

COMPUESTOS DE PIRIDO[3,2-D]PIRIMIDINA COMO INMUNOMODULADORES

REIVINDICACIÓN DE PRIORIDAD

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional estadounidense n.º 62/908,317, presentada el 30 de septiembre de 2019, que se incorpora a la presente mediante referencia en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente solicitud hace referencia a compuestos de pirido[3,2-d]pirimidina que modulan la interacción proteína/proteína de PD-1/PD-L1 y son útiles en el tratamiento de diversas enfermedades que incluyen enfermedades infecciosas y cáncer.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El sistema inmunitario desempeña un papel importante en el control y la erradicación de enfermedades tales como el cáncer. Sin embargo, las células cancerosas a menudo desarrollan estrategias para evadir o suprimir el sistema inmunitario con el fin de favorecer su desarrollo. Uno de estos mecanismos es la alteración de la expresión de moléculas coestimuladoras y coinhibidoras expresadas en células inmunitarias (Postow *et ál.*, *J. Clinical Oncology* 2015, 1-9). El bloqueo de la señalización de un punto de control inmunitario inhibidor, tal como PD-1, ha demostrado ser una modalidad de tratamiento auspiciosa y eficaz.

La muerte celular programada-1 (PD-1), también conocida como CD279, es un receptor de la superficie celular que se expresa en linfocitos T activados, linfocitos T citolíticos naturales, linfocitos B y macrófagos (Greenwald *et ál.*, *Annu. Rev. Immunol.* 2005, 23:515–548; Okazaki y Honjo, *Trends Immunol* 2006, (4):195-201). Funciona como un sistema intrínseco de respuesta negativa para prevenir la activación de los linfocitos T, lo cual, a su vez, reduce la autoinmunidad y promueve la autotolerancia. Además, también se conoce que PD-1 desempeña un papel fundamental en la supresión de la respuesta de los linfocitos T específica a un antígeno en enfermedades tales como cáncer e infección viral (Sharpe *et ál.*, *Nat. Immunol.* 2007 8, 239–245; Postow *et ál.*, *J. Clinical Oncol.* 2015, 1-9).

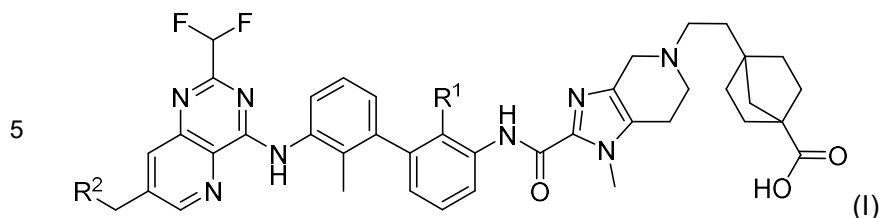
La estructura de PD-1 consiste en un dominio extracelular de inmunoglobulina tipo variable seguido por una región transmembrana y un dominio intracelular (Parry *et ál.*, *Mol. Cell Biol.* 2005, 9543–9553). El dominio intracelular contiene dos sitios de fosforilación ubicados en un motivo inhibidor de inmunorreceptor basado en tirosina y un motivo de cambio de inmunorreceptor basado en tirosina, lo que sugiere que PD-1 regula de manera negativa las señales mediadas por el receptor de linfocitos T. PD-1 posee dos ligandos, PD-L1 y PD-L2 (Parry *et ál.*, *Mol. Cell Biol.* 2005, 9543–9553; Latchman *et ál.*, *Nat. Immunol.* 2001, 2, 261–268), y estos difieren en sus patrones de expresión. La proteína PD-L1 sufre una regulación

positiva en macrófagos y células dendríticas en respuesta al tratamiento con lipopolisacáridos y GM-CSF, y en linfocitos T y linfocitos B tras la señalización de receptores de linfocitos T y de receptores de linfocitos B. El PD-L1 también presenta una expresión alta en casi todas las células tumorales, y la expresión aumenta de manera adicional después del tratamiento con IFN- γ (Iwai *et ál.*, *PNAS* 2002, 99(19):12293-7; Blank *et ál.*, *Cancer Res.* 2004, 64(3):1140-5). De hecho, se ha demostrado que el estado de expresión de PD-L1 tumoral es pronóstico en múltiples tipos de tumores (Wang *et ál.*, *Eur. J. Surg. Oncol.* 2015; Huang *et ál.*, *Oncol. Rep.* 2015; Sabatier *et ál.*, *Oncotarget* 2015, 6(7): 5449–5464). En contraposición, la expresión de PD-L2 es más restringida y ocurre principalmente en células dendríticas (Nakae *et ál.*, *J. Immunol.* 2006, 177:566-73). La ligación del PD-1 con sus ligandos PD-L1 y PD-L2 en linfocitos T suministra una señal que inhibe la producción de IL-2 e IFN- γ , así como la proliferación celular inducida tras la activación de receptores de linfocitos T (Carter *et ál.*, *Eur. J. Immunol.* 2002, 32(3):634-43; Freeman *et ál.*, *J. Exp. Med.* 2000, 192(7):1027-34). El mecanismo implica el reclutamiento de fosfatasas SHP-1 o SHP-2 para inhibir la señalización de receptores de linfocitos T tal como la fosforilación de Lck y Syk (Sharpe *et ál.*, *Nat. Immunol.* 2007, 8, 239–245). La activación del eje de señalización de PD-1 también atenúa la fosforilación del bucle de activación de PKC- θ , que es necesaria para la activación de las vías celulares de NF- κ B y AP1, y para la producción de citocinas tales como IL-2, IFN- γ y TNF (Sharpe *et ál.*, *Nat. Immunol.* 2007, 8, 239–245; Carter *et ál.*, *Eur. J. Immunol.* 2002, 32(3):634-43; Freeman *et ál.*, *J. Exp. Med.* 2000, 192(7):1027-34).

Varias líneas de evidencia de estudios preclínicos en animales indican que el PD-1 y sus ligandos ejercen una regulación negativa de las respuestas inmunitarias. Se ha mostrado que los ratones con deficiencia de PD-1 desarrollan glomerulonefritis similar al lupus y cardiomiopatía dilatada (Nishimura *et ál.*, *Immunity* 1999, 11:141–151; Nishimura *et ál.*, *Science* 2001, 291:319–322). Mediante el uso de un modelo de LCMV de infección crónica, se ha mostrado que la interacción de PD-1/PD-L1 inhibe la activación, expansión y adquisición de funciones efectoras de linfocitos T CD8 específicos del virus (Barber *et ál.*, *Nature* 2006, 439, 682-7). En conjunto, estos datos respaldan el desarrollo de un abordaje terapéutico para bloquear la cascada de señalización inhibidora mediada por el PD-1 con el fin de aumentar o “rescatar” la respuesta de los linfocitos T. Por consiguiente, se necesitan nuevos compuestos que bloqueen la interacción proteína/proteína de PD-1/PD-L1.

COMPENDIO

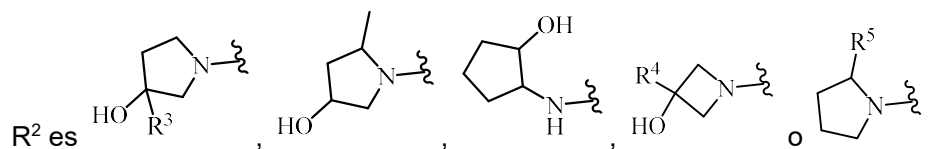
La presente descripción proporciona compuestos de Fórmula (I):



o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde:

R^1 es CH_3 o Cl ;

10



R^3 es H o CH_3 ;

R^4 es H o CH_3 ; y

15

R^5 es H o CH_3 .

La presente descripción proporciona además una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.

20 La presente descripción además proporciona métodos para inhibir la interacción PD-1/PD-L1, donde dicho método comprende administrar a un paciente un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La presente descripción además proporciona métodos para tratar una enfermedad o trastorno asociado con la inhibición de la interacción de PD-1/PD-L1, donde dicho método comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La presente descripción además proporciona métodos para mejorar, estimular y/o aumentar la respuesta inmunitaria en un paciente, donde dicho método comprende administrar al paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

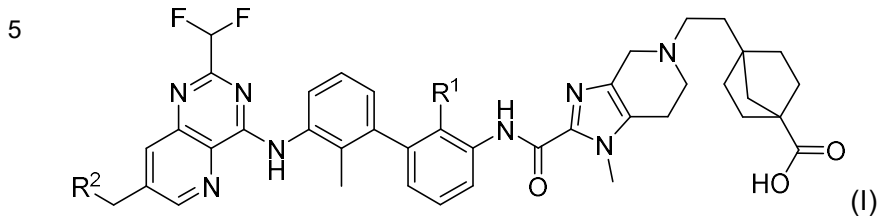
30 La presente descripción proporciona un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para uso en cualquiera de los métodos descritos en la presente.

La presente descripción proporciona el uso de un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para la preparación de un medicamento para uso en cualquiera de los métodos descritos en la presente.

DESCRPCIÓN DETALLADA

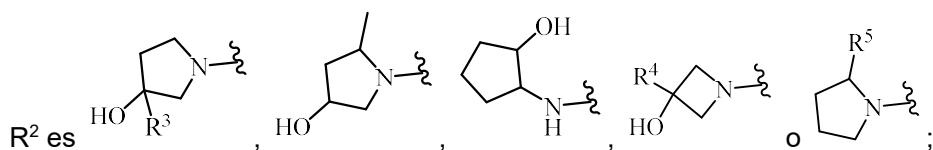
I. Compuestos

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona, entre otros, un compuesto de Fórmula (I):



10 o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde:

R^1 es CH_3 o Cl ;



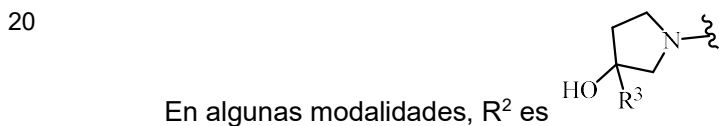
R^3 es H o CH_3 ;

R^4 es H o CH_3 ; y

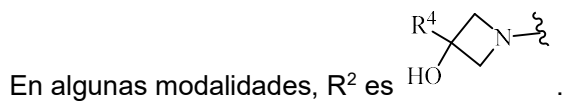
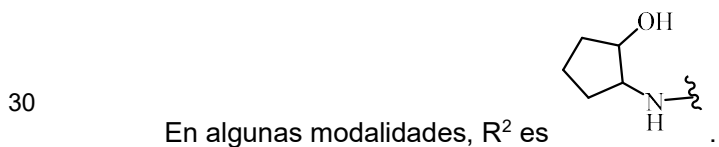
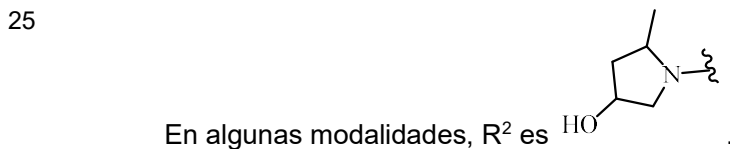
R^5 es H o CH_3 .

En algunas modalidades, R^1 es CH_3 .

En algunas modalidades, R^1 es Cl .

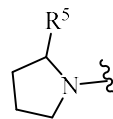


En algunas modalidades de la modalidad anterior, R^3 es H . De manera alternativa, en algunas modalidades, R^3 es CH_3 .



En algunas modalidades de la modalidad anterior, R^4 es H . De manera alternativa, en algunas modalidades, R^4 es CH_3 .

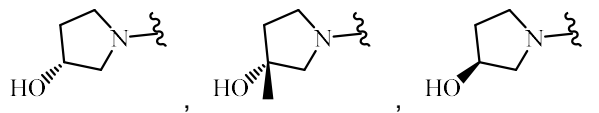
En algunas modalidades de la modalidad anterior, R^2 es



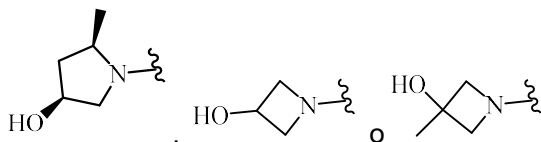
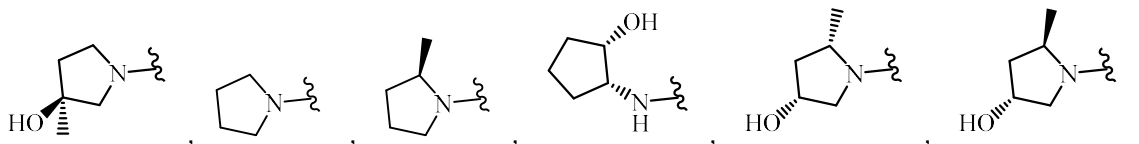
En algunas modalidades de la modalidad anterior, R^5 es H. De manera alternativa, en

algunas modalidades, R^5 es CH_3 .

En algunas modalidades, R^2 es



10

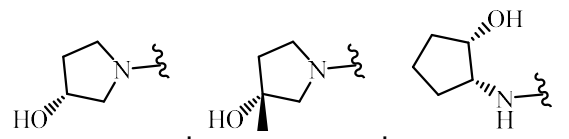


15

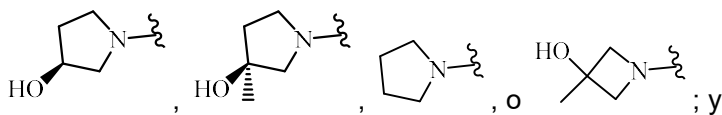
En algunas modalidades:

R^1 es CH_3 o Cl;

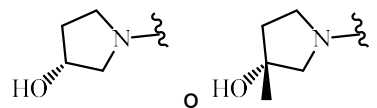
cuando R^1 es Cl, entonces R^2 es



20

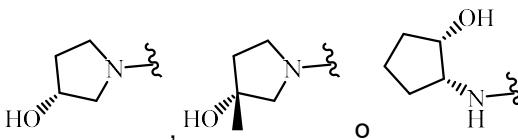


cuando R^1 es CH_3 , entonces R^2 es

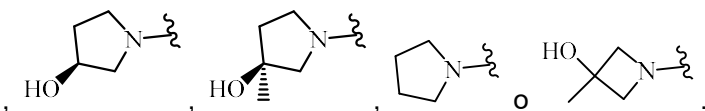


25

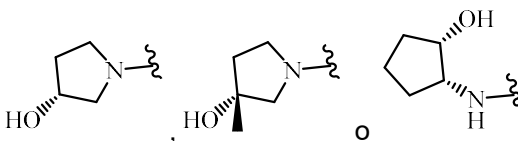
En algunas modalidades, R^1 es Cl; y R^2 es

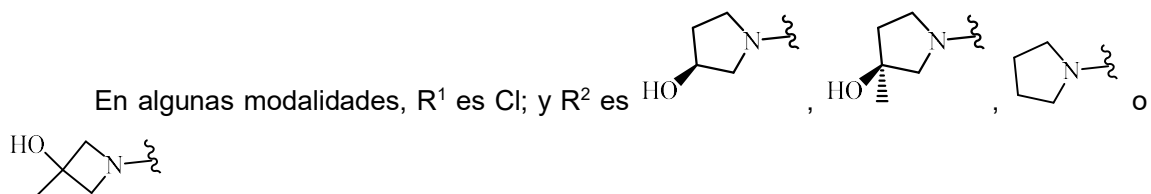


30

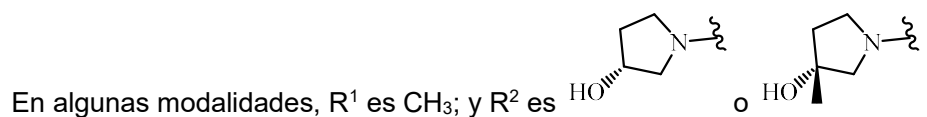


En algunas modalidades, R^1 es Cl; y R^2 es

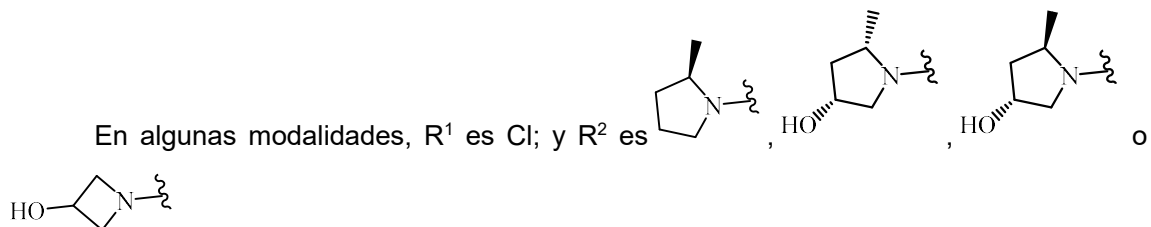




5



10



En algunas modalidades, el compuesto es un compuesto seleccionado de los compuestos de los Ejemplos 1-16, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

15

Se aprecia además que determinadas características de la descripción que se describen, por motivos de claridad, en el contexto de modalidades independientes, también se pueden proporcionar en combinación en una sola modalidad (aunque se pretende que las modalidades se combinen como si se escribieran de forma múltiple y dependiente). Por el contrario, varias características de la descripción que a efectos de brevedad se describen en el contexto de una única modalidad, también se pueden proporcionar por separado o en cualquier subcombinación adecuada. Por lo tanto, se contempla que las características descritas como modalidades de los compuestos de Fórmula (I) se puedan combinar en cualquier combinación adecuada.

20

En diversas partes de la presente memoria descriptiva, se describen determinadas características de los compuestos en grupos o en intervalos. Se pretende específicamente que dicha descripción incluya todas y cada una de las subcombinaciones individuales de los elementos de esos grupos e intervalos.

25

Los compuestos descritos en la presente pueden ser asimétricos (por ejemplo, tener uno o más estereocentros). Se incluyen todos los estereoisómeros, tales como enantiómeros y diastereómeros, a menos que se indique lo contrario. Los compuestos de la presente invención que contienen átomos de carbono sustituidos asimétricamente pueden aislarse en formas ópticamente activas o racémicas. En la técnica se conocen métodos para preparar formas ópticamente activas a partir de materiales iniciales ópticamente inactivos, tales como la resolución de mezclas racémicas o la síntesis estereoselectiva. Muchos isómeros geométricos de olefinas, enlaces dobles C=N y similares también pueden encontrarse

30

presentes en los compuestos descritos en la presente y todos esos isómeros estables se encuentran contemplados en la presente invención. Los isómeros geométricos *cis* y *trans* de los compuestos de la presente invención se describen y pueden aislarse como una mezcla de isómeros o como formas isoméricas separadas.

5 La resolución de mezclas racémicas de compuestos puede llevarse a cabo mediante cualquiera de los numerosos métodos conocidos en la técnica. Un método incluye la recristalización fraccionada usando un ácido de resolución quiral que es un ácido orgánico formador de sales ópticamente activo. Los agentes de resolución adecuados para los métodos de recristalización fraccionada son, por ejemplo, ácidos ópticamente activos, tales como las
10 formas D y L de ácido tartárico, ácido diacetiltartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido mandélico, ácido málico, ácido láctico o los diversos ácidos canforsulfónicos ópticamente activos como ácido β -canforsulfónico. Otros agentes de resolución adecuados para los métodos de cristalización fraccionada incluyen formas estereoisoméricamente puras de α -metilbencilamina (por ejemplo, formas *S* y *R*, o formas diastereoméricamente puras), 2-
15 fenilglicinol, norefedrina, efedrina, *N*-metilefedrina, ciclohexiletilamina, 1,2-diaminociclohexano y similares.

 La resolución de las mezclas racémicas también se puede realizar mediante elución en una columna cargada con un agente de resolución ópticamente activo (por ejemplo, dinitrobenzoilfenilglicina). Un experto en la técnica puede determinar la composición adecuada
20 del solvente de elución.

 En algunas modalidades, los compuestos de la invención tienen la configuración (*R*). En otras modalidades, los compuestos tienen la configuración (*S*). En compuestos con más de un centro quiral, cada uno de los centros quirales en el compuesto puede ser independientemente (*R*) o (*S*), a menos que se indique lo contrario. Los compuestos de la
25 descripción también incluyen formas tautoméricas. Las formas tautoméricas son el resultado del intercambio de un enlace simple con un enlace doble adyacente junto con la migración concomitante de un protón. Las formas tautoméricas incluyen tautómeros prototrópicos que son estados de protonación isomérica que tienen la misma fórmula empírica y carga total. Los tautómeros prototrópicos de ejemplo incluyen pares cetona - enol, pares amida - ácido imídico,
30 pares lactama - lactim, pares enamina - imina y formas anulares donde un protón puede ocupar dos o más posiciones de un sistema heterocíclico, por ejemplo, 1*H*- y 3*H*-imidazol, 1*H*-, 2*H*- y 4*H*- 1,2,4-triazol, 1*H*- y 2*H*- isoindol y 1*H*- y 2*H*-pirazol. Las formas tautoméricas pueden encontrarse en equilibrio o bloqueadas estéricamente en una forma mediante una sustitución adecuada.

En algunas modalidades, un compuesto descrito en la presente tiene uno o más átomos de hidrógeno que se reemplazan por deuterio, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Los compuestos de la descripción también pueden incluir todos los isótopos de átomos que aparecen en los compuestos intermedios o finales. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números másico. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio. Uno o más átomos constituyentes de los compuestos de la descripción pueden remplazarse o sustituirse con isótopos de los átomos en cantidades naturales o no naturales. En algunas modalidades, el compuesto incluye al menos un átomo de deuterio. Por ejemplo, uno o más átomos de hidrógeno en un compuesto de la presente descripción pueden remplazarse o sustituirse con deuterio. En algunas modalidades, el compuesto incluye dos o más átomos de deuterio. En algunas modalidades, el compuesto incluye 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 átomos de deuterio. En la técnica se conocen métodos sintéticos para incluir isótopos en compuestos orgánicos.

Se pretende que el término “compuesto”, según se usa en la presente, incluya todos los tautómeros e isótopos de las estructuras presentadas. También se pretende que el término haga referencia a compuestos de la descripción, sin importar cómo se preparen, por ejemplo, de forma sintética, a través de procesos biológicos (por ejemplo, conversión enzimática o metabólica), o una combinación de estos.

25 Todos los compuestos, y sus sales farmacéuticamente aceptables, se pueden encontrar junto con otras sustancias tales como agua y solventes (por ejemplo, hidratos y solvatos) o pueden estar aislados. Cuando se encuentran en estado sólido, los compuestos descritos en la presente y las sales de estos pueden existir en diversas formas y pueden, por ejemplo, adoptar la forma de solvatos, que incluyen hidratos. Los compuestos pueden encontrarse en cualquier forma en estado sólido, tal como un polimorfo o solvato, por lo que, a menos que se indique claramente lo contrario, se debería comprender que la referencia en la memoria descriptiva a compuestos y sales de estos abarca toda forma en estado sólido del compuesto.

30 En algunas modalidades, los compuestos de la descripción, o sus sales, están sustancialmente aislados. “Sustancialmente aislado” significa que el compuesto está al menos parcial o sustancialmente separado del medio donde se formó o detectó. La separación parcial puede incluir, por ejemplo, una composición enriquecida en los compuestos de la descripción. La separación sustancial puede incluir composiciones que contienen al menos alrededor de 50 %, al menos alrededor de 60 %, al menos alrededor de 70 %, al menos alrededor de 80 %,

al menos alrededor de 90 %, al menos alrededor de 95 %, al menos alrededor de 97 % o al menos alrededor de 99 % en peso de los compuestos de la invención, o sal de estos.

En algunas modalidades, la expresión “alrededor de” significa ± 10 %. En algunas modalidades, la expresión “alrededor de” significa ± 5 %.

5 La frase “farmacéuticamente aceptable” en el presente se emplea para referirse a los compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, según un criterio médico sensato, son adecuados para su uso en contacto con tejidos humanos y animales sin provocar una toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otros problemas o complicaciones, con una relación beneficio/riesgo correspondiente razonable.

10 La expresión “temperatura ambiente”, tal como se usa en la presente, se entiende en la técnica, y hace referencia generalmente a una temperatura, por ejemplo, una temperatura de reacción, que es aproximadamente la temperatura del recinto en el cual la reacción se lleva a cabo, por ejemplo, una temperatura de alrededor de 20 °C a alrededor de 30 °C.

15 La presente descripción también incluye sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en la presente. La expresión “sales farmacéuticamente aceptables” hace referencia a derivados de los compuestos descritos, donde el compuesto original se modifica al convertir un resto básico o ácido existente en su forma de sal. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, de modo no taxativo, sales ácidas minerales u orgánicas de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos
20 ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente descripción incluyen las sales no tóxicas del compuesto base, por ejemplo, formadas a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente descripción pueden sintetizarse a partir del compuesto original que contiene un resto ácido o básico mediante métodos químicos convencionales. Generalmente,
25 dichas sales se pueden preparar mediante la reacción de las formas ácidas o básicas libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido adecuado en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, alcoholes (por ejemplo, metanol, etanol, isopropanol o butanol) o acetonitrilo (MeCN). Se encuentran listas de sales adecuadas en *Remington
30 Pharmaceutical Sciences*, 17.^a ed., (Mack Publishing Company, Easton, 1985), p. 1418, Berge et ál., *J. Pharm. Sci.*, 1977, 66(1), 1-19 y en Stahl et ál., *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (Wiley, 2002). En algunas modalidades, los compuestos descritos en el presente documento incluyen las formas de N-óxido.

II. Síntesis

Los compuestos de la presente descripción, incluidas sus sales, se pueden preparar mediante las vías sintéticas descritas en los Ejemplos 1-16 *infra*.

5 Las reacciones para preparar los compuestos de la descripción se pueden llevar a cabo en solventes adecuados que puede seleccionar fácilmente un experto en la técnica de la síntesis orgánica. Los solventes adecuados pueden ser sustancialmente no reactivos con los materiales de partida (reactivos), los compuestos intermedios o los productos a las temperaturas a las cuales se llevan a cabo las reacciones, p. ej., temperaturas que pueden variar desde la temperatura de congelamiento del solvente a la temperatura de ebullición del
10 solvente. Una reacción determinada puede llevarse a cabo en un solvente o en una mezcla de más de un solvente. Dependiendo de la etapa de reacción particular, un entendido en la técnica puede seleccionar los solventes adecuados para una etapa de reacción particular.

La preparación de compuestos de la descripción puede implicar la protección y desprotección de diversos grupos químicos. Un experto en la técnica puede determinar
15 fácilmente la necesidad de protección y desprotección, y la selección de grupos protectores apropiados. La química de los grupos protectores se describe, por ejemplo, en Kocienski, *Protecting Groups*, (Thieme, 2007); Robertson, *Protecting Group Chemistry*, (Oxford University Press, 2000); Smith *et ál.*, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 6^a ed. (Wiley, 2007); Petursson *et ál.*, "Protecting Groups in Carbohydrate
20 Chemistry", *J. Chem. Educ.*, 1997, 74(11), 1297; y Wuts *et ál.*, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 4.^a Ed., (Wiley, 2006).

Las reacciones se pueden controlar de acuerdo con cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, la formación del producto se puede controlar por medios espectroscópicos, como la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (p. ej., ¹H o ¹³C),
25 espectroscopía infrarroja, espectrofotometría (p. ej., UV-visible), espectrometría de masas o mediante métodos cromatográficos como cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, por sus siglas en inglés) o cromatografía en capa fina (TLC, por sus siglas en inglés).

III. Usos de los compuestos

30 Los compuestos de la presente descripción, o sales farmacéuticamente aceptables de estos, pueden inhibir la actividad de la interacción proteína/proteína de PD-1/PD-L1 y, por lo tanto, son útiles en el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados con la actividad de PD-1 y las enfermedades y trastornos asociados con PD-L1, incluida su interacción con otras proteínas tales como PD-1 y B7-1 (CD80). En determinadas modalidades, los compuestos de la presente descripción, o sales farmacéuticamente aceptables de estos, son útiles para la administración terapéutica para potenciar, estimular y/o aumentar la inmunidad en un cáncer,

infección crónica o sepsis, inclusive el potenciamiento de la respuesta a la vacunación. En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un método para inhibir la interacción proteína/proteína de PD-1/PD-L1. El método incluye administrarle a un individuo o paciente un compuesto descrito en la presente o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

5 Los compuestos de la presente descripción pueden usarse solos, en combinación con otros agentes o terapias, o como un adyuvante o neoadyuvante para el tratamiento de enfermedades o trastornos, lo cual incluye cáncer o enfermedades infecciosas. Para los usos descritos en la presente, se puede usar cualquiera de los compuestos de la descripción, incluidas cualquiera de sus modalidades.

10 Los compuestos de la presente descripción inhiben la interacción proteína/proteína de PD-1/PD-L1, lo cual produce un bloqueo de la vía del PD-1. El bloqueo del PD-1 puede mejorar la respuesta inmunitaria a células cancerosas y enfermedades infecciosas en mamíferos, incluidos los seres humanos. En algunas modalidades, la presente descripción proporciona el tratamiento de un individuo o un paciente *in vivo* mediante el uso de un compuesto descrito en la presente, o una sal de este, de forma tal que se inhiba el crecimiento de tumores cancerosos.
15 Un compuesto descrito en la presente, o una sal de este, se puede utilizar para inhibir el crecimiento de tumores cancerosos. De manera alternativa, un compuesto descrito en la presente, o una sal de este, se puede utilizar junto con otros agentes o tratamientos contra el cáncer estándar, como se describe más adelante. En una modalidad, la presente descripción proporciona un método para inhibir el crecimiento de células tumorales *in vitro*. El método incluye poner en contacto las células tumorales *in vitro* con un compuesto descrito en la presente o una sal de este. En otra modalidad, la presente descripción proporciona un método para inhibir el desarrollo de células tumorales en un individuo o un paciente. El método incluye administrarle al individuo o paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de
20 un compuesto descrito en la presente o una sal de este.
25

En algunas modalidades, se proporciona en la presente un método para el tratamiento del cáncer. El método incluye administrarle a un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente o una sal de este. Los ejemplos de cánceres incluyen aquellos cuyo crecimiento puede inhibirse mediante el uso de compuestos de la descripción y cánceres que normalmente responden a una inmunoterapia.
30

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un método para mejorar, estimular y/o aumentar la respuesta inmunitaria en un paciente. El método incluye administrarle al paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente o una sal de este.

Los ejemplos de cánceres incluyen, de modo no taxativo, cáncer óseo, cáncer pancreático, cáncer de piel, cáncer de cabeza o cuello, melanoma maligno cutáneo o

intraocular, cáncer uterino, cáncer de ovario, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer testicular, cáncer uterino, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma de endometrio, cáncer de endometrio, carcinoma de cuello uterino, carcinoma vaginal, carcinoma de vulva, enfermedad de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano, cáncer de

5 esófago, cáncer del intestino delgado, cáncer del sistema endócrino, cáncer de la glándula tiroidea, cáncer de la glándula paratiroidea, cáncer de la glándula suprarrenal, sarcoma de los tejidos blandos, cáncer de uretra, cáncer de pene, leucemias crónicas o agudas que incluyen la leucemia mieloide aguda, la leucemia mieloide crónica, la leucemia linfoblástica aguda, la leucemia linfocítica crónica, tumores sólidos infantiles, linfoma linfocítico, cáncer de vejiga,

10 cáncer de riñón o uretra, carcinoma de la pelvis renal, neoplasia maligna del sistema nervioso central (SNC), linfoma primario del SNC, angiogénesis tumoral, tumor del eje espinal, glioma del tronco encefálico, adenoma pituitario, sarcoma de Kaposi, cáncer epidermoide, cáncer de células escamosas, linfoma de linfocitos T, cánceres inducidos por el entorno, incluidos aquellos inducidos por asbestos, y combinaciones de dichos cánceres. Los compuestos de la

15 presente descripción también son útiles para el tratamiento de cánceres metastásicos, especialmente cánceres metastásicos que expresan PD-L1.

En algunas modalidades, los cánceres incluyen melanoma (p. ej., melanoma maligno metastásico, melanoma cutáneo), cáncer renal (p. ej., carcinoma de células claras), cáncer de próstata (p. ej., adenocarcinoma de próstata refractario a hormonas), cáncer de mama (p. ej., carcinoma invasivo de mama), cáncer de colon, cáncer de pulmón (p. ej., cáncer de pulmón no microcítico y cáncer de pulmón microcítico), cáncer de cuello y cabeza de células escamosas (p. ej., carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello), cáncer urotelial (p. ej., cáncer de vejiga, cáncer de vejiga invasivo no muscular (NMIBC, por sus siglas en inglés)) y cánceres con alta inestabilidad de microsátélites (MSI^{alta}). Además, la descripción incluye

20 neoplasias malignas refractarias o recurrentes cuyo crecimiento puede inhibirse mediante el uso de los compuestos de la descripción.

En algunas modalidades, los cánceres incluyen, de modo no taxativo, tumores sólidos (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer de esófago, cáncer de endometrio, cáncer de ovario, cáncer de útero, cáncer renal, cáncer hepático, cáncer de páncreas, cáncer

30 gástrico, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cánceres de cabeza y cuello, cáncer de tiroides, glioblastoma, sarcoma, cáncer de vejiga, etc.), cánceres hematológicos (por ejemplo, linfoma, leucemia como leucemia linfoblástica aguda (ALL, por sus siglas en inglés), leucemia mielógena aguda (AML, por sus siglas en inglés), leucemia linfocítica crónica (CLL, por sus siglas en inglés), leucemia mielógena crónica (CML, por sus siglas en inglés), DLBCL, linfoma de células del manto, linfoma no Hodgkin (incluido LNH recidivante o refractario y folicular recurrente), linfoma de Hodgkin o mieloma múltiple) y combinaciones de dichos cánceres.

En algunas modalidades, los cánceres incluyen, de modo no taxativo, colangiocarcinoma, cáncer del conducto biliar, cáncer de tracto biliar, cáncer de mama triple negativo, rabdomiosarcoma, cáncer pulmonar microcítico, leiomiosarcoma, carcinoma hepatocelular, sarcoma de Ewing, cáncer de cerebro, tumor de cerebro, astrocitoma, neuroblastoma, neurofibroma, carcinoma de células basales, condrosarcoma, sarcoma epiteliode, cáncer de ojo, cáncer de trompas de Falopio, cáncer gastrointestinal, tumores del estroma gastrointestinal, leucemia de células pilosas, cáncer intestinal, cáncer de células de islote, cáncer oral, cáncer de boca, cáncer de garganta, cáncer de laringe, cáncer de labio, mesotelioma, cáncer de cuello, cáncer de cavidad nasal, cáncer ocular, melanoma ocular, cáncer pélvico, cáncer de recto, carcinoma de células renales, cáncer de glándula salival, cáncer sinusal, cáncer espinal, cáncer de lengua, carcinoma tubular, cáncer de uretra y cáncer de uréter.

En algunas modalidades, los compuestos de la presente descripción se pueden utilizar para tratar enfermedad de células falciformes y anemia de células falciformes.

En algunas modalidades, las enfermedades e indicaciones que se pueden tratar con los compuestos de la presente descripción incluyen, de modo no taxativo, cánceres hematológicos, sarcomas, cánceres de pulmón, cánceres gastrointestinales, cánceres del tracto genitourinario, cánceres de hígado, cánceres óseos, cánceres del sistema nervioso, cánceres ginecológicos y cánceres de piel.

Ejemplos de cánceres hematológicos incluyen linfomas y leucemias tales como leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), leucemia promielocítica aguda (APL, por sus siglas en inglés), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML), linfoma de linfocitos B grandes difuso (DLBCL, por sus siglas en inglés), linfoma de células del manto, linfoma no hodgkiniano (lo que incluye LNH reincidente o refractario y folicular recurrente), linfoma de Hodgkin, enfermedades mieloproliferativas (por ejemplo, mielofibrosis primaria (PMF, por sus siglas en inglés), policitemia vera (PV) y trombocitosis esencial (ET, por sus siglas en inglés)), síndrome mielodisplásico (MDS, por sus siglas en inglés), linfoma linfoblástico agudo de linfocitos T (T-ALL) y mieloma múltiple (MM).

Los ejemplos de sarcomas incluyen condrosarcoma, sarcoma de Ewing, osteosarcoma, rabdomiosarcoma, angiosarcoma, fibrosarcoma, liposarcoma, mixoma, rabdomioma, radosarcoma, fibroma, lipoma, hamartoma y teratoma.

Los ejemplos de cánceres de pulmón incluyen cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC, por sus siglas en inglés) (p. ej., NSCLC de células escamosas), cáncer de pulmón microcítico, carcinoma broncogénico (de células escamosas, de células pequeñas no diferenciadas, de células grandes no diferenciadas, adenocarcinoma), carcinoma alveolar

(bronquiolar), adenoma bronquial, hamartoma condromatoso y mesotelioma.

Los ejemplos de cánceres gastrointestinales incluyen cánceres de esófago (carcinoma, carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, leiomiosarcoma, linfoma), de estómago (carcinoma, linfoma, leiomiosarcoma, adenocarcinoma), de páncreas (adenocarcinoma ductal, insulinoma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinoides, vipoma), de intestino delgado (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma, lipoma, neurofibroma, fibroma), de intestino grueso (adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma vellosa, hamartoma, leiomioma) y cáncer colorrectal (p. ej., adenocarcinoma colorrectal).

Los ejemplos de cánceres del tracto genitourinario incluyen cánceres de riñón (adenocarcinoma, tumor de Wilm [nefroblastoma]), de vejiga y uretra (carcinoma de células escamosas, carcinoma de células transicionales, adenocarcinoma), de próstata (adenocarcinoma, sarcoma) y de testículos (seminoma, teratoma, carcinoma embrionario, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatoideos, lipoma). En algunas modalidades, el cáncer es un cáncer urológico (por ejemplo, carcinoma renal papilar, cáncer testicular de células germinales, carcinoma de células renales cromóforo, carcinoma renal de células claras o adenocarcinoma de próstata).

Los ejemplos de cánceres de hígado incluyen hepatoma (carcinoma hepatocelular), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular y hemangioma.

Los ejemplos de cánceres óseos incluyen, por ejemplo, sarcoma osteogénico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (sarcoma de células reticulares), mieloma múltiple, tumor maligno de células gigantes cordoma, osteocronfoma (exostosis osteocartilaginosa), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide y tumores de células gigantes.

Los ejemplos de cánceres del sistema nervioso incluyen cánceres del cráneo (osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteítis deformante), de las meninges (meningioma, meningiosarcoma, gliomatosis), cerebrales (astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma (pinealoma), glioblastoma, glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma, tumores congénitos) y de la médula espinal (neurofibroma, meningioma, glioma, sarcoma), así como neuroblastoma y enfermedad de Lhermitte-Duclos.

Los ejemplos de cánceres ginecológicos incluyen cánceres de útero (carcinoma de endometrio), cuello uterino (carcinoma de cuello uterino, displasia de cuello uterino

pretumoral), ovarios (carcinoma de ovario (cistadenocarcinoma seroso, adenocarcinoma seroso, cistadenocarcinoma mucinoso, carcinoma no clasificado), tumores de células granulosas y tecales, tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno), vulva (carcinoma de células escamosas, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma), vagina (carcinoma de células claras, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrioide (rhabdomyosarcoma embrionario) y trompas de Falopio (carcinoma).

Los ejemplos de cánceres de piel incluyen melanoma, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas (p. ej., carcinoma cutáneo de células escamosas), sarcoma de Kaposi, nevos displásicos, lipoma, angioma, dermatofibroma y queloides. En algunas modalidades, las enfermedades y las indicaciones que se pueden tratar utilizando los compuestos de la presente descripción incluyen, de manera no taxativa, enfermedad de células falciformes (p. ej., anemia de células falciformes), cáncer de mama triple negativo (TNBC), síndromes mielodisplásicos, cáncer testicular, cáncer del conducto biliar, cáncer de esófago y carcinoma urotelial.

El bloqueo de la vía del PD-1 con compuestos de la presente descripción también puede usarse para tratar infecciones tales como infecciones virales, bacterianas, fúngicas y parasitarias. La presente descripción proporciona un método para tratar infecciones tales como infecciones virales. El método incluye administrarle a un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente o una sal de este. Los ejemplos de virus que provocan infecciones que pueden tratarse mediante métodos de la presente descripción incluyen, de modo no taxativo, el virus de la inmunodeficiencia humana, el virus del papiloma humano, la influenza, los virus de la hepatitis A, B, C o D, el adenovirus, el poxvirus, los virus del herpes simple, el citomegalovirus humano, el virus del síndrome respiratorio agudo grave, el virus del ébola y el virus del sarampión. En algunas modalidades, los virus que provocan infecciones que pueden tratarse mediante métodos de la presente descripción incluyen, de modo no taxativo, hepatitis (A, B o C), herpesvirus (por ejemplo, VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II y CMV, virus de Epstein Barr), adenovirus, virus de influenza, flavivirus, ecovirus, rinovirus, virus de coxsackie, coronavirus, virus sincitial respiratorio, virus de paperas, rotavirus, virus del sarampión, virus de rubeola, parvovirus, virus vacuna, virus HTLV, virus del dengue, virus de papiloma, virus del molusco, poliovirus, virus de la rabia, virus de JC, tuberculosis y virus de la encefalitis arboviral.

La presente descripción proporciona un método para tratar infecciones bacterianas. El método incluye administrarle a un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente o una sal de este. Los ejemplos no taxativos de bacterias patógenas que provocan infecciones que pueden tratarse mediante métodos de

la descripción incluyen clamidia, bacteria de rickettsia, micobacterias, estafilococos, estreptococos, neumococos, meningococos y conococos, klebsiella, proteus, serratia, pseudomonas, legionela, difteria, salmonela, bacilos, cólera, tétanos, botulismo, ántrax, plaga, leptospirosis y bacteria de la enfermedad de Lyme.

5 La presente descripción proporciona un método para tratar infecciones fúngicas. El método incluye administrarle a un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente o una sal de este. Los ejemplos no taxativos de hongos patogénicos que provocan infecciones que pueden tratarse mediante métodos de la descripción incluyen Candida (albicans, krusei, glabrata, tropicalis, etc.), Cryptococcus
10 neoformans, Aspergillus (fumigatus, niger, etc.), Genus Mucorales (mucor, absidia, rhizophus), Sporothrix schenkii, Blastomyces dermatitidis, Paracoccidioides brasiliensis, Coccidioides immitis e Histoplasma capsulatum.

La presente descripción proporciona un método para tratar infecciones parasitarias. El método incluye administrarle a un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente o una sal de este. Los ejemplos no taxativos
15 de parásitos patogénicos que provocan infecciones que pueden tratarse mediante métodos de la descripción incluyen Entamoeba histolytica, Balantidium coli, Naegleria fowleri, Acanthamoeba sp., Giardia lamblia, Cryptosporidium sp., Pneumocystis carinii, Plasmodium vivax, Babesia microti, Trypanosoma brucei, Trypanosoma cruzi, Leishmania donovani,
20 Toxoplasma gondi y Nippostrongylus brasiliensis.

La presente descripción proporciona un método para tratar enfermedades o trastornos neurodegenerativos. El método incluye administrarle a un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente o una sal de este. Algunos ejemplos no taxativos de enfermedades o trastornos neurodegenerativos incluyen
25 enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, enfermedad priónica, enfermedades de las neuronas motoras, ataxia espino cerebelar y atrofia muscular espinal.

Se cree que los compuestos descritos en la presente, pueden poseer un perfil farmacológico satisfactorio y propiedades biofarmacéuticas prometedoras, tales como perfil
30 toxicológico, propiedades de metabolismo y farmacocinética, solubilidad y permeabilidad. Se entenderá que la determinación de propiedades biofarmacéuticas adecuadas se encuentra dentro del conocimiento del experto en la técnica, p. ej., la determinación de citotoxicidad en células o la inhibición de determinadas dianas o canales para determinar una toxicidad potencial.

Los términos "individuo" o "paciente", utilizados indistintamente, hacen referencia a cualquier animal, incluso mamíferos, preferentemente ratones, ratas, otros roedores, conejos,

perros, gatos, cerdo, ganado, ovejas, caballos o primates y, más preferentemente, seres humanos.

La frase “cantidad terapéuticamente eficaz” hace referencia a la cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que produce la respuesta biológica o medicinal en un tejido, sistema, animal, individuo o ser humano buscada por un investigador, veterinario, doctor en medicina u otro médico.

Tal como se usa en la presente, el término “tratar” o “tratamiento” hace referencia a uno o más de (1) inhibir la enfermedad; por ejemplo, inhibir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que padece o presenta la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, detener el desarrollo adicional de la patología y/o sintomatología); y (2) mejorar la enfermedad; por ejemplo, mejorar una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que padece o presenta la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, revertir la patología y/o sintomatología) tal como reducir la gravedad de la enfermedad.

En algunas modalidades, los compuestos de la descripción son útiles en la prevención o la reducción del riesgo de desarrollar cualquiera de las enfermedades mencionadas en la presente, por ejemplo, prevenir o reducir el riesgo de desarrollar una enfermedad, una afección o un trastorno en un individuo que pueda tener predisposición a la enfermedad, la afección o el trastorno, pero todavía no padezca ni presente la patología o sintomatología de la enfermedad.

Terapias de combinación

Terapias de punto de control inmunitario

Los compuestos de la presente descripción, o sales farmacéuticamente aceptables de estos, pueden usarse en combinación con uno o más inhibidores de punto de control inmunitario para el tratamiento de enfermedades, tales como cáncer o infecciones. Los ejemplos de inhibidores de punto de control inmunitario incluyen inhibidores contra moléculas de punto de control inmunitario, tales como CBL-B, CD20, CD122, CD96, CD73, CD47, CSF1R, JAK, PI3K delta, PI3K gamma, TAM, arginasa, HPK1, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, LAG3, TIM3, TIGIT, CD112R, VISTA, PD-1, PD-L1 y PD-L2. En algunas modalidades, la molécula de punto de control inmunitario es una molécula de punto de control estimulador seleccionada de CD27, CD28, CD40, ICOS, OX40, GITR y CD137 (4-1BB). En algunas modalidades, la molécula de punto de control inmunitario es una molécula de punto de control inhibidor que se selecciona de A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, PD-1, TIM3, TIGIT y VISTA. En algunas modalidades, los compuestos provistos en la presente se pueden utilizar en combinación con uno o más agentes seleccionados de inhibidores de KIR,

inhibidores de TIGIT, inhibidores de LAIR1, inhibidores de CD160, inhibidores de 2B4 e inhibidores de TGF beta.

En algunas modalidades, los compuestos que se proporcionan en la presente se pueden utilizar en combinación con uno o más agonistas de moléculas de punto de control inmunitario, por ejemplo, OX40, CD27, GITR y CD137 (también conocido como 4-1BB).

En algunas modalidades, el agonista de una molécula de punto de control inmunitario es OX40, CD27, CD28, GITR, ICOS, CD40, TLR7/8 y CD137 (también conocido como 4-1BB).

En algunas modalidades, el agonista de CD137 es urelumab. En algunas modalidades, el agonista de CD137 es utomilumab.

En algunas modalidades, el agonista de una molécula de punto de control inmunitario es un agonista de CD40. En algunas modalidades, el agonista de CD40 es CP-870893, ADC-1013, CDX-1140, SEA-CD40, RO7009789, JNJ-64457107, APX-005M o Chi Lob 7/4.

En algunas modalidades, el agonista de una molécula de punto de control inmunitario es un agonista de ICOS. En algunas modalidades, el agonista de ICOS es GSK-3359609, JTX-2011 o MEDI-570.

En algunas modalidades, el agonista de una molécula de punto de control inmunitario es un agonista de CD28. En algunas modalidades, el agonista de CD28 es theralizumab.

En algunas modalidades, el agonista de una molécula de punto de control inmunitario es un agonista de CD27. En algunas modalidades, el agonista de CD27 es varlilumab.

En algunas modalidades, el agonista de una molécula de punto de control inmunitario es un agonista de TLR7/8. En algunas modalidades, el agonista de TLR7/8 es MEDI9197.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un anticuerpo anti-PD1, un anticuerpo anti-PD-L1 o un anticuerpo anti-CTLA-4.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de PD-1, p. ej., un anticuerpo monoclonal anti-PD-1. En algunas modalidades, el anticuerpo monoclonal anti-PD-1 es nivolumab, pembrolizumab (también conocido como MK-3475), pidilizumab, cemiplimab, spartalizumab, camrelizumab, cetrelimab, toripalimab, sintilimab, SHR-1210, PDR001, MGA012, PDR001, AB122, AMP-224, JTX-4014, BGB-108, BCD-100, BAT1306, LZM009, AK105, HLX10 o TSR-042. En algunas modalidades, el anticuerpo monoclonal anti-PD-1 es nivolumab o pembrolizumab. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD1 es pembrolizumab. En algunas modalidades, el anticuerpo monoclonal

anti-PD-1 es MGA012. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD1 es SHR-1210. Otros agentes contra el cáncer incluyen productos terapéuticos de anticuerpos tales como 4-1BB (p. ej., urelumab, utomilumab).

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor del PD-L1, p. ej., un anticuerpo monoclonal anti-PD-L1. En algunas modalidades, el anticuerpo monoclonal anti-PD-L1 es BMS-935559, MEDI4736, MPDL3280A (también conocido como RG7446), durvalumab (Imfinzi®), atezolizumab (Tecentriq®), Avelumab (Bavencio®), MSB0010718C, tislelizumab, FAZ053, KN035, CS1001, SHR-1316, CBT-502, A167, STI-A101, CK-301, BGB-A333, MSB-2311, HLX20 o LY3300054. En algunas modalidades, el anticuerpo monoclonal anti-PD-L1 es MPDL3280A o MEDI4736.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de PD-1 y PD-L1, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico anti-PD-1/PD-L1. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico anti-PD-1/PD-L1 es MCLA-136.

En algunas modalidades, el inhibidor es MCLA-145.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de CTLA-4, p. ej., un anticuerpo anti-CTLA-4. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CTLA-4 es ipilimumab, tremelimumab, AGEN1884 o CP-675,206.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de PD-1 y CTLA-4, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico anti-PD-1/CTLA-4. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-PD-1/CTLA-4 es AK104.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de LAG3, p. ej., un anticuerpo anti-LAG3. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LAG3 es BMS-986016, LAG525, INCAGN2385 o efitlagimod alfa (IMP321).

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de CD73. En algunas modalidades, el inhibidor de CD73 es oleclumab. En algunas modalidades, el inhibidor de CD73 es MEDI9447.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de TIGIT. En algunas modalidades, el inhibidor de TIGIT es OMP-31M32.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de VISTA. En algunas modalidades, el inhibidor de VISTA es JNJ-61610588 o CA-170.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de B7-H3. En algunas modalidades, el inhibidor de B7-H3 es enoblituzumab, MGD009 o 8H9.

5 En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de KIR. En algunas modalidades, el inhibidor de KIR es lirilumab o IPH4102.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de A2aR. En algunas modalidades, el inhibidor de A2aR es CPI-444.

10 En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de TGF-beta. En algunas modalidades, el inhibidor de TGF-beta es trabedersen, galusertinib o M7824.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de PI3K-gamma. En algunas modalidades, el inhibidor de PI3K-gamma es IPI-549.

15 En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de CD47. En algunas modalidades, el inhibidor de CD47 es Hu5F9-G4 o TTI-621.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de CD70. En algunas modalidades, el inhibidor de CD70 es cusatuzumab o BMS-936561.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de TIM3, p. ej., un anticuerpo anti-TIM3. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-TIM3 es INCAGN2390, MBG453 o TSR-022.

25 En algunas modalidades, el agonista de una molécula de punto de control inmunitario es un agonista de GTR, por ejemplo, un anticuerpo anti-GTR. En algunas modalidades, el agonista es TRX518, MK-4166, INCAGN1876, MK-1248, AMG228, BMS-986156, GWN323, MEDI1873 o MEDI6469.

En algunas modalidades, el agonista de una molécula de punto de control inmunitario es un agonista de OX40, por ejemplo, anticuerpo agonista de OX40 o proteína de fusión de OX40L. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-OX40 es MEDI0562, MOXR-0916, PF-04518600, GSK3174998, BMS-986178 o 9B12. En algunas modalidades, la proteína de fusión OX40L es MEDI6383.

En algunas modalidades, el inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario es un inhibidor de CD20, p. ej., un anticuerpo anti-CD20. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD20 es obinutuzumab o rituximab.

Los compuestos de la presente descripción se pueden utilizar en combinación con anticuerpos biespecíficos. En algunas modalidades, uno de los dominios de los anticuerpos biespecíficos selecciona el receptor de PD-1, PD-L1, CTLA-4, GITR, OX40, TIM3, LAG3, CD137, ICOS, CD3 o TGF β . En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico se une a PD-1 y PD-L1. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico que se une a PD-1 y PD-L1 es MCLA-136. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico se une a PD-L1 y CTLA-4. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico que se une a PD-L1 y CTLA-4 es AK104.

En algunas modalidades, los compuestos de la descripción pueden utilizarse en combinación con uno o más inhibidores de enzimas metabólicas. En algunas modalidades, el inhibidor de enzimas metabólicas es un inhibidor de IDO1, TDO o arginasa. Los ejemplos de inhibidores de IDO1 incluyen epacadostat, NLG919, BMS-986205, PF-06840003, IOM2983, RG-70099 y LY338196.

Como se indica en todo el documento, los compuestos, inhibidores, agentes, etc. adicionales pueden combinarse con el compuesto de la presente en una forma de dosificación única o continua, o pueden administrarse de manera simultánea o secuencial, como formas de dosificación separadas.

Terapias contra el cáncer

El crecimiento y la supervivencia de las células cancerosas pueden verse afectados por trastornos en múltiples vías biológicas. Por lo tanto, puede ser útil combinar inhibidores de diferentes mecanismos, como inhibidores de enzimas, inhibidores de transducción de señales, inhibidores de la dinámica de la cromatina o moduladores de las respuestas inmunitarias, para tratar dichas afecciones. El direccionamiento a más de una vía de señalización (o más de una molécula biológica implicada en una vía de señalización dada) puede reducir la probabilidad de que se produzca una resistencia al fármaco en una población celular o reducir la toxicidad del tratamiento.

Los compuestos de la presente descripción pueden usarse en combinación con otras u otras terapias para el tratamiento de enfermedades, tales como cánceres o infecciones. Ejemplos de enfermedades e indicaciones que se pueden tratar con terapias de combinación incluyen las descritas en la presente. Los ejemplos de cánceres incluyen tumores sólidos y tumores no sólidos, tales como tumores líquidos, cánceres de la sangre. Los ejemplos de infecciones incluyen infecciones virales, infecciones bacterianas, infecciones fúngicas o infecciones parasitarias. Por ejemplo, los compuestos de la presente descripción pueden combinarse con uno o más inhibidores de las siguientes cinasas para el tratamiento de cáncer:

Akt1, Akt2, Akt3, BCL2, CDK, TGF- β R, PKA, PKG, PKC, CaM-cinasa, fosforilasa cinasa, MEKK, ERK, MAPK, mTOR, EGFR, HER2, HER3, HER4, INS-R, IDH2, IGF-1R, IR-R, PDGF α R, PDGF β R, PI3K (alfa, beta, gamma, delta y múltiple o selectivo), CSF1R, KIT, FLK-II, KDR/FLK-1, FLK-4, flt-1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, c-Met, PARP, Ron, Sea, TRKA, TRKB, TRKC, TAM cinasas (Axl, Mer, Tyro3), FLT3, VEGFR/Flt2, Flt4, EphA1, EphA2, EphA3, EphB2, EphB4, Tie2, Src, Fyn, Lck, Fgr, Btk, Fak, SYK, FRK, JAK, ABL, ALK y B-Raf. En algunas modalidades, los compuestos de la presente descripción pueden combinarse con uno o más de los siguientes inhibidores para el tratamiento de cáncer o infecciones. Algunos ejemplos no taxativos de inhibidores que se pueden combinar con los compuestos de la presente descripción para el tratamiento de cáncer e infecciones incluyen un inhibidor de FGFR (FGFR1, FGFR2, FGFR3 o FGFR4, p. ej., pemigatinib (INCY54828), INCB62079), un inhibidor de EGFR (también conocido como Erb-1 o HER-1) (p. ej., erlotinib, gefitinib, vandetanib, orsimertinib, cetuximab, necitumumab o panitumumab), un bloqueador de la vía o inhibidor de VEGFR (p. ej., bevacizumab, pazopanib, sunitinib, sorafenib, axitinib, regorafenib, ponatinib, cabozantinib, vandetanib, ramucirumab, lenvatinib, ziv-aflibercept), un inhibidor de PARP (p. ej., olaparib, rucaparib, veliparib o niraparib), un inhibidor de JAK (JAK1 y/o JAK2, p. ej., ruxolitinib, baricitinib o itacitinib (INCB39110)), un inhibidor de IDO (p. ej., epacadostat, NLG919 o BMS-986205, MK7162), un inhibidor de LSD1 (p. ej., INCB59872 e INCB60003), un inhibidor de TDO, un inhibidor de PI3K-delta (p. ej., Parsaclisib (INCB50465) e INCB50797), un inhibidor de PI3K-gamma tal como inhibidor selectivo de PI3K-gamma, un inhibidor de Pim (p. ej., INCB53914), un inhibidor de EGFR (también denominado Erb-1 o HER-1; p. ej. erlotinib, gefitinib, vandetanib, orsimertinib, cetuximab, necitumumab o panitumumab), un inhibidor de VEGFR o un bloqueador de la vía (p. ej., bevacizumab, pazopanib, sunitinib, sorafenib, axitinib, regorafenib, ponatinib, cabozantinib, axitinib, vandetanib, ramucirumab, lenvatinib, ziv-aflibercept), un inhibidor de PARP (p. ej., olaparib, rucaparib, veliparib, talazoparib o niraparib), un inhibidor de CSF1R, un receptor de tirosina cinasas TAM (Tyro-3, Axl y Mer), un antagonista del receptor de adenosina (p. ej., antagonista del receptor de A2a/A2b), un inhibidor de HPK1, un inhibidor del receptor de quimiocina (p. ej., inhibidor de CCR2 o CCR5), un inhibidor de fosfatasa SHP1/2, un inhibidor de histona deacetilasa (HDAC) tal como un inhibidor de HDAC8, un inhibidor de angiogénesis, un inhibidor del receptor de interleucina, inhibidores de miembros de la familia bromo y extra terminal (por ejemplo, inhibidores de bromodominio o inhibidores de BET tales como INCB54329 e INCB57643), un inhibidor de arginasa (INCB001158), un inhibidor de PARP (tal como rucaparib o olaparib), sitravatinib, una combinación de inhibidor de B-Raf-inhibidor de MEK (tal como encorafenib más binimetinib, dabrafenib más trametinib o cobimetinib más vemurafenib) y un antagonista del receptor de adenosina o combinaciones de estos.

En algunas modalidades, los compuestos de la presente descripción se pueden combinar con un agonista de TLR7 (p. ej., imiquimod).

Los compuestos de la presente descripción pueden usarse además en combinación con otros métodos de tratamiento de cánceres, por ejemplo, mediante quimioterapia, terapia de radiación, terapia dirigida al tumor, terapia adyuvante, inmunoterapia o cirugía. Los ejemplos de inmunoterapia incluyen el tratamiento con citocina (por ejemplo, interferones, GM-CSF, G-CSF, IL-2), inmunoterapia de CRS-207, vacuna contra el cáncer, anticuerpo monoclonal, anticuerpo biespecífico o multiespecífico, conjugado de anticuerpo y fármaco, transferencia adoptiva de linfocitos T, agonistas del receptor Toll, agonistas de STING, agonistas de RIG-I, viroterapia oncolítica y moléculas pequeñas inmunomoduladoras, que incluyen talidomida o el inhibidor de JAK1/2, inhibidor de PI3K δ y similares. Los compuestos pueden administrarse junto con uno o más fármacos contra el cáncer, tal como un agente quimioterapéutico. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen cualquiera de:

abarelix, aldesleucina, alemtuzumab, alitretinoína, alopurinol, altretamina, anastrozol, trióxido de arsénico, asparaginasa, azacitidina, bevacizumab, bexaroteno, baricitinib, bleomicina, bortezomib, busulfán intravenoso, busulfán oral, calusterona, capecitabina, carboplatino, carmustina, cetuximab, clorambucil, cisplatino, cladribina, clofarabina, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, dalteparina sódica, dasatinib, daunorrubicina, decitabina, denileucina, denileucina difitox, dexrazoxano, docetaxel, doxorubicina, propionato de dromostanolona, eculizumab, epirubicina, erlotinib, estramustina, fosfato de etopósido, etopósido, exemestano, citrato de fentanilo, filgrastim, floxuridina, fludarabina, fluorouracilo, fulvestrant, gefitinib, gemcitabina, gemtuzumab ozogamicina, acetato de goserelina, acetato de histrelina, ibritumomab tiuxetan, idarrubicina, ifosfamida, mesilato de imatinib, interferón alfa 2a, irinotecan, ditosilato de lapatinib, lenalidomida, letrozol, leucovorin, acetato de leuprolida, levamisol, lomustina, mecloretamina, acetato de megestrol, melfalan, mercaptopurina, metotrexato, metoxsalen, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, fenpropionato de nandrolona, nelarabina, nofetumomab, oxaliplatino, paclitaxel, pamidronato, panitumumab, pegaspargasa, pegfilgrastim, pemetrexed disodio, pentostatina, pipobroman, plicamicina, procarbazona, quinacrina, rasburicasa, rituximab, ruxolitinib, sorafenib, estreptozocina, sunitinib, maleato de sunitinib, tamoxifeno, temozolomida, tenipósido, testolactona, talidomida, tioguanina, tiotepa, topotecan, toremifeno, tositumomab, trastuzumab, tretinoína, mostaza de uracilo, valrubicina, vinblastina, vincristina, vinorelbina, vorinostat y zoledronato.

Otros agentes anticancerosos incluyen agentes terapéuticos de anticuerpos tales como trastuzumab (Herceptin), anticuerpos contra moléculas coestimuladoras tales como CTLA-4 (p. ej., ipilimumab), 4-1BB (p. ej., urelumab, utomilumab), anticuerpos contra PD-1 y PD-L1, o

anticuerpos contra citocinas (IL-10, TGF- β , etc.). Los ejemplos de anticuerpos contra PD-1 y/o PD-L1 que pueden combinarse con compuestos de la presente descripción para el tratamiento del cáncer o infecciones tales como infecciones virales, bacterianas, fúngicas y parasitarias incluyen, de modo no taxativo, nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab, durvalumab, avelumab y SHR-1210.

Los compuestos de la presente descripción pueden utilizarse además junto con uno o más agentes antiinflamatorios, esteroides, inmunosupresores o anticuerpos terapéuticos.

Los compuestos descritos en la presente o las sales de estos se pueden combinar con otro agente inmunogénico, tal como células cancerosas, antígenos tumorales purificados (que incluyen moléculas de carbohidrato, péptidos y proteínas recombinantes), células, y células transfectadas con genes que codifican citocinas que estimulan el sistema inmunitario. Los ejemplos no taxativos de vacunas contra tumores que pueden usarse incluyen péptidos de antígenos de melanoma, tales como péptidos de gp100, antígenos de MAGE, Trp-2, MART1 y/o tirosinasa o células tumorales transfectadas para expresar la citocina GM-CSF.

Los compuestos descritos en la presente o las sales de estos se pueden utilizar en combinación con un protocolo de vacunación para el tratamiento de cáncer. En algunas modalidades, las células tumorales se transducen para expresar GM-CSF. En algunas modalidades, las vacunas contra tumores incluyen las proteínas de virus involucrados en cánceres humanos, tales como los virus del papiloma humano (HPV, por sus siglas en inglés), los virus de la hepatitis (HBV y HCV) y el virus del herpes relacionado con el sarcoma de Kaposi (KHSV). En algunas modalidades, los compuestos de la presente descripción pueden usarse en combinación con un antígeno específico del tumor, tal como proteínas de choque térmico aisladas del propio tejido tumoral. En algunas modalidades, los compuestos descritos en la presente o las sales de estos se pueden combinar con la inmunización de células dendríticas para activar respuestas antitumorales potentes.

Los compuestos de la presente descripción pueden usarse en combinación con péptidos macrocíclicos biespecíficos que se dirigen a células efectoras que expresen el receptor de Fe alfa o de Fe gamma a células tumorales. Los compuestos de la presente descripción también pueden combinarse con péptidos macrocíclicos que activen la capacidad de respuesta inmunitaria del hospedador.

Los compuestos de la presente descripción pueden usarse en combinación con un trasplante de médula ósea para el tratamiento de una variedad de tumores de origen hematopoyético.

Los compuestos descritos en la presente o las sales de estos pueden utilizarse junto con vacunas, para estimular la respuesta inmunitaria a patógenos, toxinas y autoantígenos. Los ejemplos de patógenos para los cuales este abordaje terapéutico puede ser

particularmente útil incluyen patógenos para los cuales no hay en la actualidad una vacuna eficaz, o patógenos para los que las vacunas convencionales son menos que completamente eficaces. Estos incluyen, de modo no taxativo, VIH, Hepatitis (A, B y C), Influenza, Herpes, Giardia, Malaria, Leishmania, Staphylococcus aureus, Pseudomonas Aeruginosa.

5 Los virus que provocan infecciones que pueden tratarse mediante métodos de la presente descripción incluyen, de modo no taxativo, papilomavirus humano, influenza, virus de la hepatitis A, B, C o D, adenovirus, poxvirus, virus del herpes simple, citomegalovirus humano, virus del síndrome respiratorio agudo grave, virus del ébola, virus del sarampión, herpesvirus (por ejemplo, VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II y CMV, virus de Epstein Barr), flavivirus,
10 ecovirus, rinovirus, virus de coxsackie, coronavirus, virus sincitial respiratorio, virus de paperas, rotavirus, virus del sarampión, virus de rubeola, parvovirus, virus vacuna, virus HTLV, virus del dengue, virus de papiloma, virus del molusco, poliovirus, virus de la rabia, virus de JC y virus de la encefalitis arboviral.

Las bacterias patogénicas que provocan infecciones que pueden tratarse mediante
15 métodos de la descripción incluyen, de modo no taxativo, clamidia, bacteria de rickettsia, micobacterias, estafilococos, estreptococos, neumococos, meningococos y conococos, klebsiella, proteus, serratia, pseudomonas, legionela, difteria, salmonela, bacilos, cólera, tétanos, botulismo, ántrax, plaga, leptospirosis y bacteria de la enfermedad de Lyme.

Los hongos patogénicos que provocan infecciones que pueden tratarse mediante
20 métodos de la descripción incluyen, de modo no taxativo, Candida (albicans, krusei, glabrata, tropicalis, etc.), Cryptococcus neoformans, Aspergillus (fumigatus, niger, etc.), Genus Mucorales (mucor, absidia, rhizophus), Sporothrix schenkii, Blastomyces dermatitidis, Paracoccidioides brasiliensis, Coccidioides immitis e Histoplasma capsulatum.

Los parásitos patogénicos que provocan infecciones que pueden tratarse mediante
25 métodos de la descripción incluyen, de modo no taxativo, Entamoeba histolytica, Balantidium coli, Naegleriafowleri, Acanthamoeba sp., Giardia lambia, Cryptosporidium sp., Pneumocystis carinii, Plasmodium vivax, Babesia microti, Trypanosoma brucei, Trypanosoma cruzi, Leishmania donovani, Toxoplasma gondi y Nippostrongylus brasiliensis.

Cuando se administra más de un agente farmacéutico a un paciente, estos pueden
30 administrarse de manera simultánea, por separado, en secuencia o en combinación (p. ej., para más de dos agentes).

IV. *Formulación, formas de dosificación y administración*

Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los compuestos de la presente descripción pueden administrarse en forma de composiciones farmacéuticas. Por lo tanto, la presente descripción proporciona una composición que comprende un compuesto descrito en

la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o cualquiera de sus modalidades, y al menos un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones se pueden preparar de una forma conocida en la técnica farmacéutica y se pueden administrar a través de diversas vías, dependiendo de si se indica un tratamiento local o sistémico y del área que se tratará. La administración puede ser tópica (que incluye transdérmica, epidérmica, oftálmica y a membranas de mucosa que incluyen la administración intranasal, vaginal y rectal), pulmonar (p. ej., mediante inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, que incluye mediante nebulizador; intratraqueal o intranasal), oral o parenteral. La administración parenteral incluye la administración intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal intramuscular o inyección o infusión; o intracraneal, p. ej., intratecal o intraventricular. La administración parenteral puede ser en forma de una única dosis de bolo o puede ser, por ejemplo, mediante una bomba de perfusión continua. Las composiciones y formulaciones farmacéuticas para administración tópica pueden incluir parches transdérmicos, ungüentos, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, atomizadores, líquidos y polvos. Pueden ser necesarios o convenientes portadores farmacéuticos, bases acuosas, en polvo u oleosas, espesantes, y similares, convencionales.

La presente descripción también incluye composiciones farmacéuticas que contienen, como ingrediente activo, el compuesto de la presente descripción o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en combinación con uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables. En algunas modalidades, la composición es adecuada para la administración tópica. Al realizar las composiciones de la descripción, el ingrediente activo típicamente se mezcla con un excipiente, se diluye por un excipiente o se incluye dentro de este portador, p. ej., en forma de cápsula, sachet, papel u otro contenedor. Cuando el excipiente sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido, que actúe como vehículo, portador o medio para el ingrediente activo. Por lo tanto, las composiciones pueden estar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, pastillas, sobrecitos, cápsulas elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (como un sólido o en un medio líquido), ungüentos que contienen, por ejemplo, hasta el 10 % en peso del compuesto activo, cápsulas blandas y duras de gelatina, supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles.

Al preparar una formulación, el compuesto activo puede molerse para proporcionar el tamaño de partícula adecuado antes de combinarlo con los otros ingredientes. Si el compuesto activo es sustancialmente insoluble, se puede moler hasta un tamaño de partícula de menos de 200 mesh. Si el compuesto activo es sustancialmente soluble en agua, el tamaño de partícula se puede ajustar moliendo para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, por ejemplo, alrededor de 40 mesh.

Los compuestos de la descripción pueden molerse mediante el uso de procedimientos de molienda conocidos, tal como la molienda húmeda, para obtener un tamaño de partícula adecuado para la formación de comprimidos y para otros tipos de formulación. Las preparaciones finamente divididas (nanopartículas) de los compuestos de la descripción se pueden preparar mediante procesos conocidos en la técnica, p. ej., véase WO 2002/000196.

Algunos ejemplos de excipientes adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sucrosa, sorbitol, manitol, almidones, goma de acacia, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente: agentes lubricantes como talco, estearato de magnesio y aceite mineral, agentes humectantes; agentes emulsionantes y de suspensión; agentes conservantes como metilbenzoato y propilhidroxibenzoato; agentes edulcorantes; y agentes saborizantes. Las composiciones de la descripción pueden formularse de forma tal que proporcionen una liberación rápida, sostenida o retardada del ingrediente activo luego de la administración al paciente mediante el uso de procedimientos conocidos en la técnica.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende celulosa microcristalina silicificada (SMCC) y al menos un compuesto descrito en el presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la celulosa microcristalina silicificada comprende alrededor de 98 % de celulosa microcristalina y alrededor de 2 % de dióxido de silicio p/p.

En algunas modalidades, la composición es una composición de liberación sostenida que comprende al menos un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, la composición comprende al menos un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un componente seleccionado de celulosa microcristalina, monohidrato de lactosa, hidroxipropilmetilcelulosa y óxido de polietileno. En algunas modalidades, la composición comprende al menos un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y celulosa microcristalina, monohidrato de lactosa e hidroxipropilmetilcelulosa. En algunas modalidades, la composición comprende al menos un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y celulosa microcristalina, monohidrato de lactosa y óxido de polietileno. En algunas modalidades, la composición comprende adicionalmente estearato de magnesio o dióxido de silicio. En algunas modalidades, la celulosa microcristalina es Avicel PH102™. En algunas modalidades, el monohidrato de lactosa es Fast-flo 316™. En algunas modalidades, la hidroxipropilmetilcelulosa es hidroxipropilmetilcelulosa 2208 K4M (p. ej., Methocel K4 M Premier™) y/o hidroxipropilmetilcelulosa 2208 K100LV (p. ej., Methocel

K00LV™). En algunas modalidades, el óxido de polietileno es óxido de polietileno WSR 1105 (p. ej., Polyox WSR 1105™).

En algunas modalidades, se usa un proceso de granulación húmeda para producir la composición. En algunas modalidades, se utiliza un proceso de granulación seca para producir la composición.

Las composiciones se pueden formular en una forma de dosificación unitaria, donde cada dosificación contiene entre alrededor de 5 y alrededor de 1000 mg (1 g), más comúnmente entre alrededor de 100 mg y alrededor de 500 mg del ingrediente activo. En algunas modalidades, cada dosificación contiene alrededor de 10 mg del ingrediente activo. En algunas modalidades, cada dosificación contiene alrededor de 50 mg del ingrediente activo. En algunas modalidades, cada dosificación contiene alrededor de 25 mg del ingrediente activo. La expresión "formas de dosificación unitaria" hace referencia a unidades físicamente separadas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéuticamente adecuado.

Los componentes utilizados para formular las composiciones farmacéuticas son de alta pureza y son sustancialmente libres de contaminantes potencialmente dañinos (p. ej., al menos de grado Alimentario Nacional, en general al menos de grado analítico, y más típicamente al menos de grado farmacéutico). En particular para consumo humano, la composición se fabrica o se formula preferentemente bajo estándares de prácticas correctas de fabricación según se definen en las normativas aplicables de la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE. UU. Por ejemplo, las formulaciones adecuadas pueden ser estériles y/o sustancialmente isotónicas y/o en cumplimiento absoluto con todas las normativas de Prácticas correctas de fabricación de la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE. UU.

El compuesto activo puede ser eficaz en un amplio intervalo de dosificación y se administra por lo general en una cantidad con eficacia terapéutica. Sin embargo, se comprenderá que la cantidad del compuesto que se administre en los hechos habitualmente será determinada por un médico, de acuerdo con las circunstancias relevantes, que incluyen la afección que se ha de tratar, la vía de administración elegida, el compuesto administrado en los hechos, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

La dosificación terapéutica de un compuesto de la presente invención puede variar de acuerdo, por ejemplo, con el uso particular para el cual está hecho el tratamiento, la forma de administración del compuesto, la salud y la condición del paciente y el criterio del médico

tratante. La proporción o concentración de un compuesto de la descripción en una composición farmacéutica puede variar en función de diversos factores que incluyen la dosificación, las características químicas (p. ej., hidrofobicidad) y la vía de administración. Por ejemplo, los compuestos de la descripción pueden proporcionarse en una solución amortiguadora fisiológica acuosa que contiene entre alrededor de 0,1 y alrededor de 10 % p/v del compuesto para administración parenteral. Algunos intervalos de dosis típicos se encuentran entre alrededor de 1 µg/kg y alrededor de 1 g/kg de peso corporal por día. En algunas modalidades, el intervalo de dosis se encuentra entre alrededor de 0,01 mg/kg y alrededor de 100 mg/kg de peso corporal por día. Es probable que la dosificación dependa de variables como el tipo y medida del avance de la enfermedad o trastorno, el estado de salud general del paciente particular, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, la formulación del excipiente y su vía de administración. Las dosis eficaces pueden extrapolarse a partir de curvas de respuesta a la dosis derivadas de sistemas de prueba *in vitro* o en modelos animales.

Para preparar composiciones sólidas tales como comprimidos, se mezcla el ingrediente activo principal con un excipiente farmacéutico para formar una composición de preformulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente descripción. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulaciones como homogéneas, el ingrediente activo normalmente se dispersa de manera uniforme a través de la composición, de manera tal que la composición pueda subdividirse fácilmente en formas de dosificación unitaria igualmente eficaces, tales como comprimidos, píldoras y cápsulas. Luego esta preformulación sólida se subdivide en formas de dosificación unitaria del tipo descrito anteriormente que contienen, por ejemplo, entre alrededor de 0,1 y alrededor de 1000 mg del ingrediente activo de la presente descripción.

Los comprimidos o las píldoras de la presente descripción pueden estar recubiertos o estar compuestos de otro modo para proporcionar una forma de dosificación que logra la ventaja de acción prolongada. Por ejemplo, el comprimido o la píldora puede comprender un componente de dosificación interna y uno de dosificación externa, este último en forma de una cubierta sobre el primero. Los dos componentes pueden estar separados por una capa entérica que sirva para resistir la desintegración en el estómago y permitir que el componente interno pase intacto al duodeno o que la liberación de este se retrase. Se puede usar una variedad de materiales para esas capas o recubrimientos entéricos, donde esos materiales incluyen una cantidad de ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con materiales tales como laca, alcohol cetílico y acetato de celulosa.

Las formas líquidas en las cuales se pueden incorporar los compuestos y las composiciones de la presente descripción para la administración oral o por inyección incluyen

soluciones acuosas, jarabes adecuadamente saborizados, suspensiones acuosas u oleosas y emulsiones saborizadas con aceites comestibles tales como aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de maní, así como elíxires y vehículos farmacéuticos similares.

5 Las composiciones para la inhalación o insuflación incluyen soluciones y suspensiones en solventes orgánicos o acuosos farmacéuticamente aceptables o mezclas de estos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados como se describe anteriormente. En algunas modalidades, las composiciones se administran mediante la vía respiratoria nasal u oral para un efecto local o
10 sistémico. Las composiciones pueden nebulizarse mediante el uso de gases inertes. Las soluciones nebulizadas pueden inhalarse directamente del dispositivo nebulizador o el dispositivo nebulizador puede estar unido a una mascarilla, carpa o ventilación con presión positiva intermitente. Las composiciones en forma de soluciones, suspensiones o polvo pueden administrarse por vía oral o nasal mediante dispositivos que suministren la formulación de manera adecuada.

15 Las formulaciones tópicas pueden contener uno o más portadores convencionales. En algunas modalidades, los ungüentos pueden contener agua y uno o más portadores hidrofóbicos seleccionados de entre, p. ej., parafina líquida, alquil éter de polioxietileno, propilenglicol, vaselina blanca, y similares. Las composiciones de portadores de cremas
20 pueden ser a base de agua en combinación con glicerol y uno o más componentes diferentes, por ejemplo, glicerínmonostearato, PEG-glicerínmonostearato y alcohol cetosteárico. Los geles se pueden formular utilizando alcohol isopropílico y agua, adecuadamente en combinación con otros componentes, por ejemplo, glicerol, hidroxietilcelulosa y similares. En algunas modalidades, las formulaciones tópicas contienen al menos alrededor de 0,1, al
25 menos alrededor de 0,25, al menos alrededor de 0,5, al menos alrededor de 1, al menos alrededor de 2 o al menos alrededor de 5 % en peso del compuesto de la descripción. Las formulaciones tópicas pueden envasarse de manera adecuada en tubos de, p. ej., 100 g que opcionalmente traigan asociadas instrucciones para el tratamiento de la afección seleccionada, p. ej., psoriasis u otra afección de la piel.

30 La cantidad de compuesto o composición administrada a un paciente variará dependiendo de qué se está administrando, el propósito de la administración, por ejemplo, profilaxis o terapia, el estado del paciente, la forma de administración y similares. En las aplicaciones terapéuticas, las composiciones pueden administrarse a un paciente que ya padece una enfermedad en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Las dosis eficaces dependerán de la afección que se trate, así como del criterio del médico tratante en virtud de

factores tales como la gravedad de la enfermedad, la edad, el peso y la condición general del paciente y similares.

Las composiciones administradas a un paciente pueden estar en la forma de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Estas composiciones pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales o pueden esterilizarse por filtración. Las soluciones acuosas pueden envasarse para su uso en el estado en que se encuentran o liofilizarse, en las que la preparación liofilizada se combina con un portador acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones de compuestos estará típicamente entre 3 y 11, más preferiblemente entre 5 y 9 y más preferiblemente entre 7 y 8. Se entenderá que el uso de algunos de los excipientes, portadores o estabilizadores anteriores dará como resultado la formación de sales farmacéuticas.

La dosificación terapéutica de un compuesto de la presente descripción puede variar de acuerdo, por ejemplo, con el uso particular para el cual está hecho el tratamiento, la forma de administración del compuesto, la salud y la condición del paciente y el criterio del médico tratante. La proporción o concentración de un compuesto de la descripción en una composición farmacéutica puede variar en función de diversos factores que incluyen la dosificación, las características químicas (p. ej., hidrofobicidad) y la vía de administración. Por ejemplo, los compuestos de la descripción pueden proporcionarse en una solución amortiguadora fisiológica acuosa que contiene entre alrededor de 0,1 y alrededor de 10 % p/v del compuesto para administración parenteral. Algunos intervalos de dosis típicos se encuentran entre alrededor de 1 µg/kg y alrededor de 1 g/kg de peso corporal por día. En algunas modalidades, el intervalo de dosis es de entre alrededor de 0,01 mg/kg y alrededor de 100 mg/kg de peso corporal por día. Es probable que la dosificación dependa de variables como el tipo y medida del avance de la enfermedad o el trastorno, el estado de salud general del paciente particular, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, la formulación del excipiente y su vía de administración. Las dosis eficaces pueden extrapolarse de curvas de respuesta a la dosis derivadas de sistemas de prueba *in vitro* o en modelos animales.

V. *Compuestos marcados y métodos de ensayo*

Los compuestos de la presente descripción pueden ser útiles además en investigaciones de procesos biológicos en tejidos normales y anormales. Por lo tanto, otro aspecto de la presente descripción hace referencia a compuestos marcados de la descripción (radiomarcados, marcados con fluorescencia, etc.) que serían útiles no solamente en técnicas de imagenología sino también en ensayos, tanto *in vitro* como *in vivo*, para localizar y cuantificar la proteína PD-L1 o PD-1 en muestras de tejido, incluso humanas, y para identificar ligandos PD-L1 mediante la inhibición de la unión de un compuesto marcado. Por consiguiente,

la presente descripción incluye ensayos de unión de PD-1/PD-L1 que contienen dichos compuestos marcados.

La presente descripción también incluye compuestos de la descripción marcados de forma isotópica. Un compuesto “marcado de forma isotópica” o “radiomarcado” es un compuesto de la descripción donde se han reemplazado o sustituido uno o más átomos por un átomo con masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que suele tener en la naturaleza (es decir, de origen natural). Los radionucleidos adecuados que pueden incorporarse en los compuestos de la presente descripción incluyen, de modo no taxativo, ^3H (también escrito como T por tritio), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I y ^{131}I . Por ejemplo, uno o más átomos de hidrógeno en un compuesto de la presente descripción se pueden reemplazar con átomos de deuterio.

Uno o más átomos constituyentes de los compuestos que se exponen en la presente pueden remplazarse o sustituirse con isótopos de los átomos en cantidades naturales o no naturales. En algunas modalidades, el compuesto incluye al menos un átomo de deuterio. En algunas modalidades, el compuesto incluye dos o más átomos de deuterio. En algunas modalidades, el compuesto incluye 1-2, 1-3, 1-4, 1-5 o 1-6 átomos de deuterio. En algunas modalidades, todos los átomos de hidrógeno en un compuesto se pueden reemplazar o sustituir por átomos de deuterio.

Los métodos sintéticos para incluir isótopos en los compuestos orgánicos se conocen en la técnica (Deuterium Labeling in Organic Chemistry de Alan F. Thomas (Nueva York, N.Y., Appleton-Century-Crofts, 1971; The Renaissance of H/D Exchange by Jens Atzrodt, Volker Derdau, Thorsten Fey y Jochen Zimmermann, *Angew. Chem Int. Ed.* 2007, 7744-7765; The Organic Chemistry of Isotopic Labeling por James R. Hanson, Royal Society of Chemistry, 2011). Los compuestos marcados isotópicamente pueden usarse en diversos estudios tales como espectroscopía de NMR, experimentos de metabolismo y/o ensayos.

La sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, puede proveer determinados beneficios terapéuticos producidos por la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, mayor semivida *in vivo* o menos requisitos de dosificación y, por lo tanto, pueden preferirse en algunas circunstancias. (Ver p. ej., A. Kerekes *et ál. J. Med. Chem.* 2011, 54, 201-210; R. Xu *et ál. J. Label Compd. Radiopharm.* 2015, 58, 308-312). En particular, la sustitución en uno o más sitios del metabolismo puede proporcionar una o más ventajas terapéuticas.

El radionucleido que se incorpore en los compuestos radiomarcados en cuestión dependerá de la aplicación específica de dicho compuesto radiomarcado. Por ejemplo, para el marcado de la proteína PD-L1 *in vitro* y ensayos de competencia, pueden ser útiles los

compuestos que incorporan ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I o ^{35}S serán en general los más útiles. Para las aplicaciones de radioimagenología pueden ser útiles ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br o ^{77}Br .

Se entiende que un “compuesto radiomarcado” o “compuesto marcado” es un compuesto que ha incorporado al menos un radionucleido. En algunas modalidades, el radionucleido se selecciona del grupo que consiste en ^3H , ^{14}C , ^{125}I , ^{35}S y ^{82}Br .

La presente descripción puede incluir además métodos sintéticos para incorporar radioisótopos en los compuestos de la descripción. Se conocen en la técnica los métodos sintéticos para incorporar radioisótopos en compuestos orgánicos y cualquier experto en la técnica reconocerá fácilmente los métodos aplicables para los compuestos de la descripción.

Un compuesto marcado de la descripción puede usarse en un ensayo de detección para identificar y/o evaluar compuestos. Por ejemplo, un compuesto recién sintetizado o identificado (es decir, compuesto de prueba) que está marcado se puede evaluar para conocer su capacidad de unirse a la proteína PD-L1 mediante el monitoreo de la variación de su concentración cuando entra en contacto con la proteína PD-L1, a través del rastreo del marcado. Por ejemplo, un compuesto de prueba (marcado) se puede evaluar para conocer su capacidad de reducir la unión de otro compuesto que se sabe que se une a una proteína PD-L1 (es decir, compuesto estándar). Por consiguiente, la capacidad de un compuesto de prueba de competir con el compuesto estándar por la unión a la proteína PD-L1 se correlaciona directamente con su afinidad de unión. En cambio, en algunos otros ensayos de detección, el compuesto estándar se encuentra marcado y los compuestos de prueba no se encuentran marcados. Por consiguiente, se controla la concentración del compuesto estándar marcado para evaluar la competencia entre el compuesto estándar y el compuesto de prueba y, de esa manera, se determina la afinidad de unión relativa del compuesto de prueba.

VI. Kits

La presente descripción también incluye kits farmacéuticos útiles, por ejemplo, para el tratamiento o prevención de enfermedades o trastornos asociados con la actividad de PD-L1, inclusive su interacción con otras proteínas tales como PD-1 y B7-1 (CD80), tales como cánceres o infecciones, que incluyen uno o más recipientes que contienen una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente. Dichos kits pueden incluir además uno o más de varios componentes de kits farmacéuticos convencionales, tales como, por ejemplo, recipientes con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, recipientes adicionales, etc., como será fácilmente evidente para los expertos en la técnica. También se pueden incluir en el kit instrucciones, ya sea como

prospectos o como etiquetas, que indiquen las cantidades de los componentes a administrar, las pautas de administración y/o las pautas para mezclar los componentes.

En la presente se pueden usar las siguientes abreviaturas: ac. (acuoso); br (amplio); d (doblete); dd (doblete de dobletes); DCM (diclorometano); DMF (*N,N*-dimetilformamida); DMSO (dimetilsulfóxido); Et (etilo); EtOAc (acetato de etilo); g (gramo/s); h (hora/s); HPLC (cromatografía líquida de alto rendimiento); Hz (hertz); J (constante de acoplamiento); LCMS (cromatografía líquida – espectrometría de masas); m (multiplete); M (molar); MS (espectrometría de masas); Me (metilo); MeCN (acetonitrilo); MeOH (metanol); mg (miligramo/s); min. (minuto/s); mL (mililitro/s); mmol (milimol/es); nM (nanomolar); NMR (espectroscopía de resonancia magnética nuclear); Ph (fenilo); t.a. (temperatura ambiente), s (singlete); t (triplete o terciario); TBS (terc-butildimetilsililo); terc (terciario); tt (triplete de tripletes); TFA (ácido trifluoroacético); THF (tetrahidrofurano); µg (microgramo/s); µL (microlitro/s); µM (micromolar); wt. % (por ciento en peso).

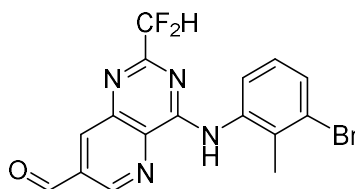
La invención se describirá en mayor detalle a modo de ejemplos específicos. Los siguientes ejemplos se proporcionan con fines ilustrativos y no se pretende que limiten la invención de manera alguna. Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente diversos parámetros no fundamentales que se pueden cambiar o modificar para producir esencialmente los mismos resultados. Se halló que los compuestos de los Ejemplos inhiben la actividad de la interacción proteína/proteína de PD-1/PD-L1 de acuerdo con al menos un ensayo descrito en la presente.

EJEMPLOS

A continuación, se proporcionan los procedimientos experimentales para los compuestos de la invención. Se realizó la purificación por LCMS preparativa de acceso abierto de algunos de los compuestos preparados en sistemas de fraccionamiento dirigido de masas de Waters. La configuración básica de los equipos, los protocolos y el software de control para el funcionamiento de estos sistemas se han descrito detalladamente en la bibliografía. Ver, por ejemplo, Blom, "Two-Pump At Column Dilution Configuration for Preparative LC-MS", K. Blom, *J. Combi. Chem.*, **2002**, 4, 295-301; Blom *et ál.*, "Optimizing Preparative LC-MS Configurations and Methods for Parallel Synthesis Purification", *J. Combi. Chem.*, **2003**, 5, 670 - 83; y Blom *et ál.*, "Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", *J. Combi. Chem.*, **2004**, 6, 874-883.

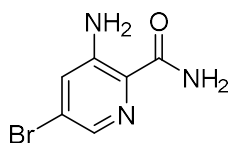
Compuesto intermedio 1. 4-((3-bromo-2-metilfenil)amino)-2-(difluorometil)pirido[3,2-d]pirimidina-7-carbaldehído

5



Etapas 1: 3-amino-5-bromopicolinamida

10



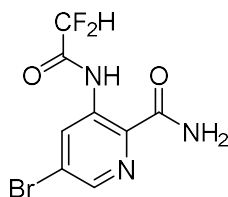
15

20

En un reactor se cargó secuencialmente 5-bromo-3-nitropicolinonitrilo (3,0 kg, 13,2 mol), metanol (15,0 L) y $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (356 g, 1,3 mol). A continuación, se añadió gota a gota al reactor hidrazina monohidrato (2,0 kg, 39,6 mol). La reacción se calentó a 70 °C durante 3 h. Luego de enfriar hasta temperatura ambiente, se filtró la mezcla de reacción a través de una almohadilla de tierra de diatomeas y se enjuagó con metanol (1,0 L). El filtrado se concentró a presión reducida para producir un aceite negro, que se redisolvió en acetato de etilo (2,0 L) y agua (2,0 L) y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se separó y la fase orgánica se secó y se filtró. Se concentró el filtrado para obtener un sólido negro (1,8 kg, rendimiento del 63 %), que se utilizó directamente *Etapas 2* sin purificación adicional.

Etapas 2: 5-bromo-3- (2,2-difluoroacetamido)picolinamida

25



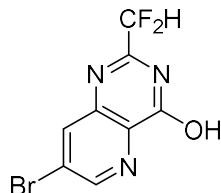
30

En el reactor 1 se cargó secuencialmente 3-amino-5-bromopicolinamida (2,0 kg, 9,3 mol), DCM (8,0 L) y trietilamina (2,8 kg, 27,8 mol). La mezcla en el reactor 1 se enfrió a 5-10 °C. A continuación, al reactor 2 se cargó secuencialmente ácido difluoroacético (2,1 kg, 21,4 mol), DCM (2,0 L) y DMF (50 mL). La mezcla del reactor 1 se añadió lentamente al reactor 2. La temperatura de reacción se controló por debajo de 15 °C durante la adición. Después de la adición, la reacción se agitó a 15-20 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se vertió luego en agua helada (5,0 L). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera (2,0 L) y luego se

concentró al vacío para proporcionar un sólido marrón (2,0 kg, rendimiento del 75 %), que se usó directamente en la *Etapa 3* sin purificación adicional.

Etapa 3: 7-bromo-2-(difluorometil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-ol

5

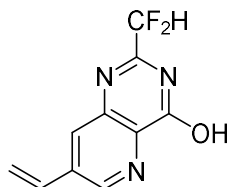


A un reactor se cargó secuencialmente 5-bromo-3-(2,2-difluoroacetamido)picolinamida (870 g, 3,0 mol), etanol (2,0 L), agua (0,5 L) e hidróxido de sodio (118 g, 3,0 mol). La reacción se agitó a 50-60 °C durante 4 h. Luego de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua helada (2,0 L). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, la suspensión se filtró para obtener un sólido marrón (500 g, rendimiento del 60 %), que se secó al aire y se usó directamente en la *Etapa 4* sin purificación adicional.

15

Etapa 4: 2-(difluorometil)-7-vinilpirido[3,2-d]pirimidin-4-ol

20

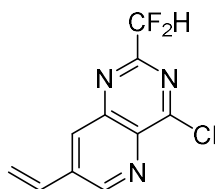


A un reactor se cargó secuencialmente 7-bromo-2-(difluorometil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-ol (1,3 kg, 4,7 mol), etanol (6,0 L), agua (6,0 L), carbonato de potasio (1,9 kg, 14,1 mol), dicloruro de [1,1'-Bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio(II) (130 g, 10 wt. %), y éster pinacólico de ácido vinilborónico (0,9 kg, 6,1 mol). La mezcla se agitó a 80-85 °C durante 60-70 horas. Luego de enfriar hasta temperatura ambiente, se filtró la mezcla de reacción a través de una almohadilla de tierra de diatomeas y se enjuagó con acetato de etilo (0,5 L). Luego, el filtrado se ajustó mediante solución de HCl concentrado a pH 2-3 antes de extraer con acetato de etilo tres veces (3x10,0 L). Se combinaron las capas orgánicas y se lavaron con salmuera (4,0 mL), y se concentraron para obtener un residuo bruto. Al residuo se agregó éter de petróleo (2,0 L). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 h. Luego la suspensión se filtró y el sólido se recolectó como un sólido amarillo (500 g, rendimiento del 50 %).

30

Etapa 5: 4-cloro-2-(difluorometil)-7-vinilpirido[3,2-d]pirimidina

5

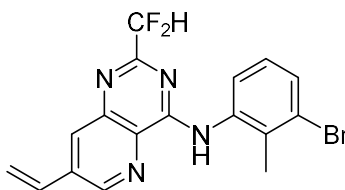


A un reactor se cargó secuencialmente tolueno (1,0 L), 2-(difluorometil)-7-vinilpirido[3,2-d]pirimidin-4-ol (200 g, 0,9 mol) y luego cloruro de fosforilo (206 g, 1,35 mol) lentamente. A continuación, se añadió gota a gota al reactor N,N-dimetilanilina (190 g, 1,35 mol). Luego se agitó la mezcla a 130 °C durante 2 h. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en agua helada (1,0 L). La mezcla se extrajo con acetato de etilo tres veces (1,0 L, 0,5 L, 0,5 L). Se combinaron las capas orgánicas y luego se lavaron con salmuera (0,5 mL), y se concentraron para obtener un residuo bruto. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para obtener un sólido amarillo (170 g, rendimiento del 80 %).

15

Etapa 6: N-(3-bromo-2-metilfenil)-2-(difluorometil)-7-vinilpirido[3,2-d]pirimidin-4-amina

20



A un reactor se cargó secuencialmente *tert*-butanol (2,5 L), 4-cloro-2-(difluorometil)-7-vinilpirido[3,2-d]pirimidina (250 g, 1,04 mol) y 3-bromo-2-metilanilina (188 g, 1,25 mol). La mezcla se agitó a 50 °C durante la noche. Luego la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. Se filtró la suspensión y se recogió el sólido (375 g, rendimiento del 92 %) y se usó sin purificación adicional.

25

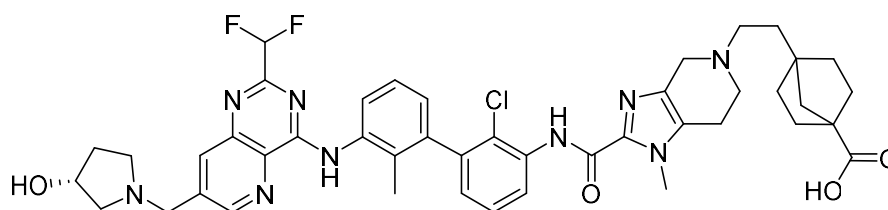
Etapa 7: 4-((3-bromo-2-metilfenil)amino)-2-(difluorometil)pirido[3,2-d]pirimidina-7-carbaldehído

30

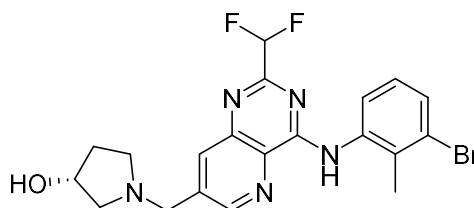
A un reactor se le cargó secuencialmente THF (7,0 L) y agua (2,0 L) a temperatura ambiente, seguido de peryodato de sodio (620 g, 2,8 mol), 2,6-dimetilpiridina (205 g, 1,9 mol) a 5-10 °C, tetraóxido de osmio (2,0 g, 0,09 mol) a 5-10°C y N-(3-bromo-2-metilfenil)-2-(difluorometil)-7-vinilpirido[3,2-d]pirimidin-4-amina (370 g, 0,96 mol) a 5-10 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Luego, la mezcla se concentró antes de agregar agua (2,0 L) al residuo. Después de la filtración, se recolectó el sólido y se

redisolvió en acetato de etilo (1,5 L). La mezcla se agitó a reflujo durante 3 h. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la suspensión se filtró y el sólido se recogió y se secó al aire (325 g, rendimiento del 85 %). ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 10,75 (s, 1H), 10,34 (s, 1H), 9,35 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H), 8,78 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,57 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,24 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,74 (m, $J = 54,0$ Hz, 1H), 2,30 (s, 3H). ^{13}C NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 192,5 (s), 159,7 (s), 158,2 (t, $J = 96$ Hz), 149,0 (s), 144,5 (s), 139,2 (s), 137,9 (s), 135,2 (s), 134,6 (s), 134,3 (s), 131,0 (s), 128,0 (s), 126,9 (s), 125,2 (s), 112,8 (t, $J = 960$ Hz), 19,0 (s).

Ejemplo 1. Ácido (*R*)-4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxipirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-*d*]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-*c*]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico

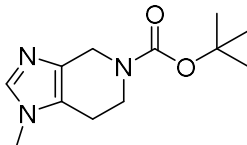


Etapas 1: (*R*)-1-((4-((3-bromo-2-metilfenil)amino)-2-(difluorometil)pirido[3,2-*d*]pirimidin-7-il)metil)pirrolidin-3-ol



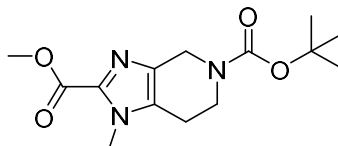
Una mezcla de 4-((3-bromo-2-metilfenil)amino)-2-(difluorometil)pirido[3,2-*d*]pirimidin-7-carbaldehído (Compuesto intermedio 1: 1027 mg), (*R*)-pirrolidin-3-ol (273 mg) y ácido acético (220 μL) en DCM (7 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Luego se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (830 mg). Se agitó la mezcla adicionalmente a temperatura ambiente durante 1 h. Se inactivó la reacción con solución acuosa de $\text{NH}_3\text{H}_2\text{O}$, se extrajo mediante DCM. Se combinó la fase orgánica y se secó sobre MgSO_4 . Después de la filtración, se concentró la solución de DCM hasta obtener un residuo que se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (0-12 % MeOH/DCM). LC-MS calculada para $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{BrF}_2\text{N}_5\text{O}$ ($\text{M}+\text{H}^+$): $m/z = 464,1, 466,1$; hallado 464,0, 466,0.

Etapla 2: 1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de terc-butilo



5 Una solución de 1-metil-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c]piridina (Accela, n.º de cat. SY032476: 2,0 g), (Boc)₂O (3,38 mL) en diclorometano (60 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se inactivó la reacción con solución acuosa saturada de NaHCO₃ y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida. El producto
10 bruto se utilizó en la *Etapla 3* sin purificación adicional. LCMS calculada para C₁₂H₂₀N₃O₂ (M+H)⁺: m/z = 238,2; hallado 238,2.

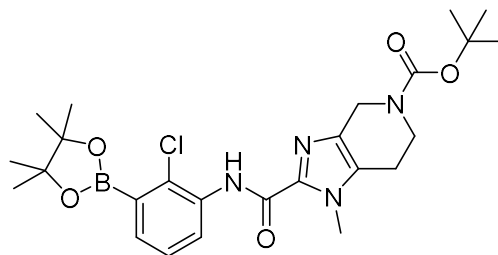
Etapla 3: 2-metil 1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-2,5-dicarboxilato de 5-(terc-butilo)



15 Se agregó *n*-butillitio en hexanos (2,5 M, 7,00 mL) a una solución fría (-78 °C) del producto bruto 1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-5-carboxilato de *terc*-butilo de la *Etapla 2* (3,46 g) en tetrahidrofurano (60,0 mL). Se agitó la mezcla de reacción a -78 °C durante 10 min antes de la adición de cloroformiato de metilo (1,69 mL). Después de agitar a -78 °C durante 30 min, la reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NaHCO₃ y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se
20 filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice eluyendo con 0 a 80 % de acetato de etilo en hexanos para obtener el producto deseado. LCMS calculada para C₁₄H₂₂N₃O₄ (M+H)⁺: m/z = 296,2; hallado: 296,3.

Etapa 4: 2-((2-cloro-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-carboxilato de terc-butilo

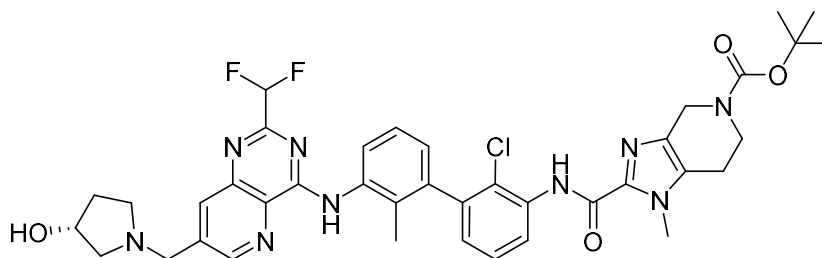
5



Se agregó solución de *terc*-butóxido de potasio (1,0 M en THF, 16,1 mL) a una solución de 2-metil 1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina-2,5-dicarboxilato de 5-(*terc*-butilo) (2,38 g) y 2-cloro-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina (Ambeed, n.º de cat. A719321: 2,04 g) en THF (53,7 mL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 0,5 h, se inactivó la mezcla de reacción con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice con acetato de etilo en hexanos (0-50 %) para obtener el producto. LC-MS calculada para C₂₅H₃₅BClN₄O₅ (M+H)⁺: m/z = 517,2; hallado 517,2.

Etapa 5: (R)-2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxipirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-carboxilato de terc-butilo

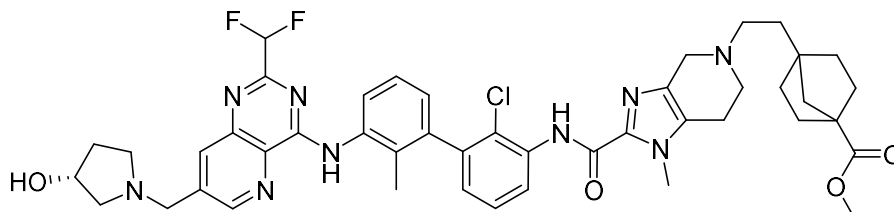
25



Una mezcla de (*R*)-1-((4-((3-bromo-2-metilfenil)amino)-2-(difluorometil)pirido[3,2-d]pirimidin-7-il)metil)pirrolidin-3-ol (48 mg), 2-((2-cloro-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-carboxilato de *terc*-butilo (51,3 mg), fosfato de potasio (54,9 mg) y cloro(2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropil-1,1'-bifenil)[2-(2'-amino-1,1'-bifenil)] paladio(II) (8,1 mg) en una mezcla de agua (0,09 mL) y 1,4-dioxano (0,43 mL), se purgó con N₂ y luego se agitó a 100 °C durante 2 h. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y luego se lavó con H₂O y solución de salmuera. Se secó la capa orgánica sobre MgSO₄, se filtró y el filtrado se concentró para obtener un

residuo bruto, que se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice. LC-MS calculada para $C_{39}H_{43}ClF_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 774,3; hallado 774,4.

Etapa 6: (R)-4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxipirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxilato de metilo.



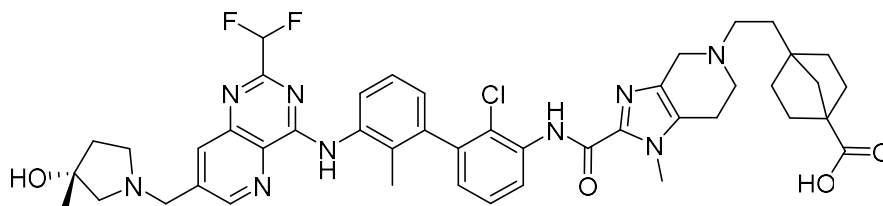
A una solución de (R)-2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxipirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-carboxilato de *terc*-butilo (15 mg) en DCM (130 μ L) se agregó ácido trifluoroacético (130 μ L). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 0,5 h. Luego los productos volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se redisolvió en DCM y se neutralizó con solución de $NaHCO_3$ saturada. Se extrajo la capa acuosa con DCM tres veces. Se secaron las capas de DCM combinadas sobre $MgSO_4$ y se filtraron. El filtrado se concentró para obtener producto bruto tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridina. Al material bruto anterior en DCM (130 μ L) se añadió 4-(2-oxoetil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxilato de metilo (PharmaBlock, n.º de cat. PB96551: 7,60 mg) seguido de triacetoxiborohidruro de sodio (10,3 mg). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 0,5 h. Después la reacción se diluyó con DCM y se inactivó mediante la adición de una solución acuosa de hidróxido de amonio. Se concentró la capa de DCM para obtener un producto bruto, que se utilizó directamente en la *Etapa 7*. LC-MS calculada para $C_{45}H_{51}ClF_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 854,4; hallado 854,5.

Etapa 7: ácido (R)-4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxipirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico

A una solución de (R)-4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxipirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxilato de metilo (16 mg) en un solvente mixto de THF (150 μ L), agua (150 μ L) y MeOH (75 μ L) se agregó LiOH (2,2 mg). La mezcla se agitó a 40 °C durante 6 h. La mezcla de reacción se

diluyó con MeOH y luego se purificó mediante HPLC preparativa (pH = 2, acetonitrilo/agua+TFA) para proporcionar el producto deseado como una sal de TFA. LC-MS calculada para $C_{44}H_{49}ClF_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 840,4; hallado 840,4. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,54 (s, 1H), 9,93 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,27 (dd, *J* = 8,2, 1,2 Hz, 1H), 7,66 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,49 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,38 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,16 – 7,14 (m, 2H), 7,13 – 7,12 (m, 1H), 6,87 – 6,62 (m, 1H), 4,84 – 4,63 (m, 2H), 4,57 – 4,39 (m, 3H), 4,32 – 4,20 (m, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,89 – 3,79 (m, 1H), 3,73 – 3,64 (m, 1H), 3,62 – 3,52 (m, 1H), 3,50 – 3,39 (m, 1H), 3,37 – 3,21 (m, 3H), 3,19 – 3,10 (m, 1H), 3,10 – 2,93 (m, 2H), 2,39 – 2,27 (m, 1H), 2,05 – 1,92 (m, 6H), 1,92 – 1,82 (m, 2H), 1,61 – 1,49 (m, 4H), 1,46 (s, 2H), 1,37 (s, 2H).

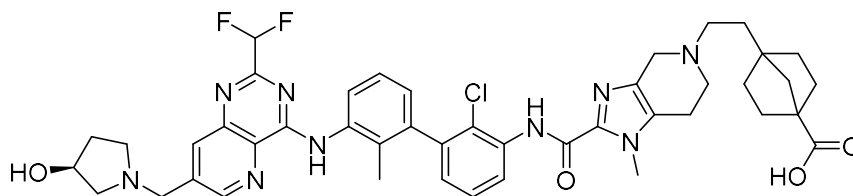
Ejemplo 2. Ácido (R)-4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxi-3-metilpirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-*d*]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-*c*]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico



Se preparó este compuesto utilizando procedimientos similares a los descritos para el *Ejemplo 1* con (R)-3-metilpirrolin-3-ol en lugar de (R)-pirrolidin-3-ol (*Etapa 1*). La mezcla de reacción se diluyó en la última etapa con MeOH y luego se purificó mediante HPLC preparativa (pH = 2, acetonitrilo/agua+TFA) para proporcionar el producto deseado como una sal de TFA. LC-MS calculada para $C_{45}H_{51}ClF_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 854,4; hallado 854,4. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,54 (s, 1H), 10,23 (s, 1H), 9,94 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,28 (dd, *J* = 8,2, 1,4 Hz, 1H), 7,66 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,50 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,39 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,17 – 7,14 (m, 1H), 7,14 – 7,12 (m, 1H), 6,88 – 6,62 (m, 1H), 4,81 – 4,60 (m, 2H), 4,57 – 4,46 (m, 1H), 4,32 – 4,19 (m, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,90 – 3,78 (m, 1H), 3,73 – 3,59 (m, 1H), 3,54 – 3,37 (m, 2H), 3,35 – 3,14 (m, 4H), 3,11 – 2,94 (m, 2H), 2,19 – 2,07 (m, 1H), 2,03 – 1,94 (m, 6H), 1,93 – 1,84 (m, 2H), 1,61 – 1,49 (m, 4H), 1,47 (s, 3H), 1,41 – 1,37 (m, 2H), 1,35 (s, 3H).

Ejemplo 3. Ácido (S)-4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxipirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico

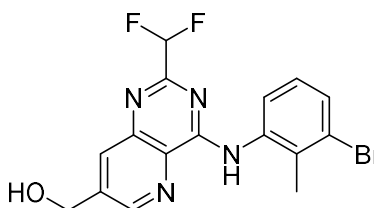
5



10

Etapas 1: (4-((3-bromo-2-metilfenil)amino)-2-(difluorometil)pirido[3,2-d]pirimidin-7-il)metanol.

15

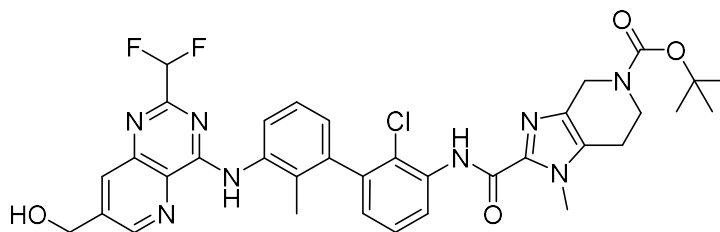


25

A una mezcla de 4-((3-bromo-2-metilfenil)amino)-2-(difluorometil)pirido[3,2-d]pirimidin-7-carbaldehído (**Compuesto intermedio 1**: 1513 mg) en MeOH (19 mL) y CH₂Cl₂ (19 mL) se añadió borohidruro de sodio (146 mg). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 h. Luego la reacción se inactivó con solución acuosa de HCl 1N y se extrajo con DCM tres veces. Se combinó la fase orgánica y se secó sobre MgSO₄. Después de la filtración, el filtrado se concentró para dar un producto de color amarillo claro, que se utilizó directamente sin purificación adicional. LC-MS calculada para C₁₆H₁₄BrF₂N₄O (M+H)⁺: m/z = 395,0, 397,0; hallado 395,1, 397,1.

30

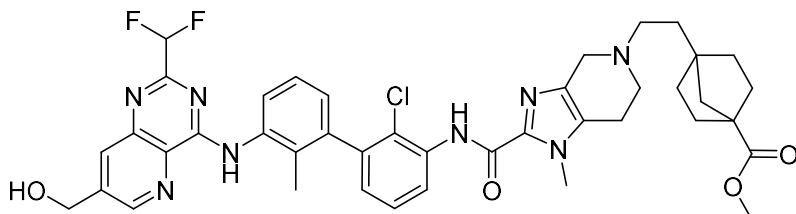
Etapas 2: 2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-(hidroximetil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-carboxilato de terc-butilo.



Una mezcla de (4-((3-bromo-2-metilfenil)amino)-2-(difluorometil)pirido[3,2-d]pirimidin-7-il)metanol (767 mg), 2-((2-cloro-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-

il)fenil)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-carboxilato de *terc*-butilo (1053 mg), carbonato de potasio (671 mg) y cloro(2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropil-1,1'-bifenil)[2-(2'-amino-1,1'-bifenil)]paladio(II) (153 mg) en un solvente mixto de agua (3,2 mL) y 1,4-dioxano (16,2 mL), se purgó con N₂ y luego se agitó a 110 °C durante 3 h. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y luego se lavó con H₂O y solución acuosa saturada de NaCl. Se secó la capa orgánica sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para obtener un residuo bruto, que se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice. LC-MS calculada para C₃₅H₃₆ClF₂N₈O₄ (M+H)⁺: m/z = 705,2; hallado 705,2.

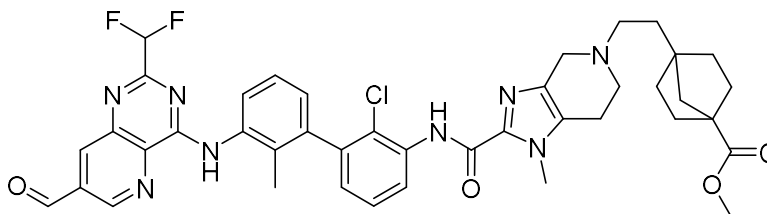
Etapas 3: 4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-(hidroximetil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxilato de metilo.



A una solución de 2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-(hidroximetil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-carboxilato de *terc*-butilo (701 mg) en DCM (5 mL) se agregó ácido trifluoroacético (7 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Luego la mezcla se evaporó a presión reducida. El residuo se redisolvió en DCM y se neutralizó con solución de NaHCO₃ saturada. Se extrajo la capa acuosa con DCM tres veces. Se secaron las capas de DCM combinadas sobre MgSO₄ y se filtraron. Se concentró el filtrado para proporcionar el producto amina bruto, que se usó directamente. Una mezcla de la amina bruta anterior y 4-(2-oxoetil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxilato de metilo (PharmaBlock, n.º de cat. PB96551: 217 mg) en DCM (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después, se le agregó triacetoxiborohidruro de sodio (421 mg). Se agitó la mezcla adicionalmente a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se diluyó en DCM y se inactivó con NH₄OH. La fase acuosa se lavó con DCM y la fase orgánica se combinó y se secó sobre MgSO₄. Después de la filtración, se concentró el filtrado y el residuo correspondiente se purificó mediante cromatografía en columna (0-16 % de MeOH en DCM). LC-MS calculada para C₄₁H₄₄ClF₂N₈O₄ (M+H)⁺: m/z = 785,3; hallado 785,3.

Etapa 4: 4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-formilpirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxilato de metilo.

5



A una solución de 4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-(hidroximetil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxilato de metilo (210 mg) en DCM (2,7 mL) se agregó dióxido de manganeso (930 mg). La mezcla se agitó a 40 °C durante 2 h. Luego la reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite para extraer sólidos. Se evaporó el filtrado y se utilizó el residuo directamente en la *etapa 5*. LC-MS calculada para C₄₁H₄₂ClF₂N₈O₄ (M+H)⁺: m/z = 783,3; hallado 783,4.

15

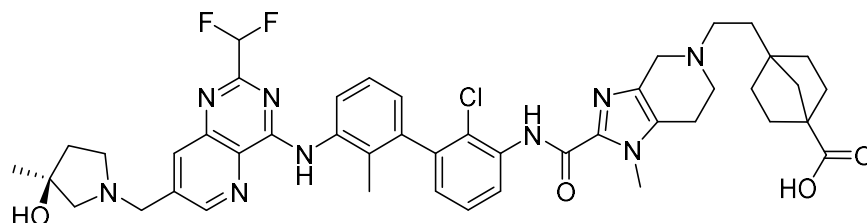
Etapa 5: ácido (S)-4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxipirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico

20

A una solución de 4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-formilpirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxilato de metilo (15 mg) y (S)-pirrolidin-3-ol (3,4 mg) en CH₂Cl₂ (0,2 mL) se agregó ácido acético (2,2 µL). Después de que la mezcla se agitara a temperatura ambiente durante 30 min, se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (8,1 mg) a la reacción y la reacción se continuó agitando durante 1 h. Luego la mezcla de reacción se evaporó. El residuo se utilizó directamente. A una solución del residuo anterior en un solvente mixto (150 µL, THF/ agua/ MeOH = 2/2/1) se añadió LiOH (3 mg). La mezcla se agitó a 40 °C durante 6 h. Luego de completada, la mezcla de reacción se diluyó con MeOH y luego se purificó mediante HPLC preparativa (pH = 2, acetonitrilo/agua +TFA) para proporcionar el producto deseado como una sal de TFA. LC-MS calculada para C₄₄H₄₉ClF₂N₉O₄ (M+H)⁺: m/z = 840,4; hallado 840,3.

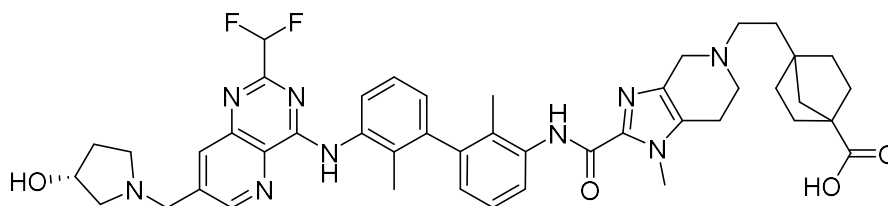
30

Ejemplo 4. Ácido (S)-4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxi-3-metilpirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico



Se preparó este compuesto utilizando procedimientos similares a los descritos para el *Ejemplo 3* con (*S*)-3-metilpirrolidin-3-ol en lugar de (*S*)-pirrolidin-3-ol (*Etapa 5*). La mezcla de reacción se diluyó en la última etapa con MeOH y luego se purificó mediante HPLC preparativa (pH = 2, acetonitrilo/agua+TFA) para proporcionar el producto deseado como una sal de TFA. LC-MS calculada para $C_{45}H_{51}ClF_2N_9O_4$ ($M+H$)⁺: m/z = 854,4; hallado 854,3.

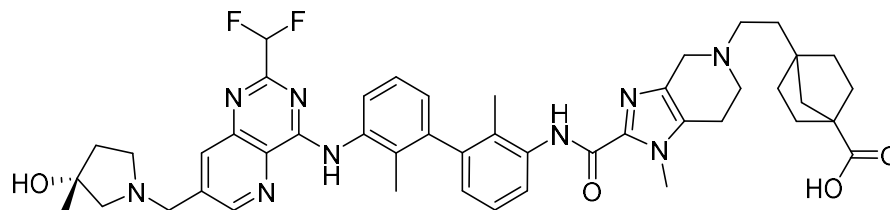
Ejemplo 5. Ácido (R)-4-(2-(2-((3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxi-3-metilpirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2,2'-dimetil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico



Se preparó este compuesto utilizando procedimientos similares a los descritos para el *Ejemplo 1*, con 2-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina (Combi-Blocks, n.º de cat. PN-9127) en lugar de 2-cloro-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina (*Etapa 4*). La mezcla de reacción se diluyó en la última etapa con MeOH y luego se purificó mediante HPLC preparativa (pH = 2, acetonitrilo/agua+TFA) para proporcionar el producto deseado como una sal de TFA. LC-MS calculada para $C_{45}H_{52}F_2N_9O_4$ ($M+H$)⁺: m/z = 820,4; hallado 820,4. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,59 (s, 1H), 10,37 (s, b, 1H), 9,86 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 8,50 (s, 2H), 7,61 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,57 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,35 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,30 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,08 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,03 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 6,87 – 6,57 (m, 1H), 4,80 – 4,62 (m, 2H), 4,52 – 4,45 (m, 1H), 4,47 – 4,14 (m, 2H), 3,91 (s, 3H), 3,87 – 3,80 (m, 1H), 3,71 – 3,64 (m, 1H), 3,63 – 3,50 (m, 1H), 3,49 – 3,38 (m, 1H), 3,36 – 3,23 (m, 3H), 3,17 – 3,10 (m, 1H), 3,08 – 2,93 (m, 2H), 2,37 – 1,91 (m, 2H),

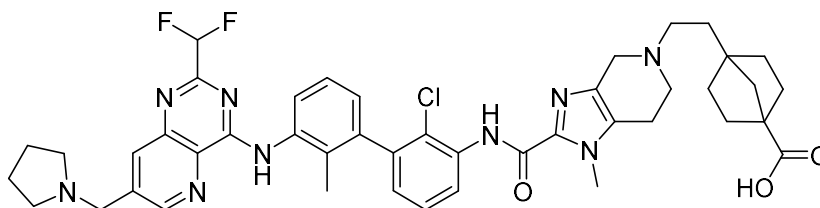
2,00 (s, 3H), 1,99 – 1,94 (m, 2H), 1,92 (s, 3H), 1,90 – 1,85 (m, 2H), 1,59 – 1,49 (m, 4H), 1,46 (s, 2H), 1,42 – 1,34 (m, 2H).

Ejemplo 6. Ácido (*R*)-4-(2-(2-((3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxi-3-metilpirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-*d*]pirimidin-4-il)amino)-2,2'-dimetil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-*c*]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico



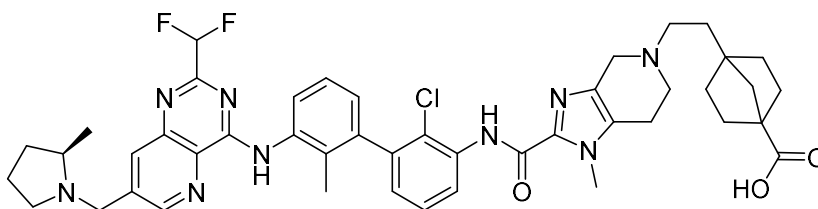
Se preparó este compuesto utilizando procedimientos similares a los descritos para el *Ejemplo 1*, con 2-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina (Combi-Blocks, n.º de cat. PN-9127) en lugar de 2-cloro-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina (*Etapa 4*) y (*R*)-3-metilpirrolidin-3-ol en lugar de (*R*)-pirrolidin-3-ol (*Etapa 1*). La mezcla de reacción se diluyó en la última etapa con MeOH y luego se purificó mediante HPLC preparativa (pH = 2, acetonitrilo/agua+TFA) para proporcionar el producto deseado como una sal de TFA. LC-MS calculada para C₄₆H₅₄F₂N₉O₄ (M+H)⁺: m/z = 834,4; hallado 834,4. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,57 (s, 1H), 10,16 (s, 1H), 9,84 (s, 1H), 9,10 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,62 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,57 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,36 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,30 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,08 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,03 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 6,86 – 6,58 (m, 1H), 4,79 – 4,60 (m, 2H), 4,53 – 4,41 (m, 1H), 4,32 – 4,16 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,87 – 3,79 (m, 1H), 3,69 – 3,60 (m, 1H), 3,53 – 3,35 (m, 2H), 3,33 – 3,25 (m, 2H), 3,25 – 3,12 (m, 2H), 3,09 – 2,91 (m, 2H), 2,17 – 2,08 (m, 2H), 2,03 – 1,94 (m, 7H), 1,92 (s, 3H), 1,90 – 1,83 (m, 2H), 1,61 – 1,49 (m, 4H), 1,47 (s, 2H), 1,41 – 1,36 (m, 2H), 1,35 (s, 3H).

Ejemplo 7. Ácido 4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-(pirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-*d*]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-*c*]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico



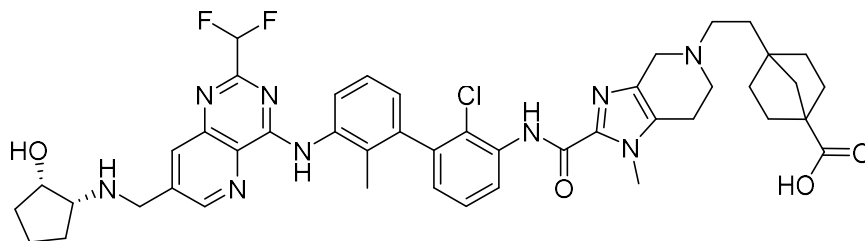
Se preparó este compuesto utilizando procedimientos similares a los descritos para el *Ejemplo 3* con *pirrolidina* en lugar de (*S*)-*pirrolidin-3-ol* (*Etap*a 5). La mezcla de reacción se diluyó en la última etapa con MeOH y luego se purificó mediante HPLC preparativa (pH = 2, acetonitrilo/agua+TFA) para proporcionar el producto deseado como una sal de TFA. LC-MS calculada para C₄₄H₄₉ClF₂N₉O₃ (M+H)⁺: m/z = 824,4; hallado 824,3.

Ejemplo 8. Ácido (*R*)-4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-((2-metilpirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-*d*]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-*c*]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico



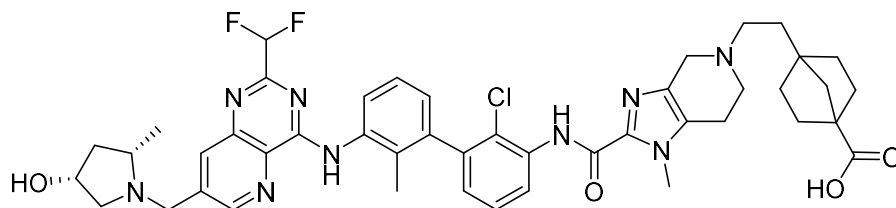
Se preparó este compuesto utilizando procedimientos similares a los descritos para el *Ejemplo 3* con *pirrolidina* en lugar de (*S*)-*pirrolidin-3-ol* (*Etap*a 5). La mezcla de reacción se diluyó en la última etapa con MeOH y luego se purificó mediante HPLC preparativa (pH = 2, acetonitrilo/agua+TFA) para proporcionar el producto deseado como una sal de TFA. LC-MS calculada para C₄₅H₅₁ClF₂N₉O₃ (M+H)⁺: m/z = 838,4; hallado 838,3.

Ejemplo 9. Ácido 4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-(((1*R*,2*S*)-2-hidrox ciclopentil)amino)metil)pirido[3,2-*d*]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-*c*]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico



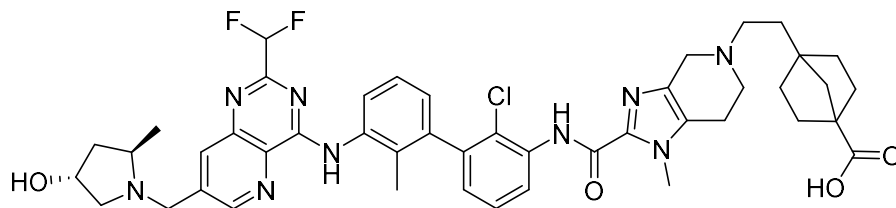
Se preparó este compuesto utilizando procedimientos similares a los descritos para el *Ejemplo 3* con (1*S*,2*R*)-2-aminociclopentan-1-ol en lugar de (*S*)-*pirrolidin-3-ol* (*Etap*a 5). La mezcla de reacción se diluyó en la última etapa con MeOH y luego se purificó mediante HPLC preparativa (pH = 2, acetonitrilo/agua+TFA) para proporcionar el producto deseado como una sal de TFA. LC-MS calculada para C₄₅H₅₁ClF₂N₉O₄ (M+H)⁺: m/z = 854,4; hallado 854,5.

Ejemplo 10. Ácido 4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-(((2S,4R)-4-hidroxi-2-metilpirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico



Se preparó este compuesto utilizando procedimientos similares a los descritos para el *Ejemplo 3* con (3R,5S)-5-metilpirrolidin-3-ol en lugar de (S)-pirrolidin-3-ol (*Etapa 5*). La mezcla de reacción se diluyó en la última etapa con MeOH y luego se purificó mediante HPLC preparativa (pH = 2, acetonitrilo/agua+TFA) para proporcionar el producto deseado como una sal de TFA. LC-MS calculada para $C_{45}H_{51}ClF_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 854,4; hallado 854,3.

Ejemplo 11. Ácido 4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-(((2R,4R)-4-hidroxi-2-metilpirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico



Se preparó este compuesto utilizando procedimientos similares a los descritos para el *Ejemplo 3* con (3R,5R)-5-metilpirrolidin-3-ol en lugar de (S)-pirrolidin-3-ol (*Etapa 5*). La mezcla de reacción se diluyó en la última etapa con MeOH y luego se purificó mediante HPLC preparativa (pH = 2, acetonitrilo/agua+TFA) para proporcionar el producto deseado como una sal de TFA. LC-MS calculada para $C_{45}H_{51}ClF_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 854,4; hallado 854,3.

10

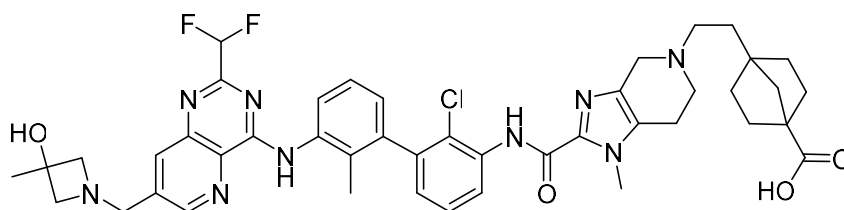
15

20



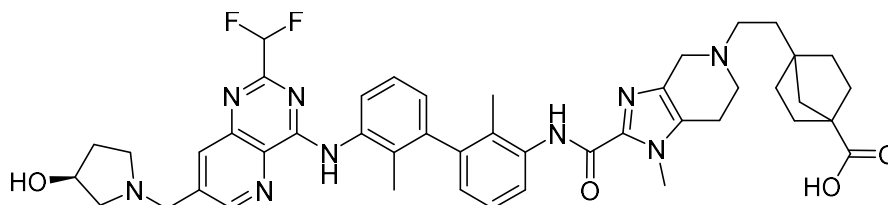
30

Ejemplo 14. Ácido 4-(2-(2-((2-cloro-3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxi-3-metilazetidín-1-il)metil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2'-metil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico



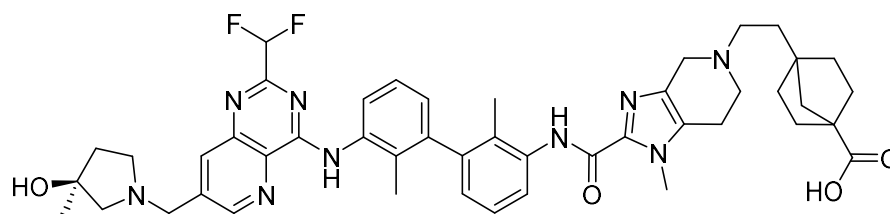
Se preparó este compuesto utilizando procedimientos similares a los descritos para el *Ejemplo 3* con 3-metilazetidín-3-ol en lugar de (*S*)-pirrolidín-3-ol (*Etapa 5*). La mezcla de reacción se diluyó en la última etapa con MeOH y luego se purificó mediante HPLC preparativa (pH = 2, acetonitrilo/agua+TFA) para proporcionar el producto deseado como una sal de TFA. LC-MS calculada para C₄₄H₄₉ClF₂N₉O₄ (M+H)⁺: m/z = 840,4; hallado 840,3.

Ejemplo 15. Ácido (*S*)-4-(2-(2-((3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxipirrolidín-1-il)metil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2,2'-dimetil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico



Se preparó este compuesto utilizando procedimientos similares a los descritos para el *Ejemplo 1*, con 2-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina (Combi-Blocks, n.º de cat. PN-9127) en lugar de 2-cloro-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina (*Etapa 4*) y (*S*)-pirrolidín-3-ol en lugar de (*R*)-pirrolidín-3-ol (*Etapa 1*). La mezcla de reacción se diluyó en la última etapa con MeOH y luego se purificó mediante HPLC preparativa (pH = 2, acetonitrilo/agua+TFA) para proporcionar el producto deseado como una sal de TFA. LC-MS calculada para C₄₅H₅₂F₂N₉O₄ (M+H)⁺: m/z = 820,4; hallado 820,4.

Ejemplo 16. Ácido (S)-4-(2-(2-((3'-((2-(difluorometil)-7-((3-hidroxi-3-metilpirrolidin-1-il)metil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)amino)-2,2'-dimetil-[1,1'-bifenil]-3-il)carbamoil)-1-metil-1,4,6,7-tetrahidro-5H-imidazo[4,5-c]piridin-5-il)etil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico



Se preparó este compuesto utilizando procedimientos similares a los descritos para el *Ejemplo 1*, con *2-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina* (Combi-Blocks, n.º de cat. PN-9127) en lugar de *2-cloro-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)anilina* (*Etapa 4*) y *(S)-3-metilpirrolidin-3-ol* en lugar de *(R)-pirrolidin-3-ol* (*Etapa 1*). La mezcla de reacción se diluyó en la última etapa con MeOH y luego se purificó mediante HPLC preparativa (pH = 2, acetonitrilo/agua+TFA) para proporcionar el producto deseado como una sal de TFA. LC-MS calculada para $C_{46}H_{54}F_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 834,4; hallado 834,4.

Ejemplo A. Ensayo de unión PD-1/PD-L1 de fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo (HTRF)

Los ensayos se llevaron a cabo en una placa negra de poliestireno de 384 pocillos estándar con un volumen final de 20 µL. Los inhibidores primero se diluyeron en serie en DMSO y luego se añadieron a los pocillos de la placa antes de la adición de otros componentes de reacción. La concentración final de DMSO en el ensayo fue de 1 %. Los ensayos se llevaron a cabo a 25 °C en la solución amortiguadora de PBS (pH 7,4) con Tween-20 al 0,05 % y BSA al 0,1 %. La proteína PD-L1 humana recombinante (19-238) con una etiqueta de His en el extremo C se adquirió a través de AcroBiosystems (PD1-H5229). La proteína PD-1 humana recombinante (25-167) con una etiqueta de Fc en el extremo C también se adquirió a través de AcroBiosystems (PD1-H5257). Las proteínas PD-1 y PD-L1 se diluyeron en la solución amortiguadora del ensayo y se añadieron 10 µL al pocillo de la placa. Las placas se centrifugaron y las proteínas se incubaron previamente con inhibidores durante 40 minutos. La incubación fue sucedida por la adición de 10 µL de solución amortiguadora de detección de HTRF complementada con IgG antihumana marcada con criptato de europio (PerkinElmer-AD0212) específica para el anticuerpo anti-His y Fc conjugado con Aloficocianina SureLight® (APC, PerkinElmer-AD0059H). Después de la centrifugación, la placa se incubó a 25 °C durante 60 minutos antes de someterla a

una lectura en un lector de placas PHERAstar FS (relación 665 nm/620 nm). Las concentraciones finales del ensayo fueron - PD1 3 nM, PD-L1 10 nM, IgG antihumana con europio 1 nM y anti-His-aloficocianina 20 nM. Se realizó la determinación de IC₅₀ mediante el ajuste de la curva del porcentaje de actividad de control en función del logaritmo de la concentración del inhibidor utilizando el software GraphPad Prism 5.0.

Ejemplo B. Ensayo de fosfatasa que contiene dominio de homología Src de región 2 (SHP)

Se mantuvieron células U2OS/PD-L1 (DiscoverX Corporation) en medio de McCoy 5A con agregado de FBS al 10 %, 0,25 µg/mL de puomicina. Después de extraer el medio de cultivo, se reemplazó el medio celular con medio de ensayo (medio RPMI1640 con FBS al 1 %). Después se agregaron las células U2OS/PD-L1 en una placa de ensayo de fondo transparente negra de 384 pocillos (CELLCOAT® Tissue Culture Plates, Greiner Bio-One) a 5000 células por pocillo en 20 µL de medio de ensayo. Se prepararon los compuestos de prueba mediante dilución en serie en DMSO y se transfirieron primero 125 nL de compuesto al pocillo de la placa 384 REMP (Thermofisher) mediante ECHO liquid handler (Labcyte) seguido del agregado de 27,5 µL de medio de ensayo. 5 µL/pocillo de compuestos en el medio de ensayo se transfirieron a la placa celular con DMSO al 0,05 % en el ensayo final a 0,25 µM. Se cultivaron células Jurkat-PD-1-SHP (DiscoverX Corporation) en medio RPMI1640 complementado con FBS al 10 %, 250 µg/mL de higromicina B, 500 µg/mL de G418. Después del reemplazo de los medios de cultivo con medio de ensayo, se dispensaron 5,000 células Jurkat-PD-1-SHP en 20 µL en cada pocillo. Se incubó la placa de ensayo a 37 °C, CO₂ al 5 % durante 2 horas antes de agregar 2,5 µL de reactivo 1 PathHunter (DiscoverX Corporation) a cada pocillo. Se agitó la placa de ensayo durante 1 min a 350 rpm en la oscuridad, seguido del agregado de 10 µL de reactivo 2 PathHunter (DiscoverX Corporation). Se registró la señal quimioluminiscente con un lector TopCount (Perkin Elmer) después de la incubación a temperatura ambiente durante 1 hora. Los pocillos con DMSO actuaron como los controles positivos y los pocillos que no contenían células se utilizaron como controles negativos. Se realizó la determinación de IC₅₀ mediante el ajuste de la curva del porcentaje de actividad de control en función del logaritmo de la concentración del compuesto mediante el uso del software GraphPad Prism 6.0.

Ejemplo C. Ensayo de factor nuclear de linfocitos T activados (NFAT)

Las células PD-L1 aAPC/CHO-K1 (Promega) se mantuvieron en medio F-12 con agregado de FBS al 10 %, 200 µg/mL de higromicina B, 250 µg/mL de geneticina (G418). Se cultivaron células efectoras Jurkat-PD-1-NFAT (Promega) en medio RPMI 1640

complementado con FBS al 10 %, 100 µg/mL de higromicina B, 500 µg/ml de G418. El medio de cultivo de las células PD-L1 aAPC/CHO-K1 se reemplazó en primer lugar por medio de ensayo (medio RPMI1640 con FBS al 1 %). Después se agregaron las células PD-L1 aAPC/CHO-K1 en una placa de ensayo de fondo transparente blanca de 384 pocillos (CELLCOAT® Tissue Culture Plates, Greiner Bio-One) a 8000 por pocillo en 10 µL de medio de ensayo. Se prepararon compuestos de prueba mediante dilución en serie en DMSO y se transfirieron primero 0,8 µL de compuestos de prueba en DMSO al pocillo de la placa 384 REMP (Thermofisher) mediante PlateMate Plus (Thermofisher) seguido del agregado de 50 µL de medio de placa. 5 µL de compuestos en el medio de ensayo se transfirieron a las células con DMSO al 0,4 % en el ensayo final a 2 µM. Después de extraer el medio de cultivo, se dispensaron 10,000 células efectoras Jurkat-PD-1-NFAT en 5 µL de medio de ensayo en cada pocillo. Se incubó la placa de ensayo a 37 °C, CO₂ al 5 % durante 24 horas. Después de equilibrar la placa de ensayo a temperatura ambiente durante 15 minutos, se agregaron 20 µL/pocillo de reactivo Bio-Glo™ (Promega). Después de 8 minutos de incubación a temperatura ambiente, se leyó la luminiscencia con un lector de microplacas Pherastar (BMG Labtech). Se calculó el grado de inducción (FOI, por sus siglas en inglés) en función de la proporción de luminiscencia normalizada a los pocillos de DMSO dentro de cada placa de ensayo. Se informó el porcentaje máximo de inducción en función de la proporción entre el mayor FOI de cada compuesto y el FOI máximo del compuesto de control dentro de cada placa de ensayo. Los pocillos con DMSO actuaron como los controles negativos y los pocillos que contenían compuesto de control con mayor FOI se utilizaron como controles positivos. Se realizó la determinación de EC₅₀ mediante el ajuste de la curva del porcentaje de actividad de control en función del logaritmo de la concentración del compuesto mediante el uso del software GraphPad Prism 6.0.

25

Ejemplo D. Ensayo de internalización de sangre completa de PD-L1

Para determinar la internalización de PD-L1 en sangre completa humana, se incubó sangre humana normal (Biological Specialty Corp, Colmar. PA) en presencia o ausencia de un intervalo de concentración de compuestos de prueba y 1 ng/mL de interferón γ humano (R & D Systems Inc. Minn. MN) en un “bloque de ensayo de 2mL” de 96 pocillos (Corning, Corning NY) durante 18-20 horas a 37 °C. Luego se tiñó la sangre con PD-L1 (MIH1, eBioscience; o BD Biosciences San Jose, CA), CD14 (Life Technologies, Carlsbad, CA) durante 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Se lisó/fijó sangre entera/glóbulos rojos (amortiguador de lisis BD Biosciences) durante 5 minutos a 37 °C en la oscuridad y después se centrifugaron a 1600 RPM durante 5 minutos. Se resuspendieron las células en Stain Buffer (BD Bioscience, San Jose, CA) y se transfirieron a placas de

fondo redondo de 96 pocillos (Corning). Se seleccionaron las células en CD14+ (BD Biosciences) y se determinó la expresión de PD-L1 mediante intensidad de fluorescencia media (MFI) (BD LSRFortessa™ X-20). Se realizó la determinación de IC₅₀ mediante el ajuste de la curva de porcentaje de inhibición de compuesto en función del logaritmo de la concentración del compuesto mediante el uso del software GraphPad Prism 7.0.

Ejemplo E. Farmacocinética in vivo en ratas y monos

Para los experimentos de farmacocinética in vivo, se administraron compuestos de prueba a ratas Sprague Dawley macho o monos Cynomolgus macho y hembra por vía intravenosa o mediante sonda oral. Para la dosificación intravenosa (IV), se dosificaron compuestos de prueba a 0,5 a 1 mg/kg utilizando una formulación de dimetilacetamida al 10 % (DMAC) en solución salina acidificada mediante bolo IV para rata e infusión IV de 5 min o 10 min para mono. Para la dosificación oral (PO), se dosificaron los compuestos de prueba a 1,0 a 3,0 mg/kg utilizando DMAC al 5 % en metilcelulosa al 0,5 % en amortiguador de citrato (pH 3,5). Se recogieron muestras de sangre antes de la dosis y en diversos puntos temporales hasta 24 horas después de la dosis. Se recogieron todas las muestras de sangre utilizando EDTA como el anticoagulante y se centrifugaron para obtener muestras de plasma. Las concentraciones en plasma de los compuestos de prueba se determinaron mediante métodos de LC-MS. Las concentraciones de plasma medidas se utilizaron para calcular los parámetros PK mediante métodos normalizados no compartimentados utilizando el programa del software Phoenix® WinNonlin (versión 7.0, Pharsight Corporation).

En ratas y monos, se realizó la dosificación en casete de los compuestos de prueba para obtener los parámetros PK preliminares.

Se pueden realizar experimentos farmacocinéticos in vivo con perros beagle macho en las condiciones descritas anteriormente.

Resultados de los ejemplos A-E para los compuestos de los Ejemplos

Los compuestos de los Ejemplos se evaluaron en cada uno del ensayo de unión HTRF PD-1/PD-L1 (Ejemplo A), ensayo SHP (Ejemplo B), ensayo NFAT (Ejemplo C) y ensayo de internalización de sangre completa, 24 horas (Ejemplo D).

Los resultados para los compuestos de los Ejemplos 1, 2 y 9 se muestran en la Tabla 1. Los resultados para los compuestos de los Ejemplos 3, 4, 7 y 14 se muestran en la Tabla 2. Los resultados para los compuestos de los Ejemplos 5 y 6 se muestran en Tabla 3. Los resultados para los compuestos de los Ejemplos 8, 10, 11 y 13 se muestran en la

Tabla 4. Los resultados para los compuestos de los Ejemplos 12, 15 y 16 se muestran en la Tabla 5. "nt" significa que no se probó.

Tabla 1

Ejemplo	Unión HTRF IC ₅₀ (nM)	NFAT EC ₅₀ (nM)	SHP IC ₅₀ (nM)	Sangre completa IC ₅₀ (nM)
1	2,2	2	3	7,9
2	1,5	4	3,9	8
9	1,7	3	4	6,4

Tabla 2

Ejemplo	Unión HTRF IC ₅₀ (nM)	NFAT EC ₅₀ (nM)	SHP IC ₅₀ (nM)	Sangre completa IC ₅₀ (nM)
3	1,5	4	2,5	18
4	1,9	4	3,5	17
7	1,5	4	2,2	16
14	1,7	3	3	20

Tabla 3

Ejemplo	Unión HTRF IC ₅₀ (nM)	NFAT EC ₅₀ (nM)	SHP IC ₅₀ (nM)	Sangre completa IC ₅₀ (nM)
5	2,1	9,2	4	60
6	nt	8,2	2,2	31

Tabla 4

Ejemplo	Unión HTRF IC ₅₀ (nM)	NFAT EC ₅₀ (nM)	SHP IC ₅₀ (nM)	Sangre completa IC ₅₀ (nM)
8	1,5	7	4	33
10	1,5	4	4	35
11	1,5	5	3	27
13	1,8	3	3	24

Tabla 5

Ejemplo	Unión HTRF IC ₅₀ (nM)	NFAT EC ₅₀ (nM)	SHP IC ₅₀ (nM)	Sangre completa IC ₅₀ (nM)
12	1,5	41	3	30
15	1,5	9	2,9	57
16	1,7	6	2,4	53

También se evaluó la farmacocinética de determinados compuestos de los Ejemplos en ratas o monos en las condiciones mostradas en el Ejemplo E (ver las Tablas 6 y 7). Las tablas 6 y 7 muestran el volumen aparente de distribución en estado estacionario (V_{ss}), la eliminación corporal total aparente del fármaco del plasma (CI), la vida media de eliminación ($t_{1/2}$), concentración plasmática máxima (pico) (C_{max}), área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo desde el tiempo cero hasta el infinito (AUC_{0-inf}) y biodisponibilidad (F). En la Tabla 6 y la Tabla 7, los resultados son de estudios de dosificación en casete: V_{ss} , CI y $t_{1/2}$ se basan en 1,0 mg/kg IV y C_{max} , AUC_{0-inf} y F se basan en 3,0 mg/kg PO.

Tabla 6: Resultados farmacocinéticos de ratas in vivo

Ejemplo	V_{ss} (L/kg)	CI (L/h/kg)	$t_{1/2}$ (h)	C_{max} (nM)	AUC_{0-inf} (nM*h)	F (%)
1	1,75	0,369	4,4	166	1400	14
2	2,63	0,471	4,4	111	1070	14
5	1,63	0,416	3,9	241	1650	19
6	2,99	0,764	4,5	182	1430	30

Tabla 7: Resultados farmacocinéticos de mono Cynomolgus in vivo

Ejemplo	V_{ss} (L/kg)	CI (L/h/kg)	$t_{1/2}$ (h)	C_{max} (nM)	AUC_{0-inf} (nM*h)	F (%)
1	1,01	0,255	6,35	794	8240	59
2	1,36	0,287	6,23	579	6840	57
5	1,14	0,296	8,48	1300	11100	89

Los compuestos de la publicación de patente estadounidense No. 20180179202 ('202) también se probaron en los ensayos de los Ejemplos A, B, C y D (ver Tabla A1; los números de Ejemplo hacen referencia a la descripción '202). También se evaluó la

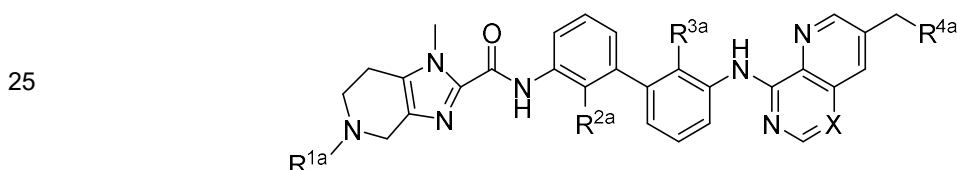
farmacocinética de algunos de los Compuesto en ratas (PO a 3,0 mg/kg) en las condiciones mostradas en el Ejemplo E (ver la Tabla A2). En la Tabla A2, los resultados son de estudios de dosificación en casete: V_{ss} , Cl y $t_{1/2}$ se basan en 1,0 mg/kg IV y C_{max} , AUC_{0-inf} y F se basan en 3,0 mg/kg PO.

5 Los compuestos de la publicación de patente estadounidense No. 20180177870 ('870) también se probaron en los ensayos de los Ejemplos A, B, C y D (ver Tabla A3; los números de Ejemplo hacen referencia a la descripción '870). También se evaluó la farmacocinética de algunos de los Compuesto en ratas (PO a 3,0 mg/kg) en las condiciones mostradas en el Ejemplo E (ver la Tabla A4). En la Tabla A4, los resultados
10 son de estudios de dosificación en casete: V_{ss} , Cl y $t_{1/2}$ se basan en 1,0 mg/kg IV y C_{max} , AUC_{0-inf} y F se basan en 3,0 mg/kg PO.

Los compuestos de la publicación de patente estadounidense No. 20180179197 ('197) también se probaron en los ensayos de los Ejemplos A, B, C y D (ver Tabla A5; los números de Ejemplo hacen referencia a la descripción '197). También se evaluó la
15 farmacocinética de algunos de los Compuesto en ratas (PO a 3,0 mg/kg) en las condiciones mostradas en el Ejemplo E (ver la Tabla A6). En la Tabla A6, los resultados son de estudios de dosificación en casete: V_{ss} , Cl y $t_{1/2}$ se basan en 1,0 mg/kg IV y C_{max} , AUC_{0-inf} y F se basan en 3,0 mg/kg PO.

Las descripciones de las publicaciones de patente de estadounidenses n.º
20 20180179202, 20180177870 y 20180179197 se incorporan a la presente mediante referencia en sus totalidades.

Tabla A1



30

Ej.	X	R ^{1a}	R ^{2a}	R ^{3a}	R ^{4a}	Unión HTRF IC ₅₀ (nM)	NFAT EC ₅₀ (nM)	SHP IC ₅₀ (nM)	Sangre completa IC ₅₀ (nM)
47	CH		Cl	Me		1,7	45	6,2	149
48	CH		Cl	Me		2	18	5,6	85

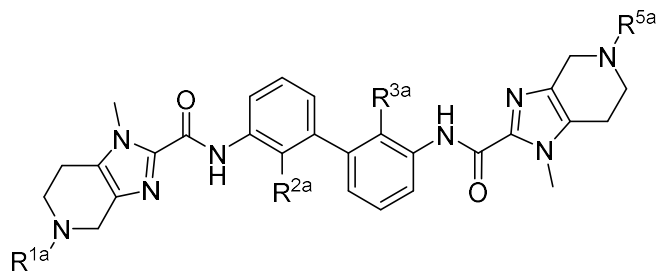
	Ej.	X	R ^{1a}	R ^{2a}	R ^{3a}	R ^{4a}	Unión HTRF IC ₅₀ (nM)	NFAT EC ₅₀ (nM)	SHP IC ₅₀ (nM)	Sangre completa IC ₅₀ (nM)
5	49	CH		Cl	Me		1,5	43	5,5	196
	51	CH		Cl	Me		1,5	138	5,4	471
10	52	CH		Cl	Me		2,7	15	5,1	67
	53	CH		Cl	Me		2,5	26	6,9	92
	55	CH		Cl	Me		2,1	35	14	93
15	56	CH		Cl	Me		1,8	21	6,7	65
	61	CH		Cl	Me		2,2	24	6	90
	63	CH		Me	Me		2,5	27	5,3	116
20	65	CH		Cl	Cl		1,8	18	6,7	98
	66	CH		Me	Cl		<1,5	23	5,7	84
25	69	N		Cl	Me		2,5	37	2,5	169

Tabla A2

	Ejemplo	V _{ss} (L/kg)	Cl (L/h/kg)	t _{1/2} (h)	C _{max} (nM)	AUC _{0-inf} (nM*h)	F (%)
30	47	8,99	2,47	5,79	38	309	20
	48	3,73	1,39	2,78	61	412	14
	52	3,82	1,50	2,55	29	205	7

Tabla A3

5



10

15

20

25

30

Ej.	R ^{1a}	R ^{2a}	R ^{3a}	R ^{5a}	Unión HTRF IC ₅₀ (nM)	NFAT EC ₅₀ (nM)	SHP IC ₅₀ (nM)	Sangre completa IC ₅₀ (nM)
84		Cl	Cl	Me	8,3	47	6,9	97
102		Me	Cl	Me	2,4	76	4,9	149
119		Cl	Me	Me	3,4	82	4,9	178
176		Cl	Cl	Et	2,9	122	17	732
177		Cl	Cl	iPr	1,5	31	5,7	185
178		Cl	Cl		1,9	82	13	587
179		Cl	Cl		18	709	61	nt
180		Cl	Cl	-CH ₂ CH ₂ OH	1,5	30	4,4	166
181		Cl	Cl		1,6	41	6,1	161
182		Cl	Cl		1,7	30	4,4	92
183		Cl	Cl		1,8	18	5,6	49

Tabla A4

Ejemplo	V _{ss} (L/kg)	Cl (L/h/kg)	t _{1/2} (h)	C _{max} (nM)	AUC _{0-inf} (nM*h)	F (%)
84	2,45	0,99	3,47	234	1200	28
102	1,96	1,14	1,90	398	1500	39
180	2,48	1,57	2,21	231	956	38

Tabla A5

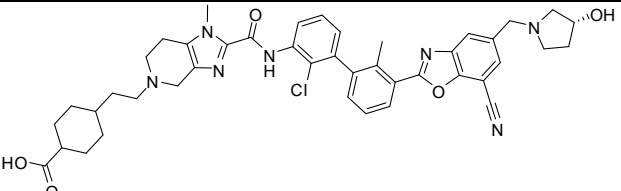
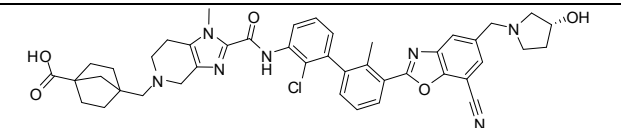
Ej.	Estructura	Unión HTRF IC ₅₀ (nM)	NFAT EC ₅₀ (nM)	SHP IC ₅₀ (nM)	Sangre completa IC ₅₀ (nM)
265		2,3	15	4,9	62
267		2,3	39	7,8	121

Tabla A6

Ejemplo	V _{ss} (L/kg)	Cl (L/h/kg)	t _{1/2} (h)	C _{max} (nM)	AUC _{0-inf} (nM*h)	F (%)
265	4,45	3,82	-	57	398	8
267	2,22	-	3,28	108	687	12

Diversas modificaciones de la invención, además de las descritas en la presente, resultarán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción que antecede. También se pretende que dichas modificaciones se encuentren dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Cada referencia, lo cual incluye, de modo no taxativo, todas las patentes, solicitudes de patentes y publicaciones, mencionada en la presente solicitud se incorpora en su totalidad a la presente mediante referencia.