2S,3S)-N-(2-Chloro-4-iodo-fenil)-2-[(R)-4-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;

(2S,3S)-2-[(R)-4-[4-(2-Hidroxi-etoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-N-(4-

iodo-2-metil-fenil)-3-fenil-butiramida;

(2S,3S)-N-(2-Chloro-4-iodo-fenil)-2-[(R)-4-[4-((R)-2,3-dihidroxi-propoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;

(2S,3S)-N-(2-Chloro-4-iodo-fenil)-2-[(R)-4-[4-((S)-2,3-dihidroxi-propoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;

(2S,3S)-2-[(R)-2,5-Dioxo-4-[4-(2-oxo-2-pyrrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-imidazolidin-1-il]-N-(2-fluoro-4-iodo-fenil)-3-fenil-butiramida;

(2S,3S)-2-[(R)-2,5-Dioxo-4-tiofen-3-il-imidazolidin-1-il]-N-(4-iodo-fenil)-3-fenil-butiramida;

(S)-2-[(R)-4-(2,3-Dihidro-benzo[1,4]dioxin-6-il)-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-N-(2-fluoro-4-iodo-fenil)-3-fenil-propionamida;

(S)-2-[(R)-4-(4-Acetilamino-fenil)-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-N-(2-fluoro-4-iodo-fenil)-3-fenil-propionamida;

dimetil éster del ácido (4-[(R)-1-[(1S,2S)-1-(2-Fluoro-4-iodo-fenilcarbamoyl)-2-fenil-propil]-2,5-dioxo-imidazolidin-4-il]-fenoximetil)-fosfónico;

(2S,3S)-N-(2-Fluoro-4-iodo-fenil)-2-[(R)-4-isopropil-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;

(S)-N-(2-Fluoro-4-iodo-fenil)-2-[(R)-4-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-metil-butiramida;

(S)-N-(2-Fluoro-4-iodo-fenil)-2-[(R)-4-(4-metoxi-fenil)-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-o-tolil-propionamida;

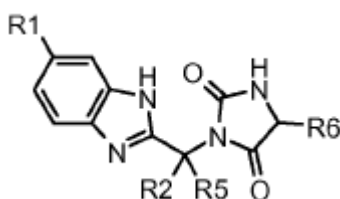
(S)-N-(2-Fluoro-4-iodo-fenil)-2-[(R)-4-(4-metoxi-fenil)-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-m-tolil-propionamida;

(S)-N-(2-Fluoro-4-iodo-fenil)-2-[(R)-4-(4-metoxi-fenil)-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-p-tolil-propionamida; y

(S)-N-(4-Ciclopropil-2-fluoro-fenil)-3-(4-fluoro-fenil)-2-[(R)-4-[4-(2-hidroxi-1-hidroximetil-etoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-propionamida ;

o una sal o éster aceptable para uso farmacéutico del mismo.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es un compuesto de la fórmula (VII),



VII

o una sal o éster aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde:

R1 se selecciona del grupo que consiste en halógeno, etinilo, y cicloalquilo;

R2 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y CH(R3)(R4);

R3 se selecciona del grupo que consiste en alquilo inferior, alcoxi inferior, arilo sustituido en forma opcional, y heteroarilo sustituido en forma opcional;

R4 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo inferior;

R5 es hidrógeno o, tomado junto con R2 y el carbono al cual R2 y R5 están unidos, forma cicloalquilo inferior; y

R6 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo inferior, cicloalquilo inferior, arilo sustituido en forma opcional, y heteroarilo sustituido en forma opcional.

En algunas variaciones, el compuesto inhibidor de MEK es de la fórmula (VI), o una sal o éster aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde las variables son de acuerdo con lo definido en el WO 2009/021887 A1 para la fórmula I o cualquier variación aplicable descrita en las páginas 4 y 5 en WO 2009/021887 A1, que se incorpora como referencia en la presente. Además se abarcan inhibidores de MEK que son compuestos que se describen en los Ejemplos 1 a 21 en 2009/021887 A1, que se incorpora como referencia en la presente.

En algunas realizaciones, el compuesto inhibidor de MEK de la fórmula (VI) es un compuesto que se selecciona del grupo que consiste en:

(R)-5-[4-(2-Hidroxi-etoxi)-fenil]-3-[(S)-1-(6-iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-etil]-imidazolidina-2,4-diona;

(R)-5-[4-(2-Hidroxi-etoxi)-fenil]-3-(5-iodo-1*H*-benzoimidazol-2-ilmetil)-imidazolidina-2,4-diona;

(R)-5-[4-(2-Hidroxi-etoxi)-fenil]-3-[(S)-1-(5-iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-metil-propil]-imidazolidina-2,4-diona;

(R)-5-[4-(2-Hidroxi-etoxi)-fenil]-3-[(1*R*,2*R*)-1-(5-iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-metoxi-propil]-imidazolidina-2,4-diona;

3-[(S)-1-(5-iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-etil]-imidazolidina-2,4-diona;
compuesto con ácido trifluoro-acético;

(R)-3-[(S)-2-(4-Fluoro-fenil)-1-(5-iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-etil]-5-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-imidazolidina-2,4-diona;

(R)-5-[4-(2-Hidroxi-etoxi)-fenil]-3-[(S)-1-(5-iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-(4-metoxi-fenil)-etil]-imidazolidina-2,4-diona;

(R)-5-[4-(2-Hidroxi-etoxi)-fenil]-3-[(S)-1-(5-iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-tiofen-2-il-etil]-imidazolidina-2,4-diona;

(R)-3-[(1S,2S)-1-(6-Iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-propil]-5-fenil-imidazolidina-2,4-diona;

(R)-3-[(1S,2S)-1-(6-Iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-propil]-5-(4-metoxifenil)-imidazolidina-2,4-diona;

(R)-5-[4-(2-Hidroxi-etoxi)-fenil]-3-[(1S,2S)-1-(6-iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-propil]-imidazolidina-2,4-diona;

(R)-3-[(1S,2S)-1-(6-Iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-propil]-5-[4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-imidazolidina-2,4-diona;

2-(4-{(R)-1-[(1S,2S)-1-(6-Iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-propil]-2,5-dioxo-imidazolidin-4-il}-fenoxi)-*N,N*-dimetil-acetamida;

N,N-Bis-(2-hidroxi-etil)-2-(4-{(R)-1-[(1S,2S)-1-(6-iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-propil]-2,5-dioxo-imidazolidin-4-il}-fenoxi)-acetamida;

(R)-3-[(1S,2S)-1-(5-Iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-propil]-5-isopropil-imidazolidina-2,4-diona;

(R)-5-Ciclohexil-3-[(1S,2S)-1-(5-iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-propil]-imidazolidina-2,4-diona;

(R)-5-[4-(2-Hidroxi-etoxi)-fenil]-3-[1-(5-iodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-ciclopropil]-imidazolidina-2,4-diona;

(R)-3-[(1S,2S)-1-(6-Bromo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-propil]-5-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-imidazolidina-2,4-diona;

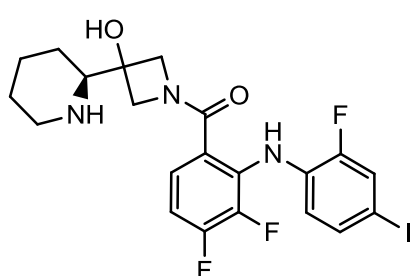
(R)-3-[(S)-1-(5-Ciclopropil-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-etil]-5-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-imidazolidina-2,4-diona;

(R)-3-[(S)-1-(5-Etil-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-etil]-5-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-imidazolidina-2,4-diona; y

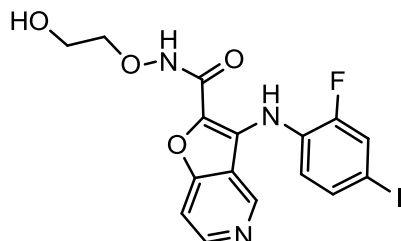
(R)-3-[(1S,2S)-1-(5-Etil-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-propil]-5-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-imidazolidina-2,4-diona;

o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo.

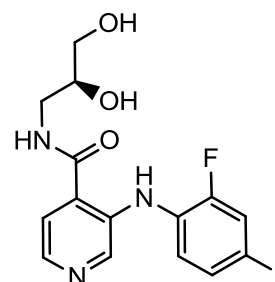
En algunas realizaciones, el inhibidor de MEK es un compuesto que se selecciona del grupo que consiste en GDC-0973 (Metanona, [3,4-difluoro-2-[(2-fluoro-4-iodofenil)amino]fenil][3-hidroxi-3-(2S)-2-piperidinil-1-azetidino]-), G-38963, G02443714, G02442104 y G00039805, o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo.



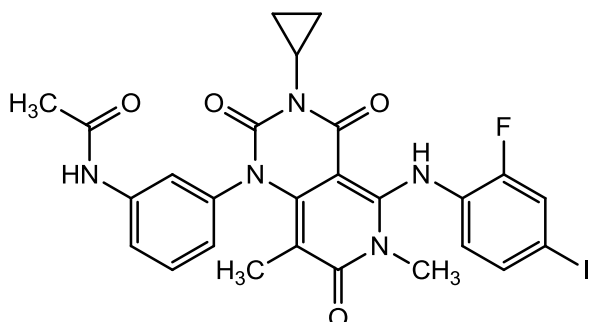
GDC-0973



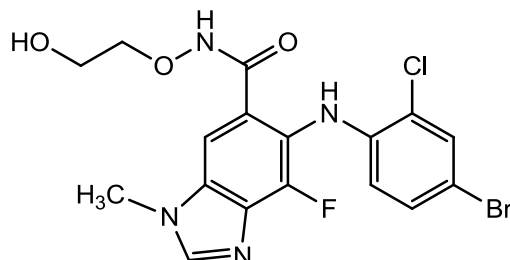
G-38963



G02443714



G02442104



G00039805

IV Kits

En otro aspecto, se proporciona un kit que comprende un antagonista de unión al eje PD-L1 y/o un inhibidor de MEK para tratar o retrasar la progresión de un cáncer en un individuo o para potenciar la función inmune de un individuo que tiene cáncer. En algunas realizaciones, el kit comprende un antagonista de unión al eje PD-1 y un prospecto de empaque que comprende instrucciones para utilizar el antagonista de unión al eje PD-1 en combinación con un inhibidor de MEK para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo o para potenciar la función inmune de un individuo que tiene cáncer. En algunas realizaciones, el kit comprende un inhibidor de MEK y un prospecto de empaque que comprende instrucciones para utilizar el inhibidor de MEK en combinación con un antagonista de unión al eje PD-1 para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo o para potenciar la función inmune de un individuo que tiene cáncer. En algunas realizaciones, el kit comprende un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK, y un prospecto de empaque que comprende instrucciones para utilizar el antagonista de unión al eje PD-1 y el inhibidor de MEK para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo o para potenciar la función inmune de un individuo que tiene cáncer. Cualquiera de los antagonistas de unión al eje PD-1 y/o inhibidores de MEK descritos en la presente pueden estar incluidos en los kits.

En algunas realizaciones, el kit comprende un recipiente que contiene uno o

más de los antagonistas de unión al eje PD-1 e inhibidores de MEK descritos en la presente. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales (por ej., viales de cámara doble), jeringas (tales como jeringas de de cámara simple o doble) y tubos de ensayo. El recipiente puede estar formado a partir de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico. En algunas realizaciones, el kit puede comprender una etiqueta (por ej., sobre o asociada con el recipiente) o un prospecto de empaque. La etiqueta o el prospecto de empaque pueden indicar que el compuesto contenido en el mismo puede ser útil o se puede pretender para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo o para potenciar la función inmune de un individuo que tiene cáncer. El kit puede además comprender otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, que incluyen otros tampones, diluyentes, filtros, agujas, y jeringas.

Ejemplos

La invención puede comprenderse en forma adicional por referencia a los siguientes ejemplos, que se proporcionan a modo de ilustración y no se pretenden limitantes.

Ejemplo 1: expresión de MHC potenciada por el inhibidor de MEK sobre líneas celulares tumorales

Para determinar si el tratamiento con inmunogenicidad potenciada con el inhibidor de MEK (MEKi) de células tumorales, se ensayó la expresión superficial de MHC-I sobre líneas celulares tumorales tratadas con inhibidores de MEK GDC-0973 y G-38963. En resumen, líneas celulares de melanoma humano (Malme-3M, A2058, A375, HS294T, SK23, SKMEL-28, 537 Mel, RPMI-795) y líneas celulares colorrectales humanas (Colo 320 DM, Colo 205, WiDr, Colo 741, RKO, DLD-1, HM7, HCT-15) se trataron con MEKi GDC-0973 o G-38963 1 micromolar, inhibidor de BRAF (BRAFi) GDC-0879, o vehículo de DMSO durante 24 horas. Siguiendo el tratamiento, se tiñeron células para expresión de MHC de Clase I en superficie con un anticuerpo contra HLA-A,B,C durante el análisis de FACS subsiguiente. Los datos mostrados corresponden al tratamiento con MEKi GDC-0973. Se utilizaron anticuerpos emparejados con isotipos marcados para determinar el nivel de tinción no específica. El análisis de datos y la construcción de histogramas demostraron que la expresión sobre la superficie celular de MHC-I se reguló por aumento en células tratadas con MEKi en comparación con células tratadas con vehículo (Figura 1A). En contraste, la expresión sobre la superficie celular de MHC-I en células tratadas con BRAFi no se reguló por aumento en comparación con células tratadas con vehículo (Figura 2). Estos resultados demuestran que la expresión

potenciada sobre la superficie celular de MHC-I tanto en células tumorales de melanoma como colorrectales es específica a la inhibición de MEK y no se debe a la inhibición general de la vía de señalización de RAS/RAF/MEK.

Para determinar si el tratamiento con inmunogenicidad potenciada con el inhibidor de MEK (MEKi) de células tumorales de ratón similarmente a células tumorales de humanos, se ensayó la expresión superficial de MHC-I sobre líneas celulares tumorales de ratón tratadas con MEKi GDC-0973. En resumen, líneas celulares del melanoma de ratón (MC38 y B16.F10) y una línea celular colorrectal de ratón (CT26) se trataron con MEKi GDC-0973, G-38963 o vehículo. En resumen, las células se estimularon durante 24 horas con inhibidor de MEK 1 micromolar o vehículo de control de DMSO. Siguiendo el tratamiento, las células se tiñeron en la superficie con un anticuerpo contra MHC-I (H-2D) y se ensayó la expresión por análisis de FACS subsiguiente. Se utilizaron anticuerpos emparejados con isotipos marcados para determinar el nivel de tinción no específica. El análisis de datos y la construcción de histogramas demostraron que la expresión sobre la superficie celular de MHC-I se reguló por aumento en células tratadas con MEKi (los datos mostrados son para MEKi GDC-0973) en comparación con células tratadas con vehículo (Figura 1B). Estos resultados demuestran que la expresión potenciada sobre la superficie celular de MHC-I ocurrió a través de varias líneas celulares tumorales de melanoma y colorrectales independientemente de su origen de ratón o humano.

Para determinar si la expresión potenciada sobre la superficie celular de MHC-I es específica a las células tumorales, se ensayó el efecto del tratamiento de MEKi sobre la expresión de MHC-I sobre células mononucleares de sangre periférica humana (PMBC). En resumen, se aislaron PMBC de sangre completa por la dilución de la misma en primer lugar con un volumen igual de PBS a temperatura ambiente y la superposición subsiguiente sobre tubos Leucosep llenados con Ficoll (Greiner Bio-One). Luego de la centrifugación, la interfaz de PBMC se lavó dos veces y se re-suspendió en medio de cultivo (RPMI-1640 con suero fetal bovino 10%, HEPES 20µM, 2-mercaptoetanol 55µM, gentamicina 50µg/ml, y diluciones 1:100 de los siguientes suplementos de Gibco: Gluta-MAX, piruvato de sodio, penicilina/estreptomicina, y aminoácidos no esenciales). Se laminaron células en places de 6 pocillos a 4×10^6 por pocillo con un total de 4 ml por pocillo. Se adicionó inhibidor de MEK GDC-0973 a 1µM o 3µM. Se cosecharon células 24 horas después y se distribuyeron a una placa con fondo en V de 96 pocillos para tinción con FACS. Se tiñeron células con los siguientes anticuerpos

(todos de BD Biosciences, a 1:10 durante 30 minutos sobre hielo): CD3-FITC, HLA-ABC-PE, CD4-APC, CD19-FITC, y CD14-FITC. Se incluyó yoduro de propidio para excluir las células muertas. Las muestras se sometieron a un citómetro de flujo BD FACSCaliber y los datos se analizaron por el uso del software de FlowJo (Tree Star, Inc.). El análisis de datos y la construcción de histogramas demostraron que la expresión sobre la superficie celular de MHC-I no se reguló por aumento en células T CD4⁺ (Figura 3A), células T CD8⁺ (Figura 3B), Células B (Figura 3C), o monocitos (Figura 3D) tratadas con MEKi GDC-0973 1 μ M o MEKi GDC-0973 3 μ M en comparación con células tratadas con vehículo. Estos resultados demuestran que la expresión potenciada sobre la superficie celular de MHC-I por el tratamiento con el inhibidor de MEK es específica a las células tumorales.

Ejemplo 2: Señales coestimuladoras hacen a las células T resistentes a la inactivación de la señalización de TCR por el inhibidor de MEK

Estudios recientes han demostrado que el tratamiento con el inhibidor de MEK afecta la función de los linfocitos T (Boni et al., *Cancer Res.*, 70(13), 2010). Para confirmar que el tratamiento con el inhibidor de MEK afectó las células T CD8⁺, se trataron células T con MEKi en combinación con señales de estimulación de células T y se ensayaron por la proliferación de células T. En resumen, se purificaron células T CD8⁺ humanas a partir de sangre completa por el uso de RosetteSep de células CD8 humanas de StemCell Technologies de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se laminaron células purificadas a 200.000 por pocillo por triplicado en placas con fondo en U de 96 pocillos con 200.000 por pocillo de Dynabeads anti-CD3 o anti-CD3/anti-CD28 (Invitrogen). Inhibidores de MEK GDC-0973 y G-38963 se titularon en cantidades de 10 veces de 10 μ M a 0,001 μ M de manera tal que la concentración del cultivo final sea de DMSO 0,5% en un volumen total de 200 μ l por pocillo. El medio de cultivo fue RPMI-1640 con suero fetal bovino 10%, HEPES 20 μ M, 2-mercaptoetanol 55 μ M, gentamicina 50 μ g/ml, y diluciones 1:100 de los siguientes suplementos de Gibco: Gluta-MAX, piruvato de sodio, penicilina/estreptomicina, y aminoácidos no esenciales. A las 48 horas, los pocillos se pulsaron con 1 μ Ci/pocillo de 3H-timidina y se cultivaron durante 16 horas adicionales antes del congelamiento y la cosecha. Los análisis de datos demostraron que el tratamiento de células T CD8⁺ con anti-CD3 estimula la activación de las células T (triángulo cerrado) en comparación con células T no estimuladas (círculo abierto). El tratamiento de células T con dos inhibidores de MEK diferentes redujo el efecto estimulatorio de anti-CD3 (círculo

cerrado, cuadrado cerrado) en todas las concentraciones de MEKi ensayadas, con la inhibición casi completa de la proliferación inducida por el receptor de las células T producida con el tratamiento de MEKi 0,01 μ M (Figura 4A). En contraste, la co-estimulación con anti-CD3 y anti-CD28 en células T tratadas con MEKi (círculo cerrado, cuadrado cerrado) fue suficiente para superar el efecto inhibitor de MEKi sobre la activación de células T (Figura 4B). Estos resultados inesperados demuestran el hallazgo novedoso de que la inhibición de la señalización por el tratamiento con MEKi puede superarse por la proporción de suficiente co-estimulación de células T que se proporciona a las células T por células que presentan antígenos tales como células B, macrófagos, y células dendríticas.

Sin limitarse a la teoría, se cree que un componente clave de la coestimulación es la activación de la quinasa PI3 y está proporcionada por CD28 a través de la asociación de la subunidad PI3K p85 con su motivo YNMN citoplasmático. PD-1, a través de su interacción con SHP2, impide la actividad de PI3K. Por lo tanto, el bloqueo del eje PD1 puede desinhibir la quinasa PI3, lo que da lugar a una coestimulación de células T portenciada y proporciona un medio para superar el efecto inhibitor para superar el efecto inhibitor de MEKi sobre la activación de células T. El bloqueo de PD-1/L1 es para potenciar la coestimulación bajo condiciones en las que la expresión de ligandos coestimuladores tales como B7.1 y B7.2 a menudo es limitante tal como en la mayor parte de los tumores o el microambiente tumoral. La combinación de MEKi con el bloqueo del eje PD1 debería potenciar la inmunidad de las células T específicas tumorales por medio de la potenciación del reconocimiento Ag por medio del TCR a través de la regulación por aumento del tumor MHC I (potenciación de la Señal 1) por medio de MEKi y por medio del alivio de la inhibición de PI3K (potenciación de la Señal 2) a través del bloqueo de PD1/PDL1.

Ejemplo 3: el inhibidor de MEK potenció específicamente la maduración y activación de células dendríticas

Para determinar si el tratamiento con el inhibidor de MEK potenció específicamente la inmunogenicidad tumoral por la estimulación de células dendríticas (DC), se trataron células dendríticas derivadas de monocitos con concentraciones crecientes de MEKi GDC-0973, MEKi GDC-38963 o BRAFi GDC-0879 en combinación con anticuerpos a la molécula CD40 co-estimuladora de DC. En resumen, se purificaron monocitos humanos a partir de sangre completa por el uso de RosetteSep de monocitos humanos de StemCell Technologies de acuerdo

con las instrucciones del fabricante. Los monocitos se sembraron en matraces T175 a aproximadamente $0,5-1,0 \times 10^6$ por ml en GM-CSF humano 50ng/ml y IL-4 humano 100ng/ml durante 7 días en total, con intercambios de vida media cada 2 días. Luego, las células se cosecharon y laminaron en 100.000 células/pocillo en placas de fondo chato de 96 pocillos con o si anti-CD40 Pfizer a 1µg/ml. Los inhibidores de MEK y el inhibidor de BRAF se titularon en cantidades de 10 veces de 10µM a 0,001µM de manera tal que la concentración del cultivo final sea de DMSO 0,5% en un volumen total de 200µl por pocillo. 48 horas después, se cosecharon células y se transfirieron a una placa con fondo en V de 96 pocillos. En primer lugar, las células se bloquearon con el receptor Fc (Miltenyi) y luego se tiñeron por el uso de los siguientes anticuerpos (de BD Biosciences a 1:10, 30 minutos sobre hielo): HLA-DR,-DP,-DQ-FITC, HLA-ABC-PE, CD83-APC, CD14-FITC, CD80-PE, y CD86-APC. Se incluyó yoduro de propidio para excluir las células muertas. Las muestras se sometieron a un citómetro de flujo BD FACSCaliber y los datos se analizaron por el uso del software de FlowJo (Tree Star, Inc.). El análisis de datos y la construcción de histogramas demostraron que la frecuencia de células que expresan el marcador de maduración CD83 (Figura 5A), MHC-II (Figura 5B), y la molécula co-estimuladora CD86 (Figura 5C) se aumentó en células tratadas con MEKi GDC-0973 1µM en comparación con células tratadas con vehículo. En contraste, la expresión sobre la superficie celular de estos marcadores de activación superficial de DC en DC tratadas con BRAFi 1µM no se reguló por aumento y fue similar a las células tratadas con vehículo. Además, las concentraciones crecientes de MEKi G-38963 (cuadrado cerrado) o MEKi GDC-0973 (círculo cerrado) potenciaron la frecuencia de DC que expresan estos marcadores superficiales de maduración y activación de DC en una manera dependiente de la concentración (Figura 5D-5F). En contraste, el tratamiento con BRAFi (triángulo cerrado) no potenció el efecto co-estimulador anti-CD40. Estos resultados novedosos demuestran que la maduración y activación potenciadas de DC son específicas al tratamiento con el inhibidor de MEK y no se deben a la inhibición general de la vía de señalización de RAS/RAF/MEK. Además, la activación potenciada por MEKi de DC derivadas de monocitos humanos coestimulada con anti-CD40 en una manera dependiente de la concentración indica que MEKi puede tener un efecto inmunomodulador sobre DC.

Ejemplo 4: el co-tratamiento con el inhibidor de MEK y anticuerpos anti-PD-L1 redujo los niveles de suero de las citoquinas que promueven el crecimiento tumoral

Debido a la observación novedosa que el tratamiento con MEKi potencia la activación de células T y DC en presencia de un coestimulador, se utilizó MEKi G-38963 en combinación con anticuerpos anti-PD-L1 para determinar si MEKi podría potenciar los efectos anti-tumorales del tratamiento con el anticuerpo anti-PD-L1 y modular los niveles de citoquina en los animales que tienen tumores. El anticuerpo anti-PD-L1 empleado en estos experimentos fue PRO314483, N° de Lote 59554.96, creado contra PD-L1 humano, que reconoce PD-L1 humano y murino PD-L1. En resumen, 7 días después del tratamiento, los ratones se anestesiaron y sangraron en forma retro-orbital para extraer suero. Se llevaron a cabo análisis para los niveles de suero de citoquinas por el uso del ensayo BioRad Bio-Plex y se determinó que la citoquina inmunosupresora IL-10 estaba significativamente reducida en modelos *in vivo* para tumores de melanoma (Figura 7A) y colorrectales (Figura 7C). Los niveles IL-10 se redujeron con anticuerpo anti-PD-L1 o tratamiento de MEKi solo pero se redujeron significativamente por el co-tratamiento con anticuerpos de MEKi y anti-PD-L1. Además, los niveles de suero de la quimiocina KC murina, homóloga de la quimiocina IL-8 humana que es conocida por cumplir un rol en la progresión tumoral, también se redujeron significativamente en los modelos *in vivo* para tumores de melanoma (Figura 6B) y colorrectales (Figura 6D) estando la reducción más significativa inducida por el co-tratamiento con anticuerpos de MEKi y anti-PD-L1. Estos resultados indican que el tratamiento combinado de anticuerpos anti-PD-L1 y MEKi inhibe la liberación de citoquinas que promueve el crecimiento tumoral.

Ejemplo 5: La inhibición de MEK potenció la actividad anti-tumoral de anticuerpos anti-PD-L1 en tumores colorrectales *in vivo*

Para determinar si MEKi potencia el efecto anti-tumoral de los anticuerpos anti-PD-L1, se trataron modelos de ratón para tumores colorrectales con el tratamiento combinado. En resumen, se inocularon ratones en forma subcutánea con células tumorales y se dejaron crecer tumores. Cuando los ratones portadores tumorales lograron un volumen tumoral medio de 200 mm³ (Figura 7A) o 450 mm³ (Figura 7B), los ratones se asignaron aleatoriamente a 1 de 4 grupos de tratamiento. Grupo 1: recibió 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipos (anti-gp120, PRO67181, PUR#20455) en forma intraperitoneal tres veces a la semana durante 3 semanas más Vehículo de control MCT, en forma oral, a diario durante 21 días; Grupo 2: recibió 10 mg/kg de un anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 59554.96 en forma intraperitoneal tres veces a la semana durante 3 semanas; Grupo 3: recibió 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipos (anti-

gp120, PRO67181, PUR#20455) en forma intraperitoneal tres veces a la semana durante 3 semanas más 75 mg/kg de MEKi G-38963, en forma oral, a diario durante 21 días; Grupo 4: recibió 10 mg/kg de un anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 59554.96 en forma intraperitoneal tres veces a la semana durante 3 semanas más 75 mg/kg de MEKi G-38963, en forma oral, a diario durante 21 días. Los ratones se monitorearon por la presencia de crecimientos en el tumor y de cambios en el peso. El bloqueo de PD-L1 con un anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 5944.96 ya sea en una intervención temprana (Figura 7A) o tardía (Figura 7B) fue altamente efectivo como una terapia de agente único para la prevención del crecimiento tumoral. El tratamiento con MEKi G-38963 también fue altamente efectivo como una terapia de agente único para la prevención del crecimiento tumoral ya sea en una intervención temprana o tardía y fue comparable con el tratamiento del anticuerpo anti-PD-L1. El tratamiento combinado con anticuerpos anti-PD-L1 y MEKi inhibió significativamente el crecimiento tumoral en intervenciones tanto tempranas como tardías y fue significativamente más efectivo que el tratamiento individual con anticuerpos anti-PD-L1 o con MEKi. Además, el co-tratamiento en una etapa temprana del crecimiento tumoral dio lugar no sólo a una reducción significativa del volumen tumoral sino que también demostró una respuesta sostenida. La intervención temprana dio lugar a aproximadamente una respuesta completa en un 60% que se mantuvo durante al menos 92 días. Estos resultados indican que MEKi potencia la actividad anti-tumoral del bloqueo de PD-L1 y, por lo tanto, opera sinérgicamente con los anticuerpos anti-PD-L1 para inhibir el crecimiento tumoral.

Para determinar en forma adicional si MEKi potencia el efecto anti-tumoral de los anticuerpos anti-PD-L1, se trataron modelos de ratón para tumores colorrectales con el tratamiento combinado por el uso de un inhibidor de MEK diferente, MEKi GDC-0973, en dos estudios diferentes.

Para el primer estudio, se inocularon ratones BALB/c hembra en forma subcutánea en la región torácica unilateral con 100.000 Células colorrectales de murina CT26 en 100 µL de HBSS:matrigel. Cuando los ratones lograron un volumen tumoral medio de aproximadamente 200 mm³, se asignaron aleatoriamente a uno de nueve grupos de tratamiento diferentes el día experimental 0 y el tratamiento se inició el día experimental 1. A grupos de 10 ratones se les administró oralmente lo siguiente en un volumen de 200 µl al día durante 21 días: el Grupo 1 recibió vehículo de MCT; el Grupo 2 recibió 0,5 mg/kg

de GDC-0973; el Grupo 3 recibió 1,0 mg/kg de GDC-0973; el Grupo 4 recibió 2,0 mg/kg de GDC-0973; el Grupo 5 recibió 3,0 mg/kg de GDC-0973; el Grupo 6 recibió 4,0 mg/kg de GDC-0973; el Grupo 7 recibió 5,0 mg/kg de GDC-0973; el Grupo 8 recibió 6,0 mg/kg de GDC-0973; y el Grupo 9 recibió 7,5 mg/kg de GDC-0973.

Para el segundo estudio, se inocularon ratones BALB/c hembra en forma subcutánea en la región torácica unilateral con 100.000 células colorrectales de murina CT26 en 100 µL de HBSS:matrigel. Cuando los ratones lograron un volumen tumoral medio de aproximadamente 200 mm³, se asignaron aleatoriamente a uno de seis grupos de tratamiento diferentes el día experimental 0 y el tratamiento se inició el día experimental 1. A grupos de 10 ratones se les administró lo siguiente: el Grupo 1 recibió vehículo de MCT en forma oral en un volumen diario de 200 µl durante 21 días y 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipos (anti-gp120, PRO67181, PUR#20455) en forma intraperitoneal 3 veces a la semana; el Grupo 2 recibió 7,5 mg/kg de GDC-0973 en forma oral a diario durante 21 días; el Grupo 3 recibió 10 mg/kg de anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 5944.96 en forma intraperitoneal 3 veces a la semana; el Grupo 4 recibió 10 mg/kg de anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 5944.96 en forma intraperitoneal 3 veces a la semana y 1,0 mg/kg de GDC-0973 en forma oral a diario durante 21 días; el Grupo 5 recibió 10 mg/kg de anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 5944.96 en forma intraperitoneal 3 veces a la semana y 3,0 mg/kg de GDC-0973 en forma oral a diario durante 21 días; y el Grupo 6 recibió 10 mg/kg de anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 5944.96 en forma intraperitoneal 3 veces a la semana y 6,0 mg/kg de GDC-0973 en forma oral a diario durante 21 días. El anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, N° de Lote 5944.96 fue una quimera inversa, que contenía la región variable humana de MPDL3280A y la región constante de murina de IgG2A, con una sustitución de Fc D265A/N297A carente de efectores en la región constante.

Para ambos estudios, los ratones se monitorearon por la presencia de crecimientos en el tumor y de cambios en el peso dos a tres veces a la semana durante la duración del estudio. Para la medición del crecimiento tumoral, el volumen tumoral se midió por el uso de Calibradores UltraCal-IV (Modelo 54-10-111; Fred V. Fowler Company; Newton, MA) con mediciones de longitud y ancho perpendiculares entre sí, y el volumen tumoral se calculó por el uso de la ecuación:

$$\text{Volumen del Tumor (mm}^3\text{)} = (\text{Longitud} \times \text{Ancho}^2) \times 0,5$$

Para la medición de pesos corporales, los ratones se pesaron por el uso de una balanza Adventura Pro AV812 (Ohaus Corporation; Pine Brook, NJ). El cambio porcentual del peso corporal se calculó por el uso de la ecuación:

$$\text{Cambio del peso corporal (\%)} = [(\text{Peso}_{\text{Día nuevo}} - \text{Peso}_{\text{Día 0}}) / \text{Peso}_{\text{Día 0}}] \times 100$$

Los datos se analizaron por el uso de R, versión 2.9.2 (R Development Core Team 2008; R Foundation for Statistical Computing; Viena, Austria), y los modelos mezclados se ajustaron dentro de R por el uso del paquete nlme, versión 3.1-96 (Pinheiro J et al., *R package version 3*. 2009, 1-96). El trazado se llevó a cabo en Prism, versión 5.0b para Mac (GraphPad Software, Inc.; La Jolla, CA). Un enfoque de modelación mezclada se utilizó para analizar la medición repetida de los volúmenes tumoral de los mismos animales con el tiempo (Pinheiro J et al., *Statistics and Computing*, Springer. 2010). Este enfoque se dirigió a las mediciones repetidas y a las expulsiones modestas antes del final del estudio por razones estadísticamente clasificables como faltantes al azar (MAR). Los cambios de efecto fijos en el $\log_2$ (volumen) por tiempo y dosis se modelan como la suma de los efectos principales y la interacción de una base longitudinal de regresión cúbica natural en tiempo con una base longitudinal natural auto-determinada en dosis. Se supuso que las intersecciones y tasas de crecimiento (pendientes) varían aleatoriamente por animal. La inhibición del crecimiento tumoral como un porcentaje del grupo tratado con control (TGI %) se calculó como el porcentaje del área bajo la curva ajustada (AUC) para el grupo de tratamiento respectivo por día en relación con el control mientras que los ratones tratados con control aún se encontraban bajo estudio, por el uso la ecuación:

$$\text{TGI \%} = 100 \times (1 - \text{AUC}_{\text{dosis}} / \text{AUC}_{\text{vehículos}})$$

La Respuesta Completa (CR) se definió como un animal individual cuyo volumen tumoral cayó bajo el Límite de Detección (LOD), en cualquier momento durante el estudio. La Respuesta Parcial (CR) se definió como un animal individual cuyo volumen tumoral se redujo en un 50% de su volumen tumoral inicial en cualquier momento durante el estudio. La Tasa de Respuesta Global (ORR) se definió como la suma de las respuestas completas y parciales.

El Tiempo a la Progresión 5X (TTP5X) se definió como el tiempo en días para un volumen tumoral ajustado del grupo (con base en el análisis de modelado mezclado descrito con anterioridad) que excede 5 veces el volumen inicial, redondeado al medio día más cercano e informado como el TTP5X para dicho grupo. También se empleó un análisis de los efectos mezclados lineales para analizar la medición repetida de los cambios del peso corporal de los mismos

animales con el tiempo.

El tratamiento con concentraciones crecientes de MEKi GDC-0973 suprimió el crecimiento tumoral con la inhibición máxima demostrada por el grupo de tratamiento de 7,5 mg/kg de GDC-0973 a los 20 días después del tratamiento (Figura 8A, Tabla 2).

Tabla 2. TGI aumentado debido a dosis aumentadas de MEKi GDC-0973

Tratamiento	% TGI
Vehículo	0
GDC-0973, 0,5 mg/kg	-8
GDC-0973, 1,0 mg/kg	-16
GDC-0973, 2,0 mg/kg	-21
GDC-0973, 3,0 mg/kg	-4
GDC-0973, 4,0 mg/kg	27
GDC-0973, 5,0 mg/kg	55
GDC-0973, 6,0 mg/kg	72
GDC-0973, 7,5 mg/kg	87

El tratamiento combinado con el anticuerpo anti-PD-L1 y MEKi GDC-0973 demostró que la reducción potenciada del crecimiento tumoral durante un período de tiempo más extenso en comparación con únicamente el tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 o MEKi GDC-0973 (Figura 8B, Tabla 3). Además, las menores concentraciones de dosis de MEKi GDC-0973 (1 mg/kg, 3 mg/kg, y 6 mg/kg) fueron más efectivas a la hora de suprimir el crecimiento tumoral cuando se utilizaron en combinación con el anticuerpo anti-PD-L1 en comparación con la oportunidad en que se utilizó únicamente una mayor concentración de dosis de MEKi GDC-0973 (7,5 mg/kg) (Figura 8A y B, Tabla 3).

Tabla 3. Efectividad del tratamiento combinado de anticuerpo anti-PD-L1 y MEKi GDC-0973

Tratamiento	%TGI	TTP5X (días)	%PR	%CR
Control	0	12	0	0
anticuerpo anti-PD-L1	78	24	20	0

GDC-0973, 7,5 mg/kg	71	21,5	10	0
anticuerpo anti-PD-L1 + GDC-0973, 1,0 mg/kg	78	30	20	10
anticuerpo anti-PD-L1 + GDC-0973, 3,0 mg/kg	98	43	30	20
anticuerpo anti-PD-L1 + GDC-0973, 6,0 mg/kg	106	44,5	40	20

Se llevaron a cabo estudios adicionales para determinar si los inhibidores adicionales de MEK (G02443714, G02442104, y G00039805) también potencian el efecto anti-tumoral de los anticuerpos anti-PD-L1 cuando se utilizan en un tratamiento combinado en un modelo de ratones para tumores colorrectales.

Para el tratamiento combinado con el inhibidor de MEK G02443714, se inocularon ratones BALB/c hembra en forma subcutánea en la región torácica unilateral con 100.000 células colorrectales de murina CT26 en 100 µL de HBSS:matrigel. Cuando los ratones lograron un volumen tumoral medio de aproximadamente 200 mm³, se asignaron aleatoriamente a uno de cuatro grupos de tratamiento diferentes el día experimental 0 y el tratamiento se inició el día experimental 1. A grupos de 10 ratones se les administró lo siguiente: el Grupo 1 recibió vehículo de MCT en forma oral en un volumen diario de 200 µl durante 21 días y 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipos (anti-gp120, PRO67181, PUR#20455) en forma intraperitoneal 3 veces a la semana; el Grupo 2 recibió 25 mg/kg de G02443714 en forma oral a diario durante 21 días; el Grupo 3 recibió 10 mg/kg de anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 5944.96 en forma intraperitoneal 3 veces a la semana; y el Grupo 4 recibió 10 mg/kg de anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 5944.96 en forma intraperitoneal 3 veces a la semana y 25 mg/kg de G02443714 en forma oral a diario durante 21 días. G02443714 como así también vehículo oral (MCT) se dosificaron en forma oral por gavaje cuatro horas antes de la administración de anti-PD-L1 y/o anticuerpo de control de isotipos.

Para el tratamiento combinado con el inhibidor de MEK G02442104, se inocularon ratones BALB/c hembra en forma subcutánea en la región torácica unilateral con 100.000 células colorrectales de murina CT26 en 100 µL de HBSS:matrigel. Cuando los ratones lograron un volumen tumoral medio de aproximadamente 200 mm³, se asignaron aleatoriamente a uno de cuatro grupos de tratamiento diferentes el día experimental 0 y el tratamiento se inició el día

experimental 1. A grupos de 10 ratones se les administró lo siguiente: el Grupo 1 recibió vehículo de MCT en forma oral en un volumen diario de 200 μ l durante 21 días y 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipos (anti-gp120, PRO67181, PUR#20455) en forma intraperitoneal 3 veces a la semana; el Grupo 2 recibió 25 mg/kg de G02442104 en forma oral a diario durante 21 días; el Grupo 3 recibió 10 mg/kg de anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 5944.96 en forma intraperitoneal 3 veces a la semana; y el Grupo 4 recibió 10 mg/kg de anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 5944.96 en forma intraperitoneal 3 veces a la semana y 25 mg/kg de G02442104 en forma oral a diario durante 21 días. G02442104 como así también vehículo oral (MCT) se dosificaron en forma oral por gavaje cuatro horas antes de la administración de anti-PD-L1 y/o anticuerpo de control de isotipos.

Para el tratamiento combinado con el inhibidor de MEK G00039805, se inocularon ratones BALB/c hembra en forma subcutánea en la región torácica unilateral con 100.000 células colorrectales de murina CT26 en 100 μ L de HBSS:matrigel. Cuando los ratones lograron un volumen tumoral medio de aproximadamente 200 mm³, se asignaron aleatoriamente a uno de cuatro grupos de tratamiento diferentes el día experimental 0 y el tratamiento se inició el día experimental 1. A grupos de 10 ratones se les administró lo siguiente: El Grupo 1 recibió vehículo de MCT en forma oral en un volumen diario de 200 μ l durante 21 días y 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipos (anti-gp120, PRO67181, PUR#20455) en forma intraperitoneal 3 veces a la semana; el Grupo 2 recibió 100 mg/kg de G00039805 en forma oral a diario durante 21 días; el Grupo 3 recibió 10 mg/kg de anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 5944.96 en forma intraperitoneal 3 veces a la semana; y el Grupo 4 recibió 10 mg/kg de anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 5944.96 en forma intraperitoneal 3 veces a la semana y 100 mg/kg de G00039805 en forma oral a diario durante 21 días. G00039805 como así también vehículo oral (MCT) se dosificaron en forma oral por gavaje cuatro horas antes de la administración de anti-PD-L1 y/o anticuerpo de control de isotipos.

Para los tres estudios combinados con G02443714, G02442104, o G00039805, los ratones se monitorearon por la presencia de crecimientos en el tumor y de cambios en el peso dos a tres veces a la semana durante la duración del estudio. Para la medición del crecimiento tumoral, el volumen tumoral se midió por el uso de Calibradores UltraCal-IV (Modelo 54-10-111; Fred V. Fowler Company; Newton, MA) con mediciones de longitud y ancho perpendiculares entre

sí, y el volumen tumoral se calculó por el uso de la ecuación:

$$\text{Volumen del Tumor (mm}^3\text{)} = (\text{Longitud} \times \text{Ancho}^2) \times 0,5$$

Para la medición de pesos corporales, los ratones se pesaron por el uso de una balanza Adventura Pro AV812 (Ohaus Corporation; Pine Brook, NJ). El cambio porcentual del peso corporal se calculó por el uso de la ecuación:

$$\text{Cambio del peso corporal (\%)} = [(\text{Peso}_{\text{Día nuevo}} - \text{Peso}_{\text{Día 0}}) / \text{Peso}_{\text{Día 0}}] \times 100$$

Los datos se analizaron por el uso de R, versión 2.9.2 (R Development Core Team 2008; R Foundation for Statistical Computing; Viena, Austria), y los modelos mezclados se ajustaron dentro de R por el uso del paquete nlme, versión 3.1-96 (Pinheiro J et al., *R package version 3*. 2009, 1-96). El trazado se llevó a cabo en Prism, versión 5.0b para Mac (GraphPad Software, Inc.; La Jolla, CA). Un enfoque de modelación mezclada se utilizó para analizar la medición repetida de los volúmenes tumoral de los mismos animales con el tiempo (Pinheiro J et al., *Statistics and Computing*, Springer. 2010). Este enfoque se dirigió a las mediciones repetidas y a las expulsiones modestas antes del final del estudio por razones estadísticamente clasificables como faltantes al azar (MAR). Los cambios de efecto fijos en el $\log_2$ (volumen) por tiempo y dosis se modelan como la suma de los efectos principales y la interacción de una base longitudinal de regresión cúbica natural en tiempo con una base longitudinal natural auto-determinada en dosis. Se supuso que las intersecciones y tasas de crecimiento (pendientes) varían aleatoriamente por animal. La inhibición del crecimiento tumoral como un porcentaje del grupo tratado con control (TGI %) se calculó como el porcentaje del área bajo la curva ajustada (AUC) para el grupo de tratamiento respectivo por día en relación con el control mientras que los ratones tratados con control aún se encontraban bajo estudio, por el uso la ecuación:

$$\text{TGI \%} = 100 \times (1 - \text{AUC}_{\text{dosis}} / \text{AUC}_{\text{vehículos}})$$

La Respuesta Completa (CR) se definió como un animal individual cuyo volumen tumoral cayó bajo el Límite de Detección (LOD), en cualquier momento durante el estudio. La Respuesta Parcial (CR) se definió como un animal individual cuyo volumen tumoral se redujo en un 50% de su volumen tumoral inicial en cualquier momento durante el estudio. La Tasa de Respuesta Global (ORR) se definió como la suma de las respuestas completas y parciales.

El Tiempo a la Progresión 5X (TTP5X) se definió como el tiempo en días para un volumen tumoral ajustado del grupo (con base en el análisis de modelado mezclado descrito con anterioridad) que excede 5 veces el volumen inicial, redondeado al medio día más cercano e informado como el TTP5X para dicho

grupo. También se empleó un análisis de los efectos mezclados lineales para analizar la medición repetida de los cambios del peso corporal de los mismos animales con el tiempo.

El tratamiento combinado con el anticuerpo anti-PD-L1 y G02443714 dio lugar a la reducción potenciada del crecimiento tumoral durante un período de tiempo más extenso en comparación con el tratamiento únicamente con anticuerpos anti-PD-L1 o G02443714 con una respuesta parcial del 20% observada a los 18 días (Figura 9). El tratamiento combinado con el anticuerpo anti-PD-L1 y G02442104 también dio lugar a la reducción potenciada del crecimiento tumoral durante un período de tiempo más extenso en comparación con el tratamiento únicamente con anticuerpos anti-PD-L1 o MEKi G02442104 con una respuesta parcial de 40% y una respuesta completa del 10% observada a los 37,5 días (Figura 10). Además, el tratamiento combinado con el anticuerpo anti-PD-L1 y G00039805 dio lugar a la reducción potenciada del crecimiento tumoral durante un período de tiempo más extenso en comparación con únicamente el tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 o MEKi G00039805 con una respuesta parcial del 30% observada a los 22 días (Figura 11). En conjunto, estos resultados demuestran que una variedad de inhibidores de MEK puede potenciar la actividad anti-tumoral de anticuerpos anti-PD-L1 para inhibir el crecimiento tumoral.

Ejemplo 6: la inhibición de MEK potenció la actividad anti-tumoral de anticuerpos anti-PD-L1 en tumores de melanoma in vivo

Para determinar si MEKi potencia el efecto anti-tumoral de los anticuerpos anti-PD-L1, modelos de ratones para tumores de melanoma se trataron con el tratamiento combinado. En resumen, se inocularon ratones en forma subcutánea con células tumorales y se dejaron crecer tumores. Cuando los ratones portadores tumorales lograron un volumen tumoral medio de 100-200 mm³, los ratones se asignaron aleatoriamente a 1 de 4 grupos de tratamiento. Grupo 1: recibió 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipos (anti-gp120, PRO67181, PUR#20455) en forma intraperitoneal tres veces a la semana durante 3 semanas más vehículo de control MCT, en forma oral, a diario durante 21 días; Grupo 2: recibió 10 mg/kg de anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 59554.96 en forma intraperitoneal tres veces a la semana durante 3 semanas; Grupo 3: recibió 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipos (anti-gp120, PRO67181, PUR#20455) en forma intraperitoneal tres veces a la semana durante 3 semanas más 75 mg/kg de G-38963 MEKi, en forma oral, a diario durante 21 días; Grupo 4: recibió 10 mg/kg de un anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 59554.96

por vía intraperitoneal tres veces por semana durante tres semanas más 75 mg/kg de MEKi G-38963, en forma oral, a diario durante 21 días. Los ratones se monitorearon por la presencia de crecimientos en el tumor y de cambios en el peso. El bloqueo de PD-L1 con un anticuerpo PRO314483 anti-PD-L1, N° de Lote 59554.96 en tumores de melanoma Cloudman S91 (Figura 12) fue efectivo como una terapia de agente único para la prevención del crecimiento tumoral. El tratamiento con MEKi G-38963 también fue altamente efectivo como una terapia de agente único para la prevención del crecimiento tumoral (Figura 12) y fue comparable con el tratamiento del anticuerpo anti-PD-L1. El tratamiento combinado con anticuerpos anti-PD-L1 y MEKi inhibió significativamente el crecimiento tumoral en ambas líneas celulares de melanoma. En contraste, Temodar, un agente quimioterápico, cuando se utilizó en combinación con anticuerpos anti-PD-L1 inhibió la actividad anti-tumoral de anticuerpos anti-PD-L1 (Figura 13). Se obtuvieron resultados similares cuando se utilizó un anticuerpo que bloquea la molécula coestimuladora OX40 de las células T en combinación con el inhibidor de MEK G-38963 (Figura 14). Estos resultados indican que MEKi potenció específicamente la actividad anti-tumoral del bloqueo de PD-L1 y, por lo tanto, que operó sinérgicamente con los anticuerpos anti-PD-L1 para inhibir el crecimiento tumoral de melanoma.

Ejemplo 7: el inhibidor de MEK aumentó la activación de células dendríticas independientemente de la actividad del anticuerpo PDL1

Estudios anteriores han indicado que la inhibición de MEK puede aumentar la función inmune por la regulación por disminución de PD-L1 superficial, lo que sugiere que los efectos de MEKi se mediaron vía alteraciones en la expresión de PD-L1. Para determinar si la inmunogenicidad tumoral potenciada se debe a la dependencia de la expresión de PD-L1 tras la activación de MEK, se comparó la activación de células dendríticas cuando se trataron únicamente con MEKi GDC-0973, anticuerpos anti-PD-L1 (un anticuerpo quimérico compuesto por regiones variables de MPDL3280A fundidas a secuencias constantes IgG2a de ratón que contienen una mutación de Fc para evitar la unión efectiva a los receptores Fcγ) o MEKi en combinación con anticuerpos anti-PD-L1. En resumen, se aislaron células de médula ósea de ratón y se sembraron a 2×10^6 por 10 ml de volumen total por 10 cm de placas tratadas con cultivo no tisular con 40ng/ml de GM-CSF de ratón durante 7 días. Se intercambió medio fresco cada 2-3 días. El medio de cultivo fue RPMI-1640 con suero fetal bovino 10%, HEPES 20μM, 2-mercaptoetanol 55μM, gentamicina 50μg/ml, y diluciones 1:100 de los siguientes

suplementos de Gibco: Gluta-MAX, piruvato de sodio, penicilina/estreptomicina, y aminoácidos no esenciales. El día 7 todas las células se cosecharon células y lavaron, luego se sembraron a 100.000 células/pocillo en una placa de fondo chato de 96 pocillos. Se adicionó inhibidor de MEK GDC-0973 a una concentración final de 1µM, se adicionaron quimera reversa de humano/ratón anti-PDL1 o control de isotipos IgG2a de ratón anti-Artemisa (Genentech PUR 22251) a 10µg/ml. Antes de la adición de células para una concentración final de 1µg/ml cada una, FGK-45 clon anti-CD40 (Genentech lote 68020-62) se reticuló con receptor Fc-gamma IgG anti-Rata de cabra (Jackson ImmunoResearch) a temperatura ambiente durante una hora. Luego de 48 horas de estimulación, se cosecharon células y se transfirieron a una placa con fondo en V de 96 pocillos. En primer lugar, las células se bloquearon con el receptor Fc (anti-CD16/CD32 purificado de BD Biosciences, 5µg/ml) y luego se tiñeron con I-A/I-E-FITC, H-2Db/H-2Kb-biotina (seguido por estreptavidina-PE), CD11c-APC, CD86-FITC, y CD80-PE (todos de BD Biosciences). Se incluyó yoduro de propidio para excluir las células muertas. Las muestras se sometieron a un citómetro de flujo BD FACSCaliber y los datos se analizaron por el uso del software de FlowJo (Tree Star, Inc.). El tratamiento con únicamente anticuerpos anti-PD-L1 funcionalmente bloqueadores aumentó modestamente la expresión superficial DC de MHC-I (Figura 15A), sin embargo no indujo la expresión de marcadores de activación superficial DC MHC-II (Figura 15B), CD80 (Figura 15C), o CD86 (Figura 15D). En contraste, el tratamiento con MEKi potenció la expresión de MHC-II, CD80, y CD86 como así también de MHC-I. Curiosamente, el tratamiento combinado de MEKi y anticuerpos anti-PD-L1 no alteró los marcadores de activación superficial DC en comparación con únicamente MEKi. Se obtuvieron resultados similares con la adición de los anticuerpos anti-CD40 co-estimulatorios (Figura 15E-H). Estos hallazgos novedosos indican que MEKi indujo la activación de DC independientemente de su efecto sobre la expresión de PD-L1. En conjunto, estos resultados demuestran que MEKi aumentó la inmunogenicidad tumoral por mecanismos únicos de anti-PDL y proporcionar apoyo para la combinación de MEKi y el bloqueo de PD-L1 para la potenciación óptima de la inmunidad anti-tumoral.

Ejemplo 8a: ensayo de MEK (ensayo de la actividad de MEK)

Se utiliza MEK1 mutante humana constitutivamente activada expresada en células de insectos como una fuente de actividad enzimática en una concentración final en el ensayo de quinasa de 62,5nM.

El ensayo se lleva a cabo durante 30 minutos en presencia de ATP 50µM

por el uso de GST-ERK1 recombinante producido en *E.Coli* como sustrato. La fosforilación del sustrato se detecta y cuantifica por el uso de reactivos de HTRF suministrados por Cisbio. Estos consisten en un anticuerpo anti-GST conjugado con alofococianina (XL665) y un anticuerpo de ERK anti-fosfo (Thr202/Tyr204) conjugado con criptato de europio. El anticuerpo anti-fosfo reconoce ERK1 doblemente fosforilado sobre Thr202 y Tyr204. Cuando ambos anticuerpos se unen a ERK1 (es decir, cuando el sustrato está fosforilado), la transferencia de energía del criptato a la alofococianina se produce luego de la excitación a 340nm, lo que da lugar a una fluorescencia siendo emitida que es proporcional a la cantidad de sustrato fosforilado producido. La fluorescencia se detecta por el uso de un fluorímetro multipocillos.

Los compuestos se diluyen en DMSO antes de la adición de tampón de ensayo y la concentración final de DMSO en el ensayo es de 1%.

La IC₅₀ se define como la concentración a la que un compuesto dado logra una inhibición de control del 50%. Los valores de IC₅₀ se calculan por el uso del paquete de software XLfit (versión 2.0.5).

Ejemplo 8b: ensayo de MEK (ensayo de la actividad de MEK)

Se utiliza MEK1 mutante humana constitutivamente activada expresada en células de insectos como una fuente de actividad enzimática en una concentración final en el ensayo de quinasa de 15nM.

El ensayo se lleva a cabo durante 30 minutos en presencia de ATP 50μM por el uso de GST-ERK1 recombinante producido en *E.Coli* como sustrato. La fosforilación del sustrato se detecta y cuantifica por el uso de reactivos de HTRF suministrados por Cisbio. Estos consisten en un anticuerpo anti-GST conjugado con alofococianina (XL665) y un anticuerpo de ERK anti-fosfo (Thr202/Tyr204) conjugado con criptato de europio. Estos se utilizan en una concentración final de 4μg/ml y 0,84μg/ml, respectivamente. El anticuerpo anti-fosfo reconoce ERK1 doblemente fosforilado sobre Thr202 y Tyr204. Cuando ambos anticuerpos se unen a ERK1 (es decir, cuando el sustrato está fosforilado), la transferencia de energía del criptato a la alofococianina se produce luego de la excitación a 340nm, lo que da lugar a una fluorescencia siendo emitida que es proporcional a la cantidad de sustrato fosforilado producido. La fluorescencia se detecta por el uso de un fluorímetro multipocillos.

Los compuestos se diluyen en DMSO antes de la adición de tampón de ensayo y la concentración final de DMSO en el ensayo es de 1%.

La IC₅₀ se define como la concentración a la que un compuesto dado logra

una inhibición de control del 50%. Los valores de IC_{50} se calculan por el uso del paquete de software XLfit (versión 2.0.5).

Todas las patentes, solicitudes de patente, documentos, y artículos citados en la presente se incorporan como referencia en su totalidad en la presente.

REIVINDICACIONES

1. Un método para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo caracterizado porque comprende administrar al individuo una cantidad efectiva de un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK.
2. El método de la reivindicación 1, caracterizado porque el antagonista de unión al eje PD-1 se selecciona del grupo que consiste en un antagonista de unión de PD-1, un antagonista de unión de PD-L1 y un antagonista de unión de PD-L2.
3. El método de la Reivindicación 2, caracterizado porque el antagonista de unión al eje PD-1 es un antagonista de unión de PD-1.
4. El método de la Reivindicación 3, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-1 inhibe la unión de PD-1 a sus parejas de unión a ligandos.
5. El método de la Reivindicación 4, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-1 inhibe la unión de PD-1 a PD-L1.
6. El método de la Reivindicación 4, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-1 inhibe la unión de PD-1 a PD-L2.
7. El método de la Reivindicación 4, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-1 inhibe la unión de PD-1 tanto a PD-L1 como a PD-L2.
8. El método de la Reivindicación 4, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-1 es un anticuerpo.
9. El método de la Reivindicación 8, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-1 es MDX-1106.
10. El método de la Reivindicación 8, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-1 es Merck 3745.
11. El método de la Reivindicación 8, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-1 es CT-011.

12. El método de la Reivindicación 4, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-1 es AMP-224.
13. El método de la Reivindicación 2, caracterizado porque el antagonista de unión al eje PD-1 es un antagonista de unión de PD-L1.
14. El método de la Reivindicación 13, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-L1 inhibe la unión de PD-L1 a PD-1.
15. El método de la Reivindicación 13, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-L1 inhibe la unión de PD-L1 a B7-1.
16. El método de la Reivindicación 13, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-L1 inhibe la unión de PD-L1 tanto a PD-L1 como a B7-1.
17. El método de la Reivindicación 13, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-L1 es un anticuerpo.
18. El método de la Reivindicación 17, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-L1 se selecciona del grupo que consiste en: YW243.55.S70, MPDL3280A, y MDX-1105.
19. El método de la Reivindicación 17, caracterizado porque el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de HVR-H1 de SEQ ID NO:15, la secuencia de HVR-H2 de SEQ ID NO:16 y la secuencia de HVR-H3 de SEQ ID NO:3; y una cadena ligera que comprende la secuencia de HVR-L1 de SEQ ID NO:17, la secuencia de HVR-L2 de SEQ ID NO:18, y la secuencia de HVR-L3 de SEQ ID NO:19.
20. El método de la Reivindicación 17, caracterizado porque el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:24 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:21.
21. El método de la Reivindicación 2, caracterizado porque el antagonista de

unión al eje PD-1 es un antagonista de unión de PD-L2.

22. El método de la Reivindicación 21, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-L2 es un anticuerpo.

23. El método de la Reivindicación 21, caracterizado porque el antagonista de unión de PD-L2 es una inmunoadhesina.

24. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, caracterizado porque el inhibidor de MEK es un inhibidor competitivo de MEK.

25. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, caracterizado porque el inhibidor de MEK es más selectivo contra una activación de mutación de KRAS.

26. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, caracterizado porque el inhibidor de MEK es un inhibidor alostérico de MEK.

27. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, caracterizado porque el inhibidor de MEK es más selectivo contra una activación de mutación de BRAF.

28. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, caracterizado porque el inhibidor de MEK es un compuesto de la fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) o (VII), o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo.

29. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, caracterizado porque el inhibidor de MEK se selecciona del grupo que consiste en G02442104, G-38963, G02443714, G00039805 y GDC-0973, o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo.

30. El método de la reivindicación 29, caracterizado porque el inhibidor de MEK es G02443714, G02442104 o G00039805.

31. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, caracterizado porque el cáncer contiene una mutación BRAF V600E.

32. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, caracterizado porque el cáncer contiene un BRAF de tipo salvaje.
33. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, caracterizado porque el cáncer contiene un KRAS de tipo salvaje.
34. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, caracterizado porque el cáncer contiene una activación de mutación de KRAS.
35. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 34, caracterizado porque el tratamiento da lugar a una respuesta sostenida en el individuo después del cese del tratamiento.
36. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 35, caracterizado porque el inhibidor de MEK se administra en forma continua.
37. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 35, caracterizado porque el inhibidor de MEK se administra en forma intermitente.
38. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 35, caracterizado porque el inhibidor de MEK se administra antes que el antagonista de unión al eje PD-1.
39. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 35, caracterizado porque el inhibidor de MEK se administra en forma simultánea con el antagonista de unión al eje PD-1.
40. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 36, caracterizado porque el inhibidor de MEK se administra después que el antagonista de unión al eje PD-1.
41. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 40, caracterizado porque el individuo tiene cáncer colorrectal.
42. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 40, caracterizado

porque el individuo tiene melanoma.

43. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 40, caracterizado porque el individuo tiene cáncer de pulmón de células no pequeñas.

44. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 40, caracterizado porque el individuo tiene cáncer de ovarios.

45. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 40, caracterizado porque el individuo tiene cáncer de mama.

46. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 40, caracterizado porque el individuo tiene cáncer pancreático.

47. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 40, caracterizado porque el individuo tiene una malignidad hematológica.

48. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 40, caracterizado porque el individuo tiene carcinoma de células renales.

49. Un método para potenciar la función inmune en un individuo que tiene cáncer caracterizado porque comprende administrar una cantidad efectiva de una combinación de un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK.

50. El método de la reivindicación 49, caracterizado porque las células T CD8 en el individuo que tiene cebado, activación, proliferación y/o actividad citolítica potenciada con relación a una etapa anterior a la administración de la combinación.

51. El método de la reivindicación 50, caracterizado porque la activación de células T CD8 está caracterizada por una frecuencia elevada de las células T CD8 γ -IFN⁺ y/o actividad citolítica potenciada con relación a una etapa anterior a la administración de la combinación.

52. El método de la reivindicación 50, caracterizado porque el número de células T CD8 es elevado con relación a una etapa anterior a la administración de la combinación.

53. El método de cualquiera de las reivindicaciones 50 a 52, caracterizado porque la célula T CD8 es una célula T CD8 antígeno específica.
54. El método de la reivindicación 50, caracterizado porque las células cancerígenas en el individuo tienen en forma selectiva una expresión elevada de la expresión de antígeno MHC de clase I con relación a una etapa anterior a la administración del antagonista de unión al eje PD-1 y el inhibidor de MEK.
55. El método de la reivindicación 54, caracterizado porque las células PBMC del individuo no tienen una expresión elevada de antígeno MHC de clase I.
56. El método de la reivindicación 49, caracterizado porque las células que presentan antígeno en el individuo tienen una maduración y activación potenciadas con relación a una etapa anterior a la administración del antagonista de unión al eje PD-1 y el inhibidor de MEK.
57. El método de la reivindicación 56, caracterizado porque las células que presentan antígeno son células dendríticas.
58. El método de la reivindicación 56, caracterizado porque la maduración de las células que presentan antígeno está caracterizada por una frecuencia aumentada de células dendríticas CD83⁺.
59. El método de la reivindicación 56, caracterizado porque la activación de las células que presentan antígeno está caracterizada por una expresión elevada de CD80 y CD86 en células dendríticas.
60. El método de la reivindicación 50, caracterizado porque los niveles de suero de IL-10 y/o IL-8 en el individuo están reducidos con relación a una etapa anterior a la administración de la combinación.
61. El método de la reivindicación 50, caracterizado porque el cáncer tiene niveles elevados de infiltración de células T.
62. El método de cualquiera de las reivindicaciones 49 a 61, caracterizado

porque el inhibidor de MEK es un compuesto de la fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI), o (VII), o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo.

63. El método de cualquiera de las reivindicaciones 49 a 61, caracterizado porque el inhibidor de MEK se selecciona del grupo que consiste en G02442104, G-38963, G02443714, G00039805 y GDC-0973, o una sal o solvato aceptable para uso farmacéutico del mismo.

64. El método de cualquiera de las reivindicaciones 49 a 61, caracterizado porque el antagonista de unión al eje PD-1 es un anticuerpo anti-PD-L1.

65. El método de la reivindicación 64, caracterizado porque el PD-L1 sobre la superficie celular cancerígena se inhibe a partir de la transducción de una señal a la vía intracelular.

66. El método de la reivindicación 64, caracterizado porque el anticuerpo anti-PD-L1 es capaz de inhibir la unión entre PD-L1 y PD-1 y/o entre PD-L1 y B7-1.

67. El método de la reivindicación 64, caracterizado porque el anticuerpo anti-PD-L1 es un anticuerpo monoclonal.

68. El método de la reivindicación 64, caracterizado porque el anticuerpo anti-PD-L1 es un fragmento de anticuerpo que se selecciona del grupo que consiste en fragmentos de Fab, Fab'-SH, Fv, scFv, y (Fab')₂.

69. El método de cualquiera de las reivindicaciones 64 a 68, caracterizado porque el anticuerpo anti-PD-L1 es un anticuerpo humanizado.

70. El método de cualquiera de las reivindicaciones 64 a 68, caracterizado porque el anticuerpo anti-PD-L1 es un anticuerpo humano.

71. El método de la Reivindicación 64, caracterizado porque el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de HVR-H1 de SEQ ID NO:15, la secuencia de HVR-H2 de SEQ ID NO:16 y la secuencia de HVR-H3 de SEQ ID NO:3; y una cadena ligera que comprende la secuencia de HVR-L1 de SEQ ID NO:17, la secuencia de HVR-L2 de SEQ ID NO:18, y la secuencia de

HVR-L3 de SEQ ID NO:19.

72. El método de la Reivindicación 64, caracterizado porque el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:24 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:21.

73. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 72, caracterizado porque el antagonista de unión al eje PD-1 se administra por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, tópica, oral, transdérmica, intraperitoneal, intraorbital, por implantación, por inhalación, por vía intratecal, intraventricular, o intranasal.

74. Un kit que comprende un antagonista de unión al eje PD-1 y un prospecto de empaque caracterizado porque comprende instrucciones para utilizar el antagonista de unión al eje PD-1 en combinación con un inhibidor de MEK para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo.

75. Un kit que comprende un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK, y un prospecto de empaque caracterizado porque comprende instrucciones para utilizar el antagonista de unión al eje PD-1 y el inhibidor de MEK para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo.

76. Un kit que comprende un inhibidor de MEK y un prospecto de empaque caracterizado porque comprende las instrucciones para utilizar el inhibidor de MEK en combinación con un antagonista de unión al eje PD-1 para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo.

77. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 74 a 76, caracterizado porque el antagonista de unión al eje PD-1 es un anticuerpo anti-PD-L1.

78. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 74 a 76, caracterizado porque el antagonista de unión al eje PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1.

79. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 74 a 76, caracterizado porque el antagonista de unión al eje PD-1 es una inmunoadhesina anti-PD-1.

Resumen

La presente invención describe un tratamiento combinado que comprende un antagonista de unión al eje PD-1 y un inhibidor de MEK y métodos para el uso del mismo, que incluyen métodos para tratar afecciones donde se desea una inmunogenicidad potenciada tal como el aumento de la inmunogenicidad tumoral para el tratamiento del cáncer.

Figura 1

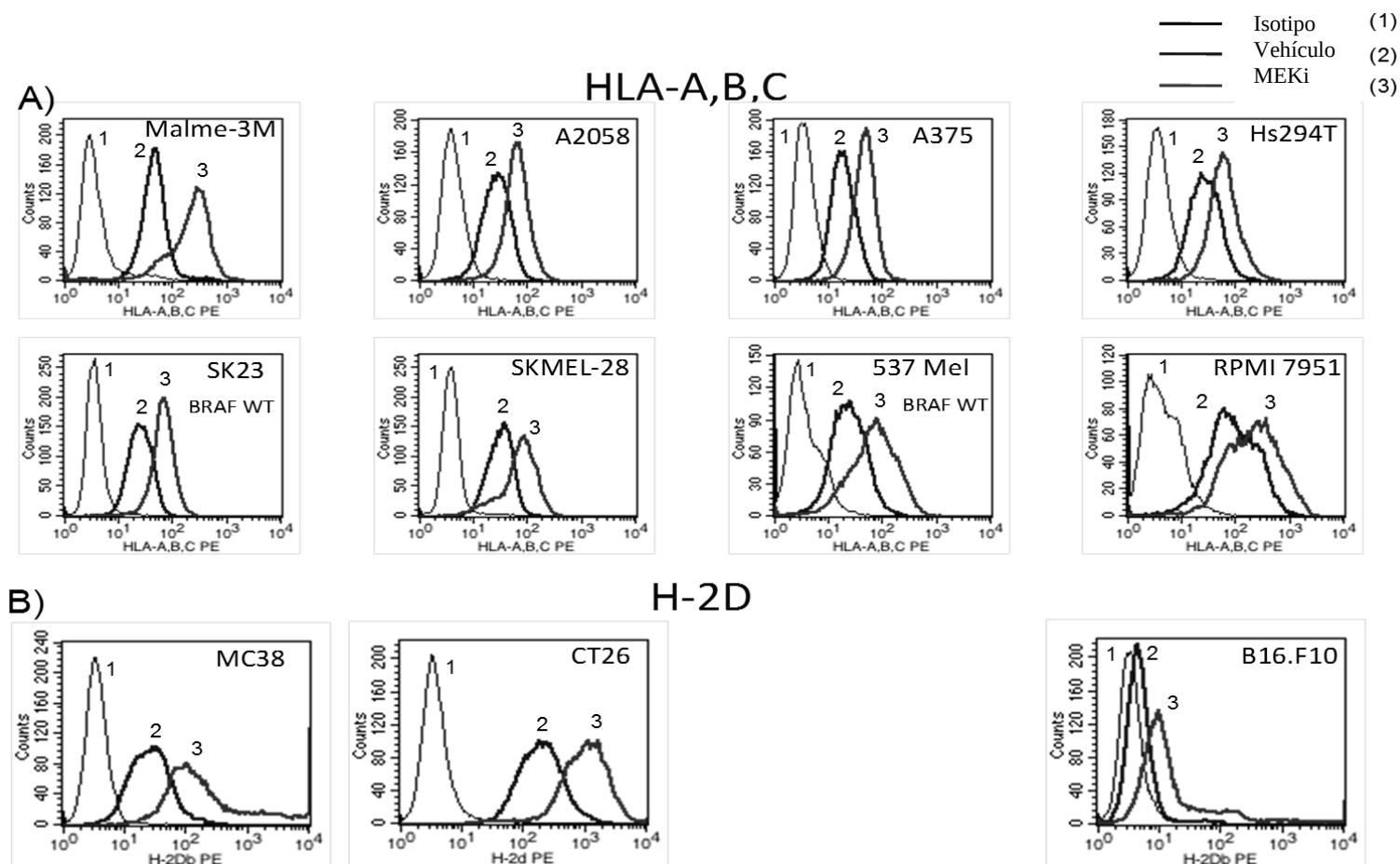
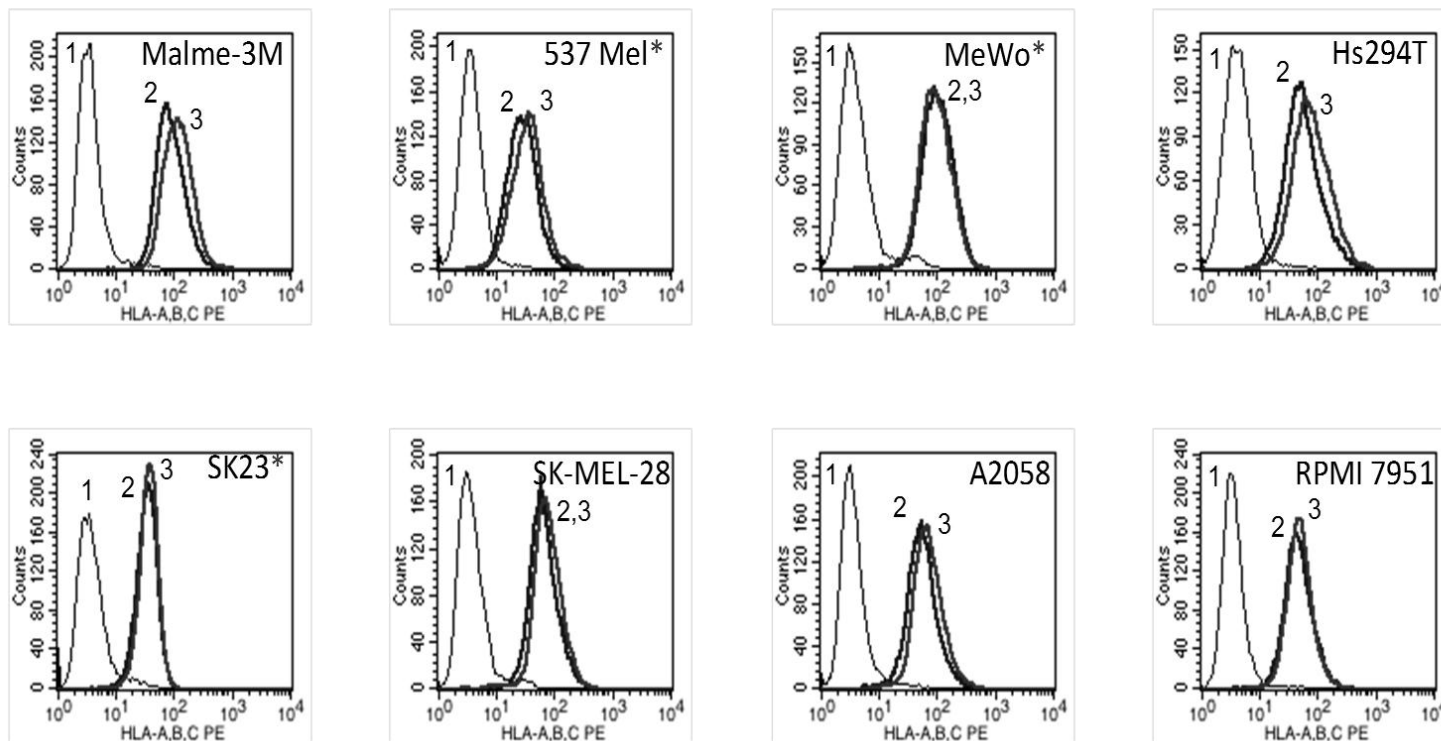


Figura 2

HLA-A,B,C

- Isotipo (1)
 — Vehículo (2)
 — BRAFi (3)



Counts=cuentas

Figura 3

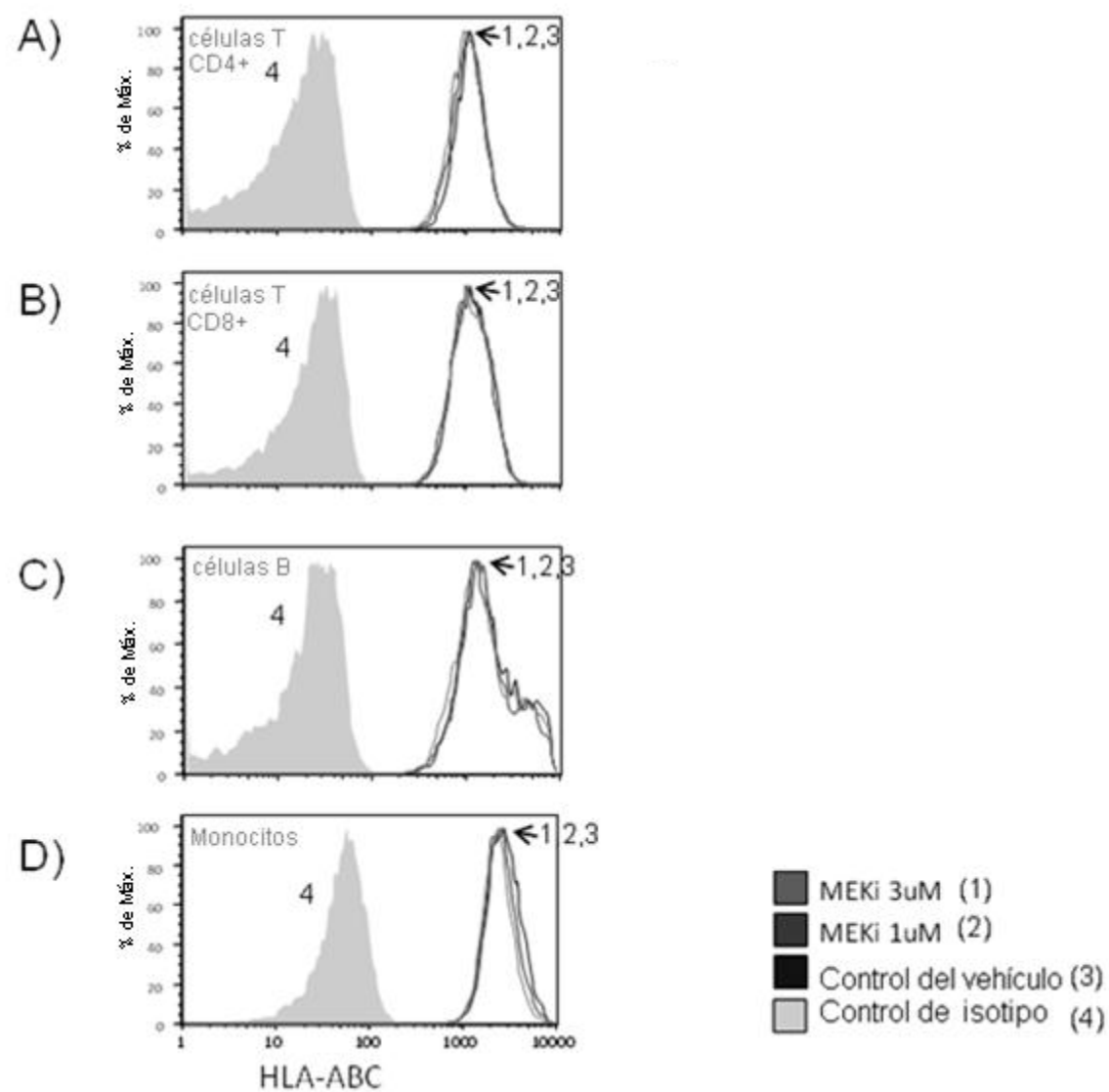


Figura 4

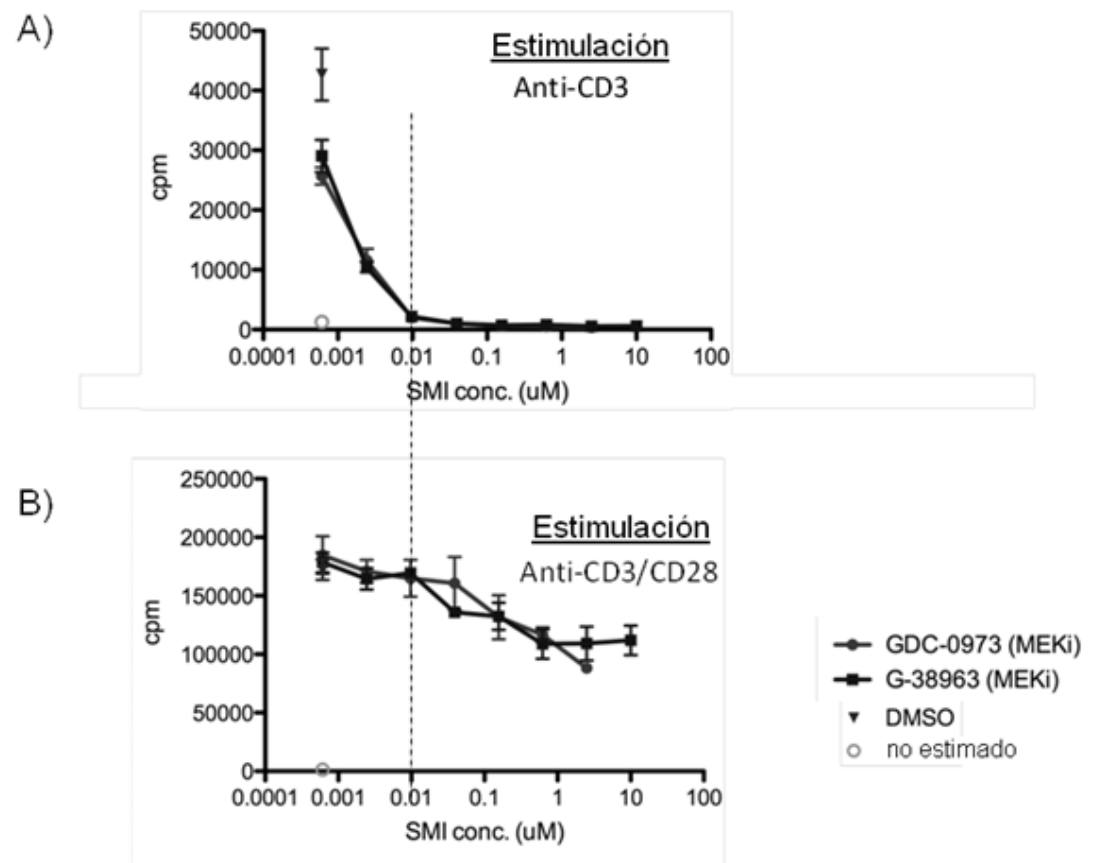


Figura 5

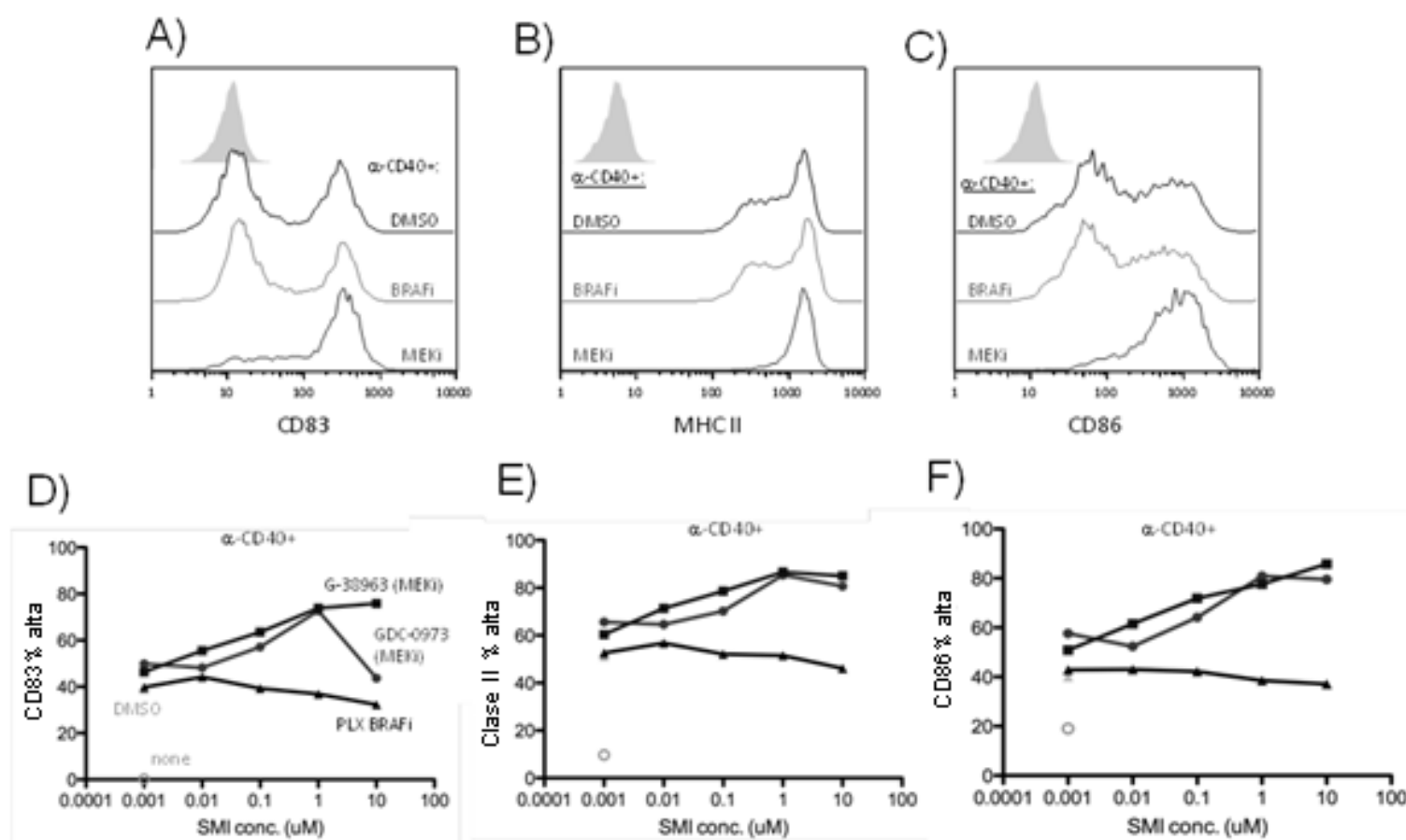


Figura 6

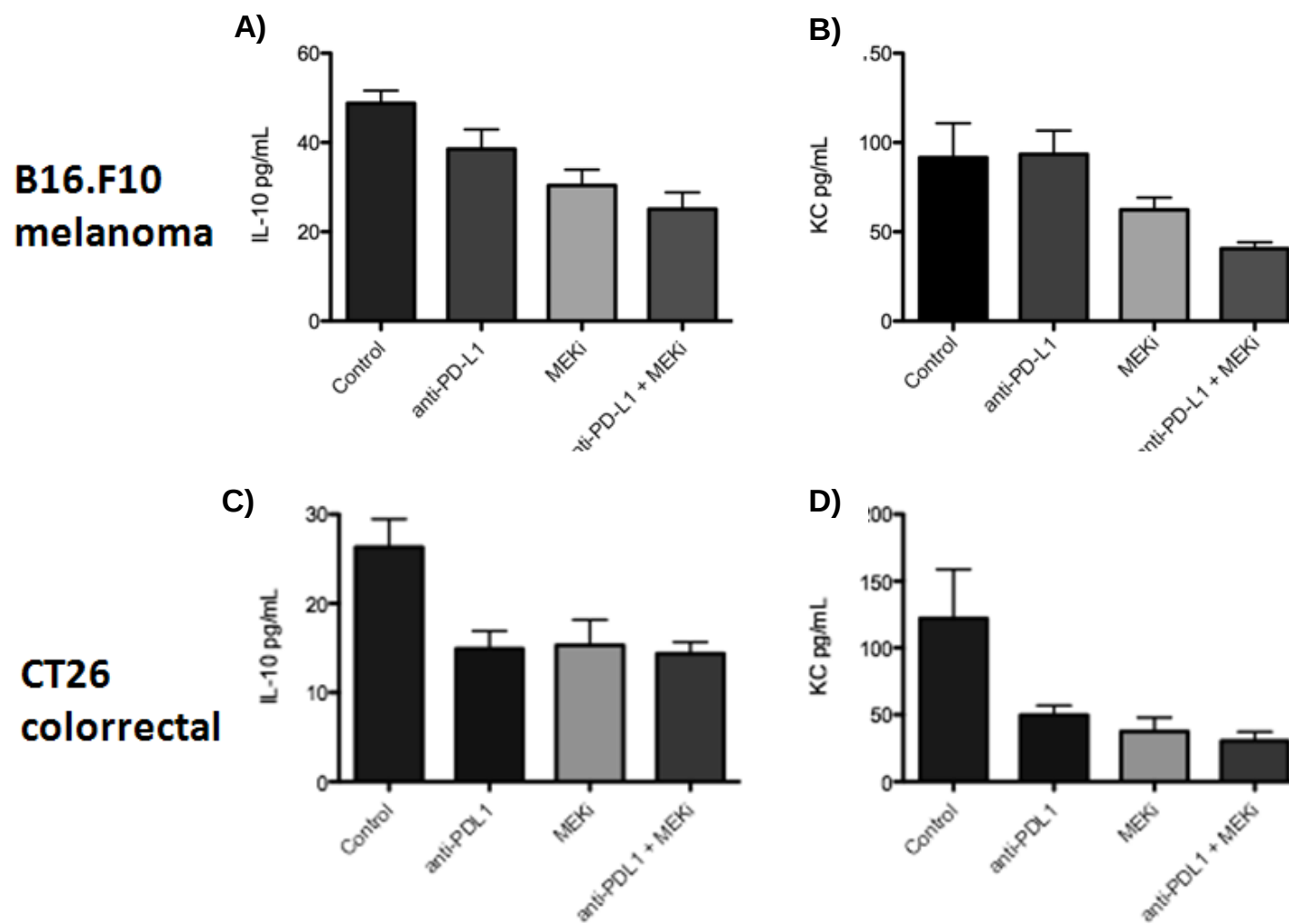
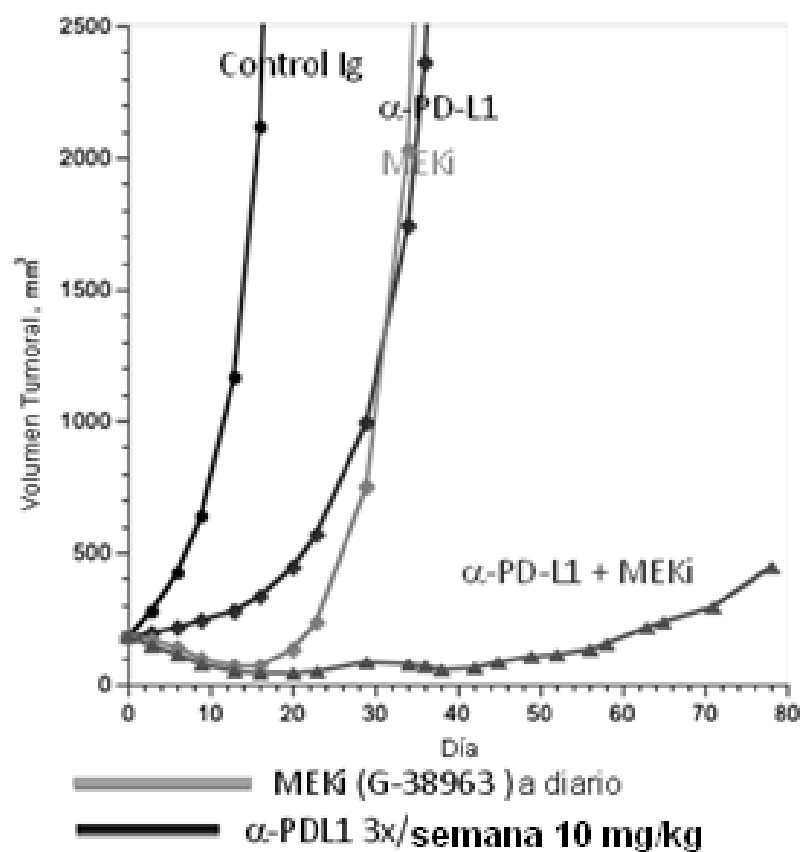


Figura 7

A)

modelo colorrectal CT26



B)

Modelo colorrectal singénico MC38

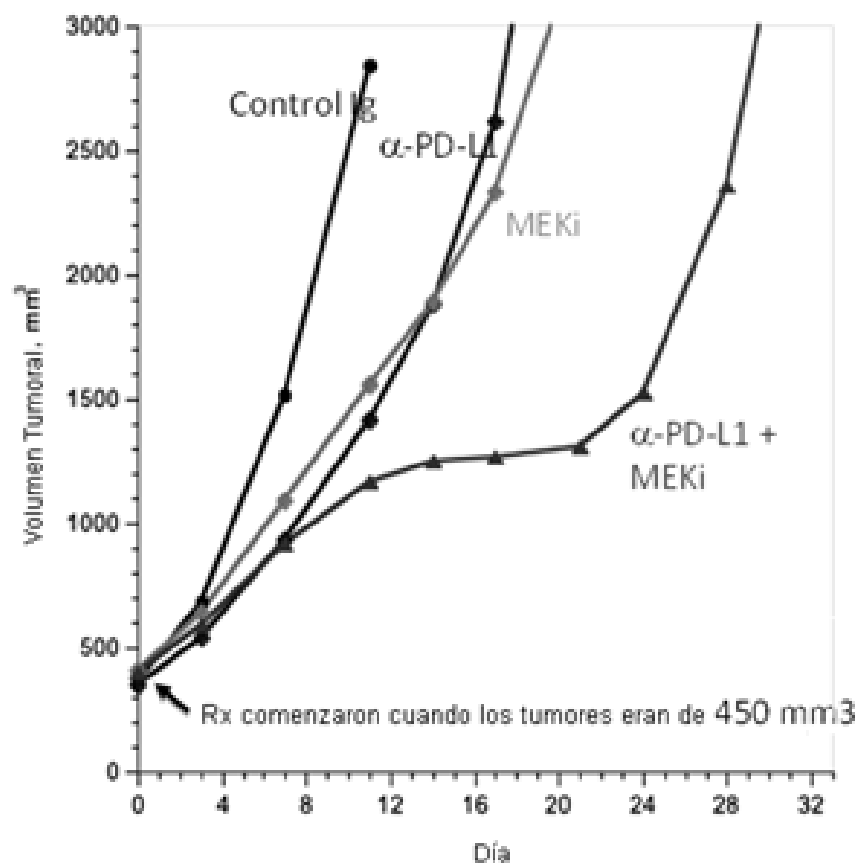
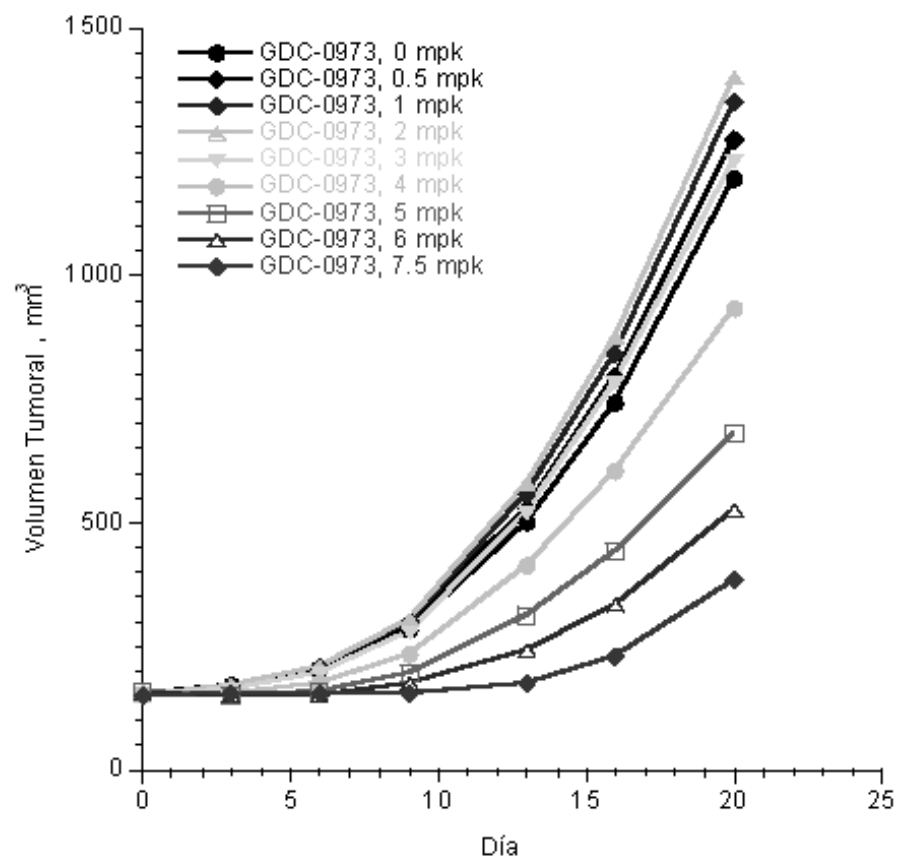


Figura 8

A)



B)

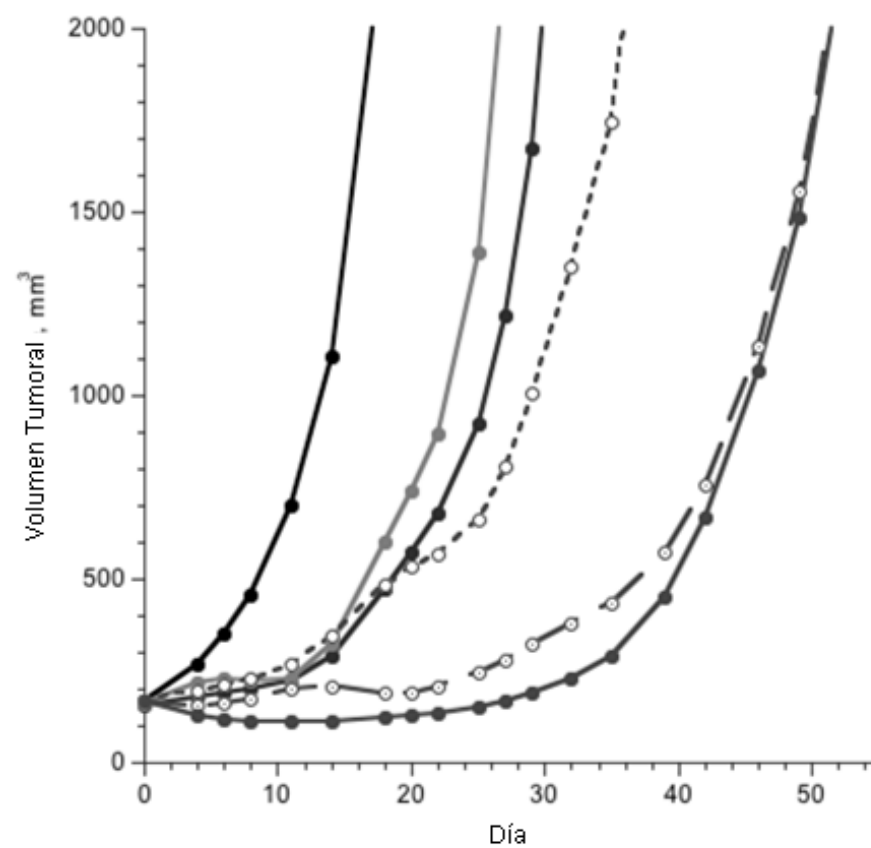
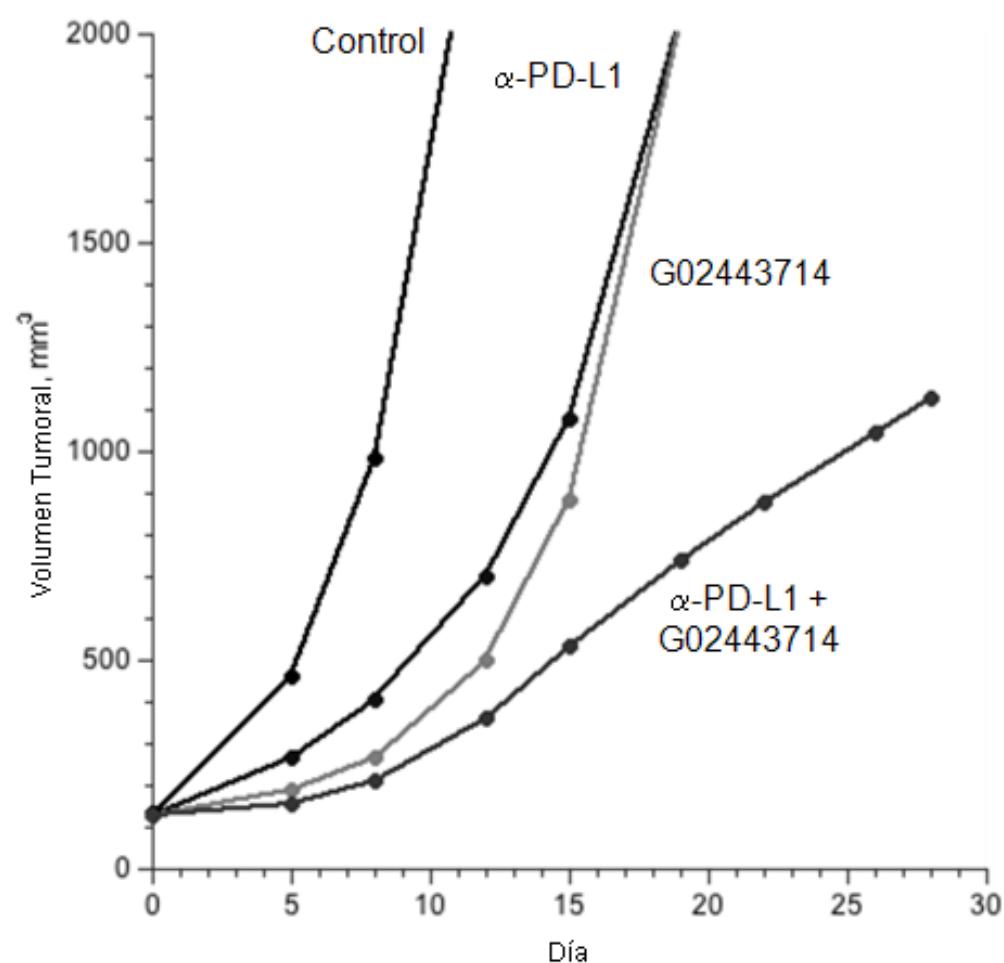


Figura 9



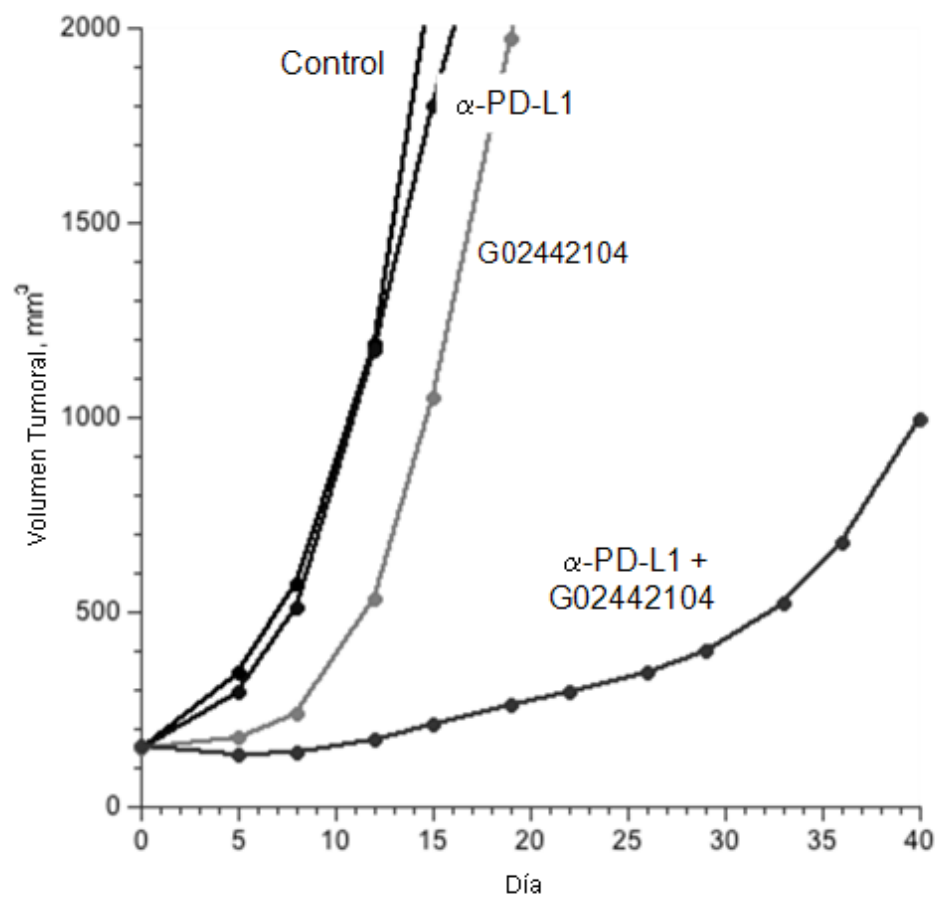
Control: TTP5X = 6,5 días, 0% TGI, 0% PR

anti-PD-L1: TTP5X = 12 días, 60% TGI, 0% PR

G02443714: TTP5X = 14 días, 75% TGI, 0% PR

anti-PD-L1 + G02443714: TTP5x = **18 días, 85% TGI, 20% PR**

Figura 10



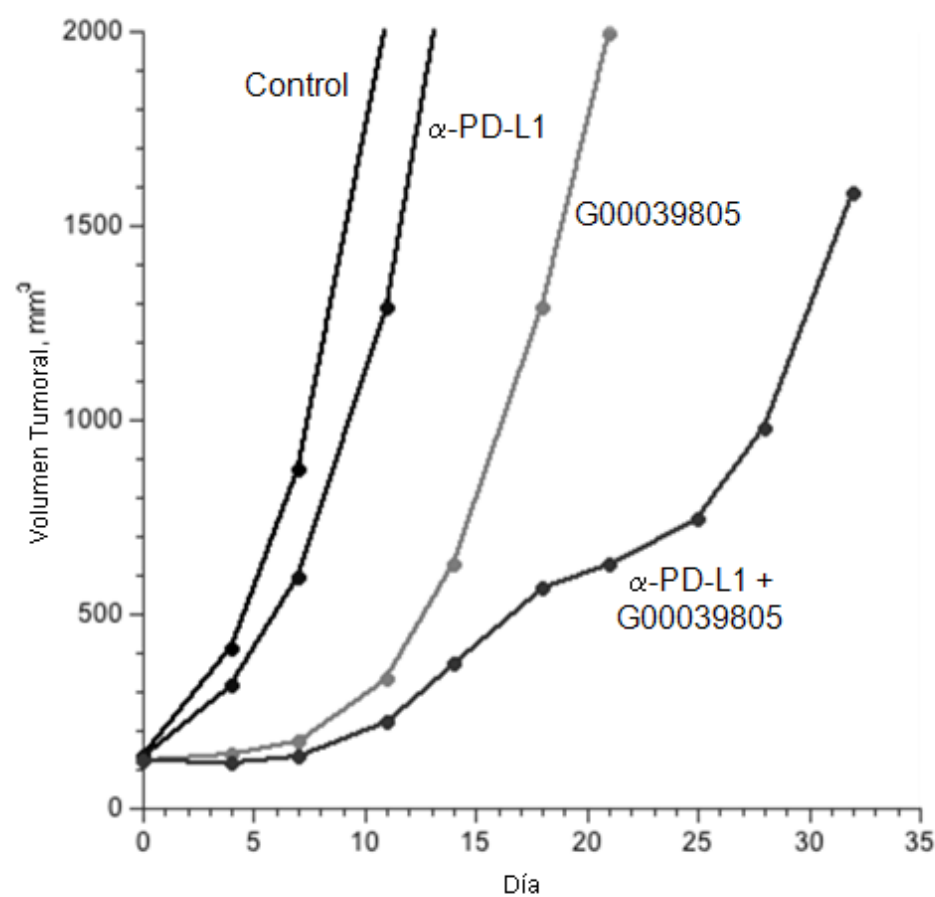
Control: TTP5X = 10 días, 0% TGI, 0% PR, 0% CR

anti-PD-L1: TTP5X = 10 días, -33% TGI, 10% PR, 0% CR

G02442104: TTP5X = 14 días, 1% TGI, 0% PR, 0% CR

anti-PD-L1 + G02442104: TTP5x = **37,5 días, 93% TGI, 40% PR, 10% CR**

Figura 11



Control: TTP5X = 6 días, 0% TGI, 0% PR

anti-PD-L1: TTP5X = 7,5 días, 6% TGI, 0% PR

G00039805: TTP5X = 14,5 días, 47% TGI, 10% PR

anti-PD-L1 + G00039805: TTP5x = **22 días, 80% TGI, 30% PR**

Figura 12

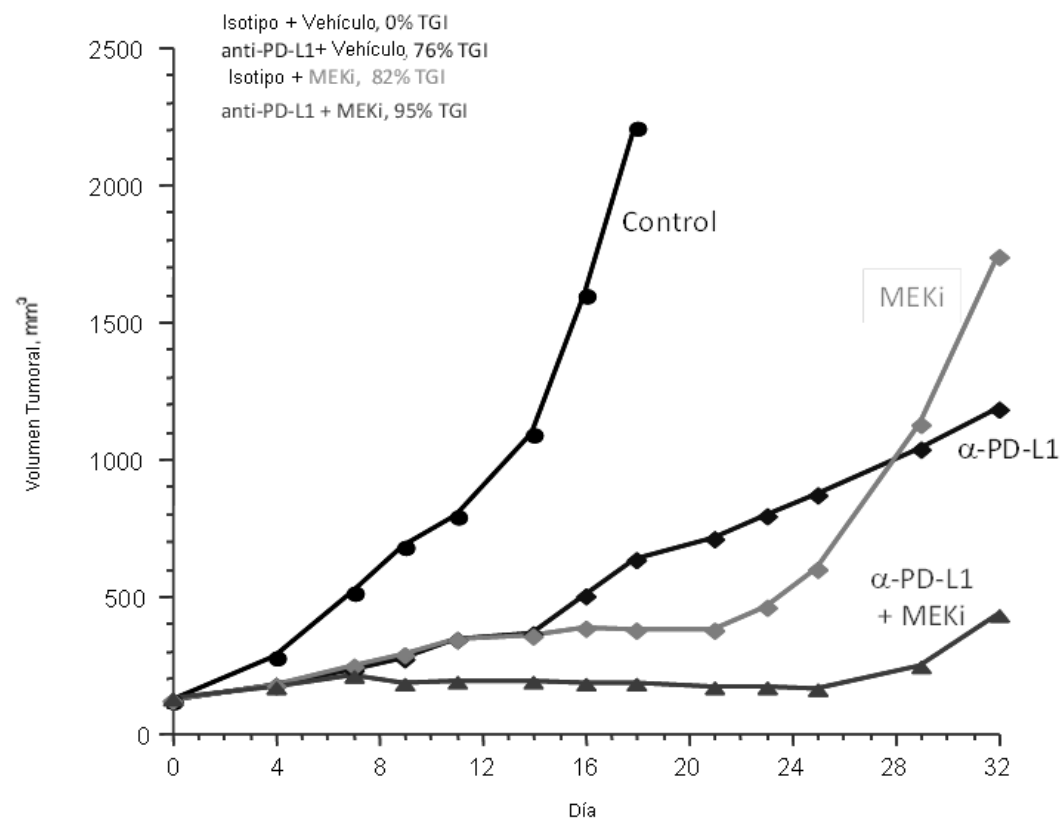
Modelo de melanoma S91 de Cloudman

Figura 13

Modelo de melanoma S91 de Cloudman

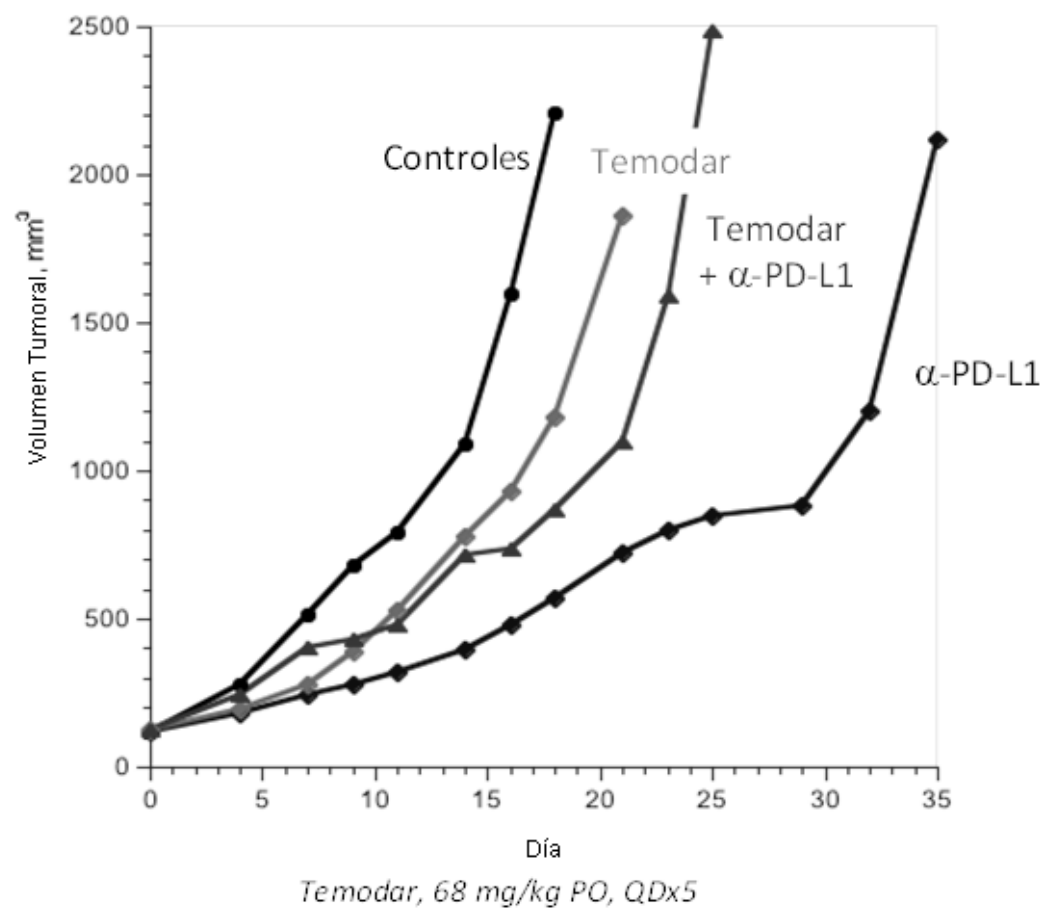


Figura 14

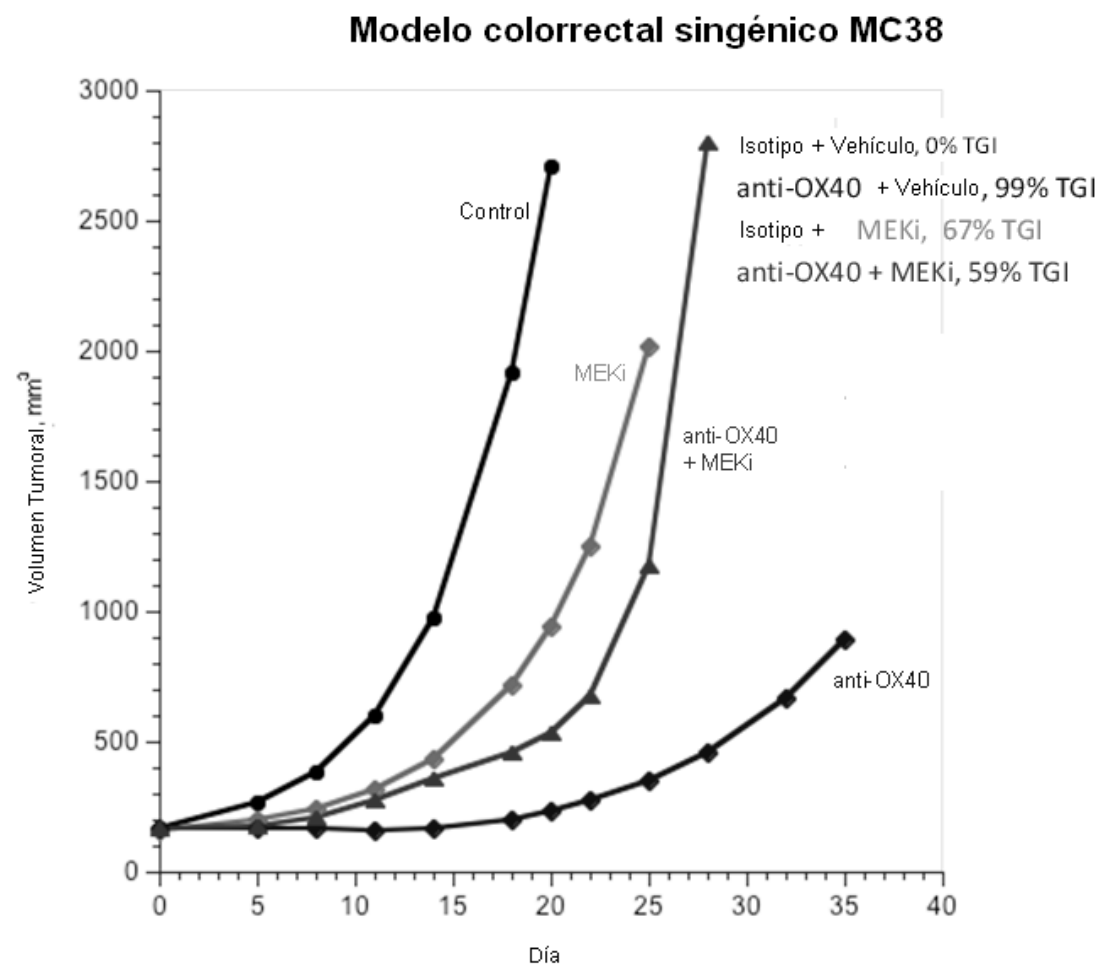
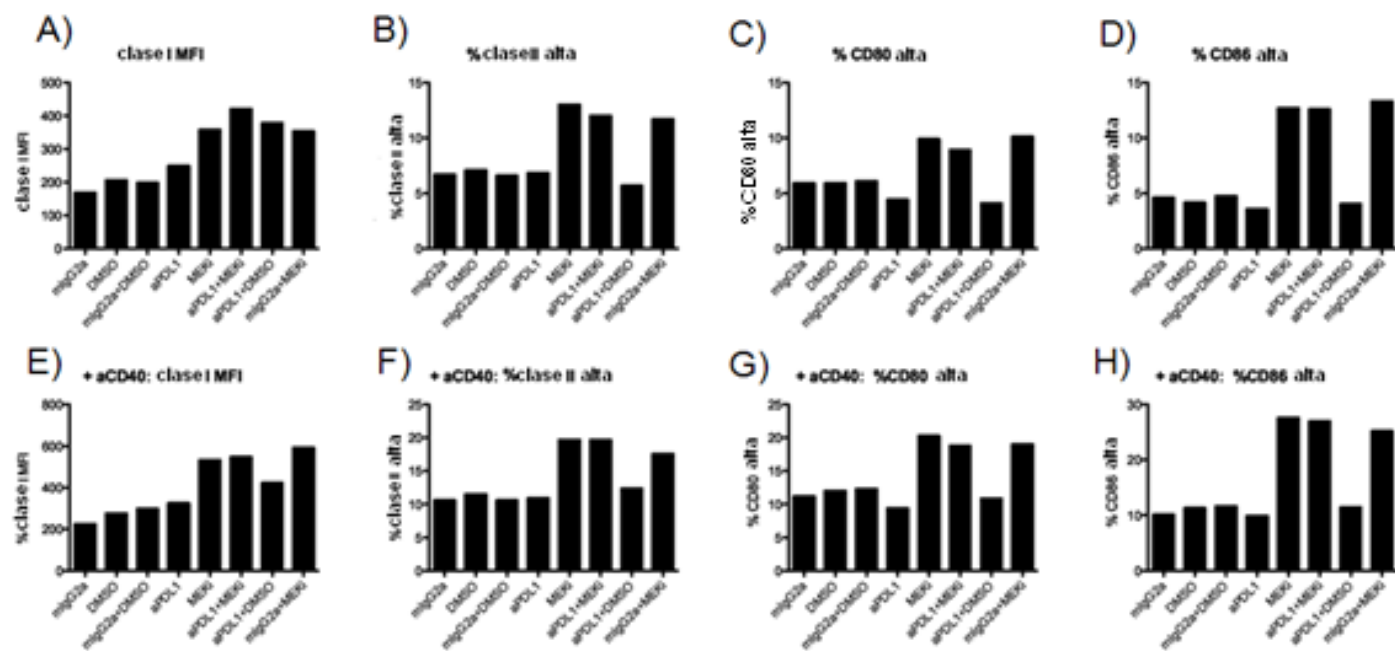


Figura 15



LISTADO DE SECUENCIAS

<110> GENENTECH, INC.
MAECKER, Heather
IRVING, Bryan

<120> MÉTODOS PARA TRATAR EL CÁNCER POR EL USO DE
ANTAGONISTAS DE UNIÓN AL EJE PD-1E INHIBIDORES DE MEK

<130> 146392010140

<140> No Asignado Aún
<141> En forma Concurrente con la Presente

<150> US 61/574,406
<151> 2011-08-01

<160> 27

<170> FastSEQ para versión 4.0 de Windows

<210> 1
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<220>
<221> VARIANTE
<222> 6
<223> Xaa = Asp o Gly

<400> 1
Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Ser Trp Ile His
1 5 10

<210> 2
<211> 18
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<220>
<221> VARIANTE
<222> 4
<223> Xaa = Ser o Leu

<220>
<221> VARIANTE
<222> 10
<223> Xaa = Thr o Ser

<400> 2
Ala Trp Ile Xaa Pro Tyr Gly Gly Ser Xaa Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
1 5 10 15
Lys Gly

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 3
Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 4
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 4
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 5
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 5
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10

<210> 6
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 6
Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 7
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
1 5 10

<210> 8
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Constructo Sintético

<220>
<221> VARIANTE
<222> 5
<223> Xaa = Asp o Val

<220>
<221> VARIANTE
<222> 6
<223> Xaa = Val o Ile

<220>
<221> VARIANTE
<222> 7
<223> Xaa = Ser o Asn

<220>
<221> VARIANTE
<222> 9
<223> Xaa = Ala o Phe

<220>
<221> VARIANTE
<222> 10
<223> Xaa = Val o Leu

<400> 8
Arg Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Ala
1 5 10

<210> 9
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<220>
<221> VARIANTE
<222> 4
<223> Xaa = Phe o Thr

<220>
<221> VARIANTE
<222> 6
<223> Xaa = Tyr o Ala

<400> 9
Ser Ala Ser Xaa Leu Xaa Ser
1 5

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<220>
<221> VARIANTE
<222> 3
<223> Xaa = Tyr, Gly, Phe o Ser

<220>
<221> VARIANTE

<222> 4
<223> Xaa = Leu, Tyr, Phe o Trp

<220>
<221> VARIANTE
<222> 5
<223> Xaa = Tyr, Asn, Ala, Thr, Gly, Phe o Ile

<220>
<221> VARIANTE
<222> 6
<223> Xaa = His, Val, Pro, Thr o Ile

<220>
<221> VARIANTE
<222> 8
<223> Xaa = Ala, Trp, Arg, Pro o Thr

<400> 10
Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr
1 5

<210> 11
<211> 23
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 11
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 12
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 12
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 13
<211> 32
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 13
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 14
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 14
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
1 5 10

<210> 15
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 15
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser Trp Ile His
1 5 10

<210> 16
<211> 18
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 16
Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
1 5 10 15
Lys Gly

<210> 17
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 17
Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 18
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 18
Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1 5

<210> 19
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 19
Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala Thr
1 5

<210> 20
<211> 118
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 20
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser
20 25 30
Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 21
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 21
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 22
<211> 440
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 22
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser

			20					25					30				
Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val		
		35					40					45					
Ala	Val	Ile	Trp	Tyr	Asp	Gly	Ser	Lys	Arg	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val		
	50					55					60						
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Phe		
65					70					75					80		
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
				85					90					95			
Ala	Thr	Asn	Asp	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser		
			100					105					110				
Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser		
		115					120					125					
Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp		
	130					135					140						
Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr		
145					150					155					160		
Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr		
				165					170					175			
Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys		
			180					185					190				
Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp		
		195					200					205					
Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala		
	210					215					220						
Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro		
225					230					235					240		
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val		
				245					250					255			
Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val		
			260					265					270				
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln		
		275					280					285					
Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln		
	290					295					300						
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly		
305					310					315					320		
Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro		
				325					330					335			
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr		
			340					345					350				
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser		
		355					360					365					
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr		
	370					375					380						
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr		
385					390					395					400		
Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe		
				405					410					415			
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys		
			420					425					430				
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys										
		435					440										

<210> 23
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Constructo Sintético

<400> 23
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 24
<211> 118
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 24
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser
20 25 30
Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 25
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Constructo Sintético

<400> 25
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 26
<211> 448
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Constructo Sintético

<400> 26

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
1				5					10					15		
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Ser	
			20					25					30			
Trp	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
		35				40						45				
Ala	Trp	Ile	Ser	Pro	Tyr	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	
	50					55					60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	
65					70					75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
			85						90				95			
Ala	Arg	Arg	His	Trp	Pro	Gly	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
			100					105					110			
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	
		115					120					125				
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	
	130					135					140					
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	
145					150					155					160	
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	
			165						170					175		
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	
			180					185					190			
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	
		195				200					205					
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	
	210					215					220					
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	
225					230					235					240	
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	
			245						250					255		
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	
			260					265					270			
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	
		275					280					285				
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Ala	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	
	290					295					300					
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	
305					310					315					320	
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	
			325						330					335		
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	
			340					345					350			
Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	
		355					360					365				
Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	
	370					375					380					
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	
385					390					395					400	
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	
			405						410					415		
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	
		420						425					430			
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	
		435					440						445			

<210> 27

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Constructo Sintético

<400> 27

[illegible]