

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 989 813**

51 Int. Cl.:

C07K 7/56	(2006.01) A61K 39/00	(2006.01)
A61P 35/00	(2006.01)	
A61K 39/39	(2006.01)	
A61K 45/00	(2006.01)	
A61P 31/00	(2006.01)	
A61P 31/12	(2006.01)	
A61P 37/04	(2006.01)	
C07D 513/14	(2006.01)	
C07D 519/00	(2006.01)	
A61K 38/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.10.2021 PCT/US2021/054132**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.04.2022 WO22076794**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.10.2021 E 21802869 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2024 EP 4225775**

54 Título: **Inmunomoduladores MILLA diméricos**

30 Prioridad:

08.10.2020 US 202063089280 P

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

27.11.2024

73 Titular/es:

**BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (100.0%)
Route 206 and Province Line Road
Princeton, NJ 08543, US**

72 Inventor/es:

WANG, TAO

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 989 813 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Inmunomoduladores MILLA diméricos

5 **Campo**

La presente divulgación proporciona compuestos macrocíclicos que se unen a PD-L1 y son capaces de inhibir la interacción de PD-L1 con PD-1 y CD80. Estos compuestos macrocíclicos exhiben eficacia inmunomoduladora *in vitro* haciéndolos de esta manera candidatos terapéuticos para el tratamiento de diversas enfermedades incluyendo cáncer y enfermedades infecciosas.

Antecedentes

La proteína Muerte programada 1 (PD-1) es un miembro inhibidor de la familia de receptores CD28, que también incluye CD28, CTLA-4, ICOS y BTLA. PD-1 se expresa en células B activadas, células T y células mieloides.

La proteína PD-1 es una proteína transmembrana de tipo I de 55 kDa que es parte de la superfamilia de genes Ig. PD-1 contiene un motivo inhibidor de tirosina del inmunorreceptor proximal de membrana (ITIM) y un motivo de interruptor basado en tirosina distal de membrana. Aunque estructuralmente similar a CTLA-4, PD-1 carece del motivo MYPPY que es crítico para la unión a CD80 CD86 (B7-2). Se han identificado dos ligandos para PD-1, PD-L1 (B7-H1) y PD-L2 (b7-DC). Se ha demostrado que la activación de células T que expresan PD-1 está regulada negativamente tras la interacción con células que expresan PD-L1 o PD-L2. Tanto PD-L1 como PD-L2 son miembros de la familia de proteínas B7 que se unen a PD-1, pero no se unen a otros miembros de la familia de CD28. El ligando PD-L1 es abundante en una diversidad de cánceres humanos. La interacción entre PD-1 y PD-L1 da como resultado una disminución de linfocitos infiltrantes de tumores, una disminución en la proliferación mediada por receptores de células T y evasión inmunitaria por las células cancerosas. La supresión inmunitaria puede invertirse inhibiendo la interacción local de PD-1 con PD-L1 y el efecto es aditivo cuando la interacción de PD-1 con PD-L2 también se bloquea.

También se ha demostrado que PD-L1 interactúa con CD80. Se ha demostrado que la interacción de PD-L1/CD80 sobre la expresión de las células inmunitarias es inhibitoria. Se ha demostrado que el bloqueo de esta interacción anula esta interacción inhibitoria.

Cuando las células T que expresan PD-1 entran en contacto con células que expresan sus ligandos, las actividades funcionales en respuesta a estímulos antigénicos, incluyendo proliferación, secreción de citocinas y citotoxicidad, se reducen. Las interacciones PD-1/PD-L1 o PD-L2 regulan negativamente las respuestas inmunitarias durante la resolución de una infección o tumor, o durante el desarrollo de auto. La estimulación antigénica crónica, tal como la que se produce durante enfermedad tumoral o infecciones crónicas, da como resultado células T que expresan niveles elevados de PD-1 y son disfuncionales hacia la actividad hacia el antígeno crónico. Esto se denomina "agotamiento de células T". Las células B también muestran la supresión de PD-1/PD-ligando y "agotamiento".

Se ha demostrado que el bloqueo de la ligación PD-1/PD-L1 usando anticuerpos contra PD-L1 restaura y aumenta la activación de las células T en muchos sistemas. Los pacientes con cáncer avanzado se benefician de la terapia con un anticuerpo monoclonal contra PD-L1. Los modelos animales preclínicos de tumores e infecciones crónicas han demostrado que el bloqueo de la ruta PD-1/PD-L1 mediante anticuerpos monoclonales puede mejorar una respuesta inmunitaria y dar como resultado rechazo del tumor o control de la infección. La inmunoterapia antitumoral a través del bloqueo PD-1/PD-L1 puede aumentar la respuesta inmunitaria terapéutica a diversos tumores histológicamente distintos.

La interferencia con la interacción PD-1/PD-L1 provoca una actividad mejorada de células T en sistemas con infección crónica. El bloqueo de PD-L1 provocó un aclaramiento vírico mejorado y una inmunidad restaurada en ratones con infección por virus de coriomeningitis linfocítica crónica. Los ratones humanizados infectados con VIH-1 muestran una protección mejorada contra la viremia y el agotamiento vírico de células T de CD4+. El bloqueo de PD-1/PD-L1 a través de anticuerpos monoclonales contra PD-L1 puede restaurar la funcionalidad específica de antígeno *in vitro* en células T de pacientes con VIH.

También se ha demostrado que el bloqueo de la interacción PD-L1/CD80 estimula la inmunidad. Se ha demostrado que la inmunoestimulación resultante del bloqueo de la interacción PD-L1/CD80 mejora mediante un bloqueo combinado de interacciones PD-1/PD-L1 o PD-1/PD-L2 adicionales.

Se supone que las alteraciones en los fenotipos de las células inmunitarias son un factor importante en el choque séptico. Estas incluyen niveles elevados de PD-1 y PD-L1. Las células de pacientes con choque séptico con niveles aumentados de PD-1 y PD-L1 exhiben un nivel aumentado de apoptosis de células T. Los anticuerpos dirigidos a PD-L1, pueden reducir el nivel de apoptosis de las células inmunitarias. Adicionalmente, los ratones que carecen de expresión de PD-1 son más resistentes a los síntomas de choque séptico que los ratones de tipo silvestre. Los estudios han revelado que el bloqueo de interacciones de PD-L1 usando anticuerpos puede suprimir las respuestas inmunitarias inapropiadas y mejorar los signos de la enfermedad.

Además de mejorar las respuestas inmunológicas a los antígenos crónicos, también se ha demostrado que el bloqueo de la ruta PD-1/PD-L1 mejora las respuestas a la vacunación, incluyendo la vacunación terapéutica en el contexto de infección crónica.

5 La ruta PD-1 es una molécula inhibidora clave en el agotamiento de las células T que surge de la estimulación crónica del antígeno durante las infecciones crónicas y las enfermedades tumorales. Se ha demostrado que el bloqueo de la interacción PD-1/PD-L1 a través del direccionamiento a la proteína PD-L1 restaura las funciones inmunitarias de las células T específicas de antígeno *in vitro* e *in vivo*, incluyendo respuestas mejoradas a la vacunación en el establecimiento de una infección tumoral o crónica.

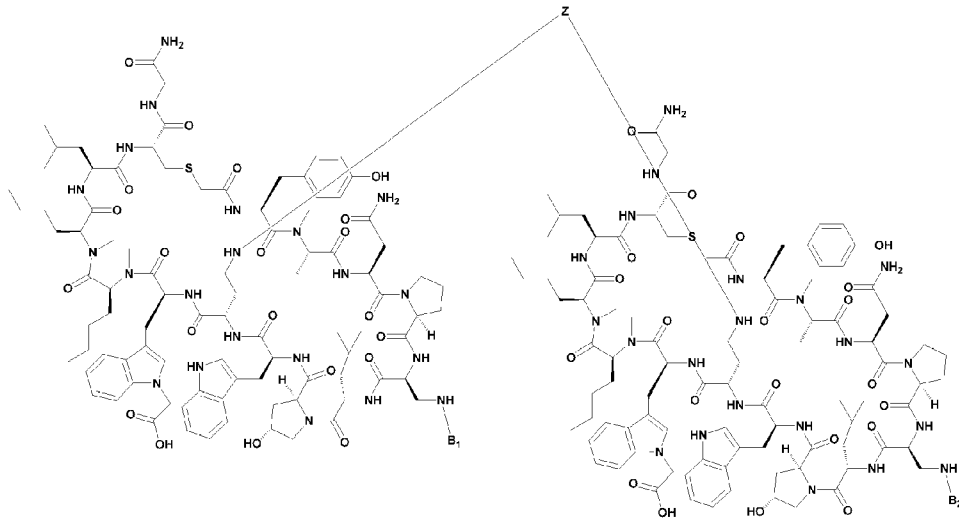
10 El documento WO 2014/151634 A1 divulga compuestos macrocíclicos que se unen a PD-L1 y son capaces de inhibir la interacción de PD-L1 con PD-1 y CD80. Los compuestos macrocíclicos muestran una eficacia inmunomoduladora *in vitro*, lo que los convierte en candidatos terapéuticos para el tratamiento de diversas enfermedades, incluyendo el cáncer y las enfermedades infecciosas.

15 En consecuencia, se desean agentes que bloqueen la interacción de PD-L1 con cualquiera de PD-1 o CD80.

Sumario

20 La presente divulgación proporciona compuestos macrocíclicos que inhiben la interacción proteína/proteína PD-1/PD-L1 y CD80/PD-L1 y, por lo tanto, son útiles para la mejora de diversas enfermedades, incluyendo cáncer y enfermedades infecciosas.

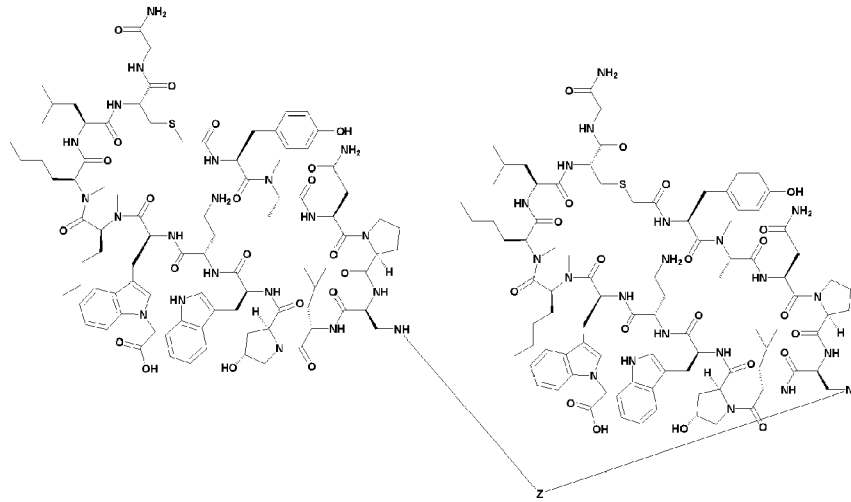
25 En un primer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I)



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Z es un enlazador.

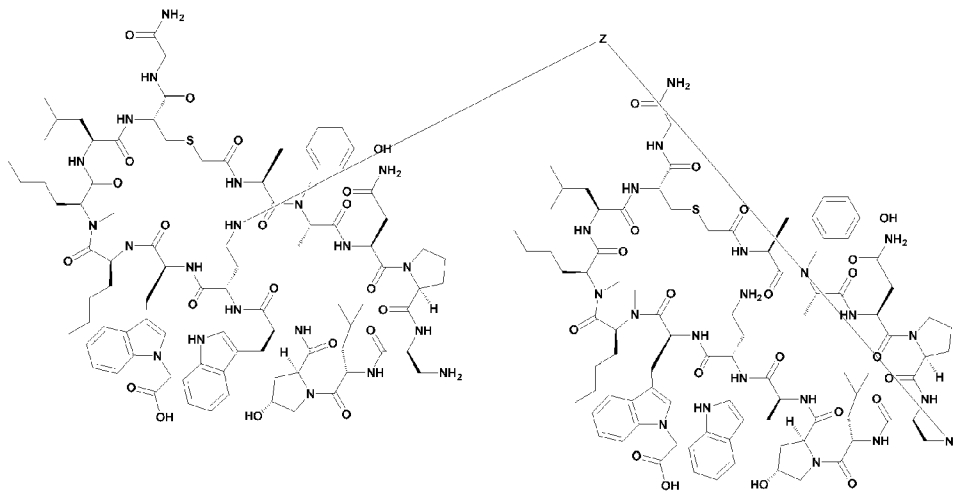
30 En un segundo aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (II)



(II)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Z es un enlazador.

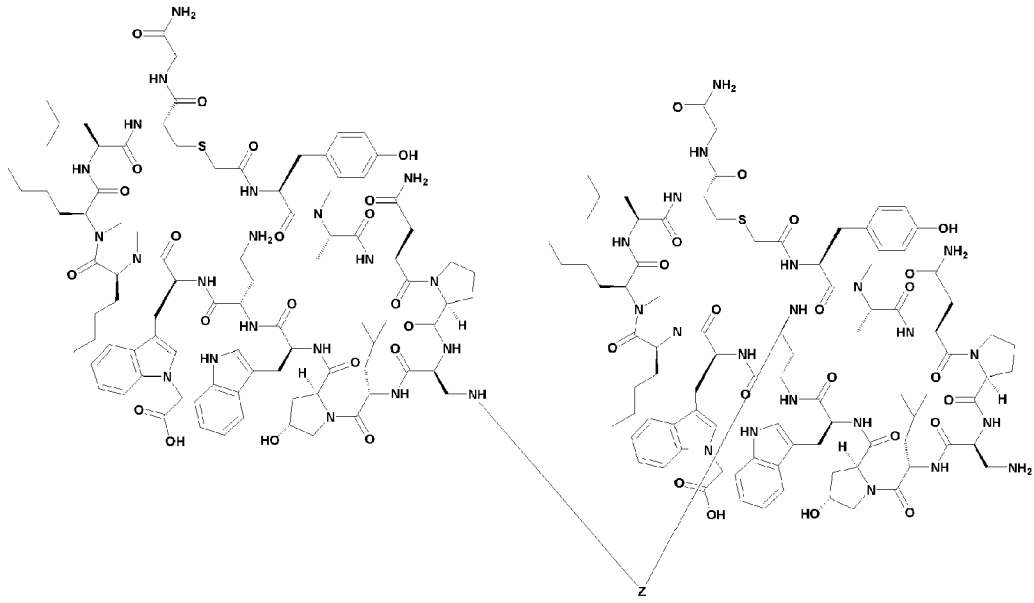
- 5 En un tercer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (III)



(III)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Z es un enlazador.

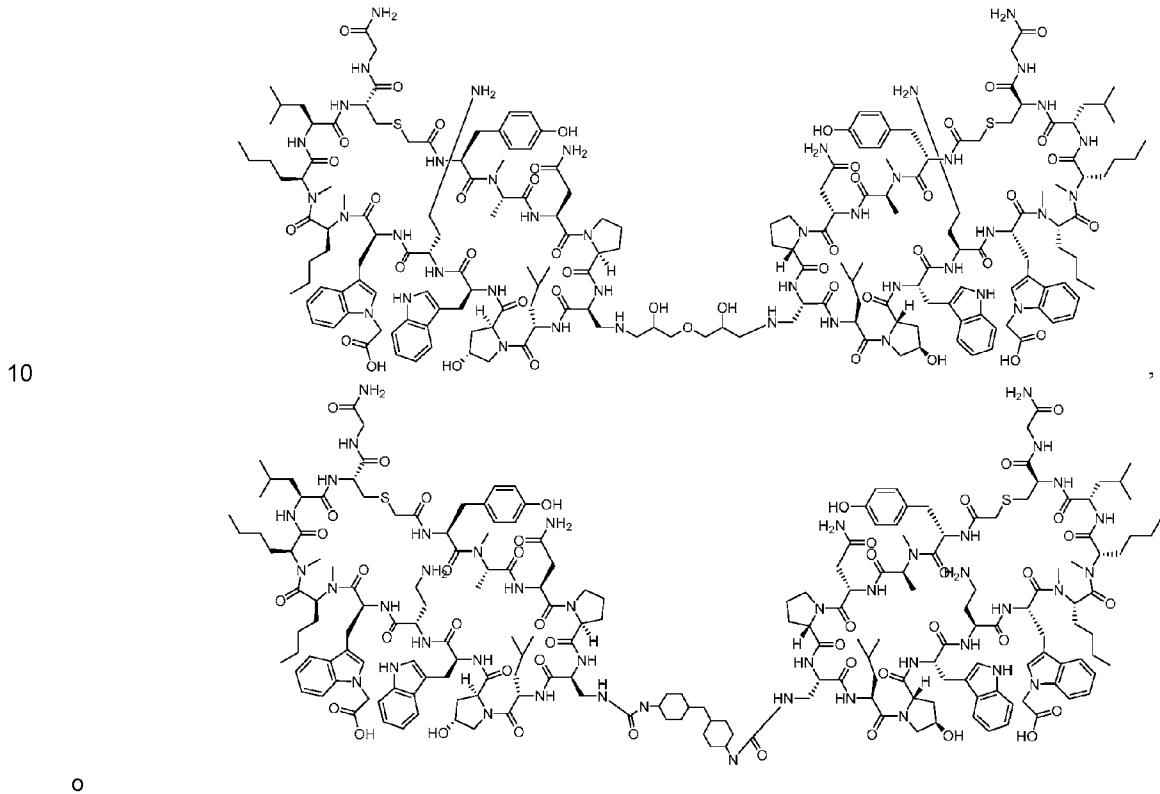
- 10 En un cuarto aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (IV)

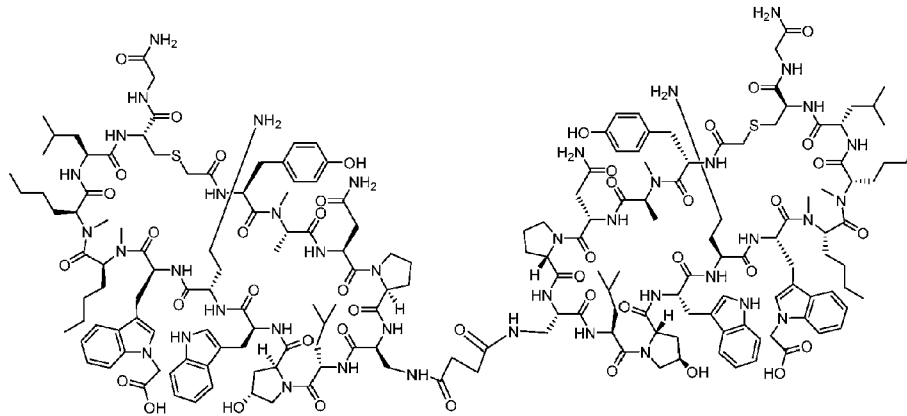


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Z es un enlazador.

- 5 El enlazador es una cadena de 3 o más átomos de carbono unidos a un -NH- ubicado como se muestra. El enlazador puede incluir varios grupos funcionales, tales como se muestra en los compuestos ilustrados.

En un quinto aspecto, la presente divulgación proporciona los siguientes compuestos de la invención





En una realización, la presente divulgación proporciona un compuesto seleccionado de los ejemplos ilustrados dentro del alcance del primer aspecto, o una sal, un tautómero o un estereoisómero farmacéuticamente aceptables del mismo.

5 En otra realización, se proporciona un compuesto seleccionado de cualquier lista de subconjunto de compuestos dentro del alcance del primer aspecto.

10 En un segundo aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto para su uso en un método para la mejora, estimulación y/o aumento de una respuesta inmunitaria en un sujeto que lo necesite, en donde el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 En un tercer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto para su uso en un método para el bloqueo de la interacción de PD-L1 con PD-1 y/o CD80 en un sujeto, en donde el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 En un cuarto aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto para su uso en un método para la mejora, estimulación y/o aumento de una respuesta inmunitaria en un sujeto que lo necesite, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una primera realización del segundo aspecto, el método comprende además administrar un agente adicional antes, después de o simultáneamente con el compuesto de fórmula (I), el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una segunda realización el agente adicional se selecciona de un agente antimicrobiano, un agente antivírico, un agente citotóxico, un agonista de TLR7, un agonista de TLR8, un inhibidor de HDAC y un modificador de la respuesta inmunitaria.

30 En un quinto aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto para su uso en un método para la inhibición del crecimiento, la proliferación o la metástasis de células cancerosas en un sujeto que lo necesite, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una primera realización del tercer aspecto el cáncer se selecciona de melanoma, carcinoma de células renales, cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC, por sus siglas en inglés) escamoso, NSCLC no escamoso, cáncer colorrectal, cáncer de próstata resistente a castración, cáncer de ovario, cáncer gástrico, carcinoma hepatocelular, carcinoma pancreático, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinomas del esófago, tracto gastrointestinal y mama y neoplasias malignas hematológicas.

40 En un sexto aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad infecciosa en un sujeto que lo necesite, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una primera realización del cuarto aspecto la enfermedad infecciosa está provocada por un virus. En una segunda realización el virus se selecciona de VIH, Hepatitis A, Hepatitis B, Hepatitis C, virus del herpes y gripe.

45 En un séptimo aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto para su uso en un método para el tratamiento del choque séptico en un sujeto que lo necesite, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

50 En un octavo aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto para su uso en un método para el bloqueo de la interacción de PD-L1 con PD-1 y/o CD80 en un sujeto, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Descripción detallada

Salvo que se indique lo contrario, se supone que cualquier valencia no satisfecha tiene átomos de hidrógeno suficientes para satisfacer las valencias.

5 Las formas en singular "uno", "una" y "el/la" incluyen las referencias en plural a menos que el contexto dicte lo contrario.

10 Como se usa en el presente documento, el término "o" es una disyunción lógica (es decir, y/o) y no indica una disyunción exclusiva a menos que se indique expresamente tal como con los términos "cualquiera", "salvo que", "como alternativa", y palabras de efecto similar.

15 El término "alquilo" como se usa en el presente documento, se refiere tanto a grupos hidrocarburo ramificados como de cadena recta alifáticos saturados, que contienen, por ejemplo, de 1 a 12 átomos de carbono, de 1 a 6 átomos de carbono y de 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero sin limitación, metilo (Me), etilo (Et), propilo (por ejemplo, n-propilo e i-propilo), butilo (por ejemplo, n-butilo, i-butilo, sec-butilo y t-butilo), y pentilo (por ejemplo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo), n-hexilo, 2-metilpentilo, 2-etilbutilo, 3-metilpentilo y 4-metilpentilo. Cuando aparecen números en un subíndice después del símbolo "C", el subíndice define con más especificidad el número de átomos de carbono que puede contener un grupo particular. Por ejemplo, "alquilo C₁₋₄" representa grupos alquilo de cadena lineal y ramificada con uno a cuatro átomos de carbono.

20 El término "cicloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo obtenido a partir de una molécula de hidrocarburo monocíclico o policíclico, no aromático, mediante la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono de un anillo saturado. Los ejemplos representativos de grupos cicloalquilo incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclopentilo y ciclohexilo. Cuando aparecen números en un subíndice después del símbolo "C", el subíndice define con más especificidad el número de átomos de carbono que puede contener un grupo cicloalquilo particular. Por ejemplo, "cicloalquilo C₃₋₆" representa grupos cicloalquilo con tres a seis átomos de carbono.

25 El término "hidroxialquilo" incluye grupos alquilo de cadena tanto ramificada como lineal, sustituidos con uno o más grupos hidroxilo. Por ejemplo, "hidroxialquilo" incluye -CH₂OH, -CH₂CH₂OH e hidroxialquilo C₁₋₄.

30 El término "arilo" como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo de átomos derivados de una molécula que contiene anillo o anillos aromáticos mediante la eliminación de un hidrógeno que está unido al anillo o anillos aromáticos. Los ejemplos representativos de grupos arilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo y naftilo. El anillo arilo puede estar no sustituido o puede contener uno o más sustituyentes según lo permita la valencia.

35 Los términos "halo" y "halógeno", como se usan en el presente documento, se refieren a F, Cl, Br o I.

Los anillos aromáticos de la invención contienen 0-3 heteroátomos seleccionados que pueden incluir entre -N-, -S- y -O-. También incluyen grupos heteroarilo como se define a continuación.

40 El término "heteroarilo" se refiere a grupos monocíclicos de 5 o 6 miembros y bicíclicos de 9 o 10 miembros, aromáticos, sustituidos o sin sustituir, que tienen al menos un heteroátomo (O, S o N) en al menos uno de los anillos, teniendo dicho anillo que contiene el heteroátomo preferentemente 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de O, S y/o N. Cada anillo del grupo heteroarilo que contiene un heteroátomo puede contener uno o dos átomos de oxígeno o de azufre y/o de uno a cuatro átomos de nitrógeno, con la condición de que el número total de heteroátomos en cada anillo sea de cuatro o menos y que cada anillo tenga al menos un átomo de carbono. Los anillos condensados que completan el grupo bicíclico son aromáticos y pueden contener solamente átomos de carbono. Los átomos de nitrógeno y azufre opcionalmente pueden estar oxidados y los átomos de nitrógeno opcionalmente pueden estar cuaternizados. Los grupos heteroarilo bicíclicos deben incluir solamente anillos aromáticos. El grupo heteroarilo puede estar unido a cualquier átomo de nitrógeno o carbono disponible de cualquier anillo. El sistema anular heteroarilo puede estar sin sustituir o puede contener uno o más sustituyentes.

55 Los grupos heteroarilo monocíclicos de ejemplo incluyen pirrolilo, pirazolilo, pirazolinilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, isotiazolilo, furanilo, tiofenilo, oxadiazolilo, piridinilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo y triazinilo.

60 Los grupos heteroarilo bicíclicos de ejemplo incluyen indolilo, benzotiazolilo, benzodioxolilo, benzoxazolilo, benzotienilo, quinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, isoquinolinilo, benzoimidazolilo, benzopirranilo, indolizínilo, benzofuranilo, cromonilo, cumarinilo, benzopirranilo, cinolinilo, quinoxalinilo, indazolilo y pirrolpiridilo.

65 Como se usa en el presente documento, la expresión "o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo" se refiere a al menos un compuesto, o al menos una sal del compuesto, o una combinación de los mismos. Por ejemplo, "un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo" incluye, pero no está limitado a, un compuesto de Fórmula (I), dos compuestos de Fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de Fórmula (I), un compuesto de Fórmula (I) y una o más sales farmacéuticamente aceptables del compuesto de Fórmula (I) y dos o más sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto de Fórmula (I).

Como se usa en el presente documento, un "acontecimiento adverso" o "AA" es cualquier signo (incluido un hallazgo de laboratorio anómalo), síntoma o enfermedad desfavorable y generalmente no intencionado, incluso indeseable, asociado con el uso de un tratamiento médico. Por ejemplo, un acontecimiento adverso puede estar asociado con la activación del sistema inmunitario o la expansión de las células del sistema inmunitario (por ejemplo, células T) en respuesta a un tratamiento. Un tratamiento médico puede tener uno o más AE asociados y cada AE puede tener el mismo nivel de gravedad o diferente. La referencia a métodos capaces de "alterar los acontecimientos adversos" significa un régimen de tratamiento que disminuye la incidencia y/o gravedad de uno o más AE asociados con el uso de un régimen de tratamiento diferente.

Como se usa en el presente documento, la "enfermedad hiperproliferativa" se refiere a afecciones en donde el crecimiento celular aumenta sobre niveles normales. Por ejemplo, las enfermedades o trastornos hiperproliferativos incluyen enfermedades neoplásicas (por ejemplo, cáncer esofágico, cáncer de colon, cáncer biliar) y enfermedades no neoplásicas (por ejemplo, aterosclerosis, hiperplasia benigna, hipertrofia prostática benigna).

La expresión "respuesta inmunitaria" se refiere a la acción de, por ejemplo, linfocitos, células presentadoras de antígenos, células fagocíticas, granulocitos y macromoléculas solubles que dan como resultado daño selectivo a, destrucción de o eliminación en el cuerpo humano de patógenos invasores, células o tejidos infectados por patógenos, células cancerosas o, en los casos de autoinmunidad o inflamación patológica, células o tejidos humanos normales.

Las expresiones "ligando de muerte programada 1", "Ligando de muerte celular programada 1", "PD-L1", "PDL1", "hPD-L1", "hPD-LI" y "B7-H1" se usan indistintamente e incluyen variantes, isoformas, homólogos de especie de PD-L1 humano y análogos que tienen al menos un epítipo común con PD-L1. La secuencia completa de PD-L1 puede encontrarse en GENBANK® N.º de registro NP_054862.

Las expresiones "muerte programada 1", "Muerte celular programada 1", "Proteína PD-1", "PD-1", "PD1", "hPD-1" y "hPD-I" se usan indistintamente e incluyen variantes, isoformas, homólogos de especie de PD-1 humano y análogos que tienen al menos un epítipo común con PD-1. La secuencia completa de PD-1 puede encontrarse en GENBANK® N.º de registro U64863.

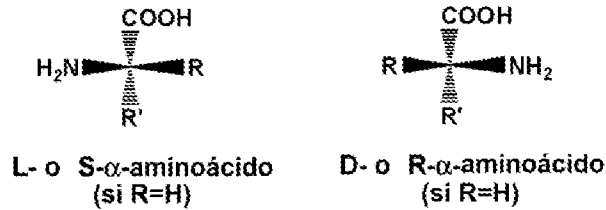
El término "tratar" se refiere a inhibir la enfermedad, el trastorno o la afección, es decir, detener su desarrollo; y (iii) aliviar la enfermedad, el trastorno o la afección, es decir, provocar la regresión de la enfermedad, el trastorno y/o la afección y/o los síntomas asociados a la enfermedad, el trastorno y/o la afección.

La presente divulgación pretende incluir todos los isótopos de los átomos que se encuentran en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números másicos. A modo de ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen deuterio y tritio. Los isótopos de carbono incluyen ^{13}C y ^{14}C . Los compuestos marcados isotópicamente de la divulgación pueden prepararse generalmente mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia o mediante procesos análogos a aquellos descritos en el presente documento, usando un reactivo apropiado marcado isotópicamente en lugar de reactivo no marcado empleado de otro modo. Dichos compuestos pueden tener una diversidad de usos potenciales, por ejemplo, como patrones y reactivos en la determinación de la actividad biológica. En el caso de isótopos estables, dichos compuestos pueden tener el potencial de modificar favorablemente las propiedades biológicas, farmacológicas o farmacocinéticas.

Un aspecto adicional de la materia objeto descrita en el presente documento es el uso de los compuestos desvelados como ligandos radiomarcados para el desarrollo de ensayos de unión a ligandos o para la monitorización de la adsorción *in vivo*, el metabolismo, la distribución, la unión o la ocupación de receptores o la disposición del compuesto. Por ejemplo, un compuesto macrocíclico descrito en el presente documento puede prepararse usando un isótopo radiactivo y el compuesto radiomarcado resultante puede usarse para desarrollar un ensayo de unión o para estudios de metabolismo. Como alternativa, y para el mismo fin, un compuesto macrocíclico descrito en el presente documento puede convertirse en una forma radiomarcada mediante trititación catalítica usando métodos conocidos por los expertos en la materia.

Los compuestos macrocíclicos de la presente divulgación también pueden usarse como agentes de formación de imágenes PET mediante la adición de un trazador radiactivo usando métodos conocidos por los expertos en la materia.

Los expertos en la materia saben que un aminoácido incluye un compuesto representado por la estructura general:



donde R y R' son como se analizan en el presente documento. Salvo que se indique lo contrario, el término "aminoácido" como se emplea en el presente documento, solo o como parte de otro grupo, incluye, sin limitación, un grupo amino y un grupo carboxilo enlazado al mismo carbono, denominado carbono " α ", donde R y/o R' pueden ser una cadena lateral natural o no natural, incluyendo hidrógeno. La configuración absoluta "S" en el carbono " α " se conoce comúnmente como la configuración "L" o "natural". En el caso en que los sustituyentes "R" y "R'" (prima) sean iguales a hidrógeno, el aminoácido es glicina y no es quiral.

Cuando no esté específicamente designado, los aminoácidos descritos en el presente documento pueden tener estereoquímica D- o L- y pueden sustituirse como se describe en otra parte de la divulgación. Debe entenderse que cuando no se especifica la estereoquímica, la presente divulgación abarca todas las formas isoméricas estereoquímicas, o mezclas de las mismas, que poseen la capacidad de inhibir la interacción entre PD-1 y PD-L1 y/o CD80 y PD-L1. Los estereoisómeros individuales de los compuestos pueden prepararse sintéticamente a partir de materiales de partida disponibles en el mercado que contienen centros quirales o mediante la preparación de mezclas de productos enantioméricos seguido de separación, tal como conversión a una mezcla de diastereómeros, seguido de separación o recristalización, técnicas cromatográficas o separación directa de enantiómeros en columnas de cromatografía quiral. Los compuestos de partida de estereoquímica particular están disponibles en el mercado o pueden producirse y resolverse mediante técnicas conocidas en la técnica.

Determinados compuestos de la presente divulgación pueden existir en diferentes formas conformacionales estables que pueden ser separables. La asimetría de torsión debida a rotación restringida alrededor de un enlace sencillo asimétrico, por ejemplo debida a impedimento estérico o tensión en el anillo, puede permitir la separación de los diferentes conformeros. La presente divulgación incluye cada isómero conformacional de estos compuestos y mezclas de los mismos.

Determinados compuestos de la presente divulgación pueden existir como tautómeros, que son compuestos producidos por el fenómeno en que un protón de una molécula se desplaza a un átomo diferente dentro de esa molécula. El término "tautómero" también se refiere a uno de dos o más isómeros estructurales que existen en equilibrio y se convierten fácilmente de un isómero a otro. Todos los tautómeros de los compuestos descritos en el presente documento están incluidos en la presente divulgación.

Los compuestos farmacéuticos de la divulgación pueden incluir una o más sales farmacéuticamente aceptables. Una "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal que conserva la actividad biológica deseada del compuesto precursor y que no produce ningún efecto toxicológico no deseado (véase, por ejemplo, Berge, S.M. *et al.*, J. Pharm. Sci., 66:1-19 (1977)). Las sales pueden obtenerse durante el aislamiento final y la purificación de los compuestos descritos en el presente documento, o haciendo reaccionar por separado una función de base libre del compuesto con un ácido adecuado o haciendo reaccionar un grupo ácido del compuesto con una base adecuada. Las sales de adición de ácidos incluyen las derivadas de ácidos inorgánicos no tóxicos, tales como clorhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, bromhídrico, yodhídrico, fosforoso y similares, así como de ácidos orgánicos no tóxicos tales como ácidos alifáticos mono y dicarboxílicos, ácidos alcanoicos sustituidos con fenilo, ácidos hidroxialcanoicos, ácidos aromáticos, ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos y similares. Las sales de adición de bases incluyen las derivadas de metales alcalinotérreos, tales como sodio, potasio, magnesio, calcio y similares, así como de aminas orgánicas no tóxicas, tales como N,N'-dibenciletilendiamina, N-metilglucamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, procaína y similares.

La administración de un agente terapéutico descrito en el presente documento incluye, sin limitación, administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de agente terapéutico. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" como se usa en el presente documento se refiere, sin limitación, a una cantidad de un agente terapéutico para tratar una afección tratable mediante la administración de una composición que comprende los inhibidores de unión a PD-1/PD-L1 descritos en el presente documento. Esa cantidad es la cantidad suficiente para exhibir un efecto terapéutico o mejorador detectable. El efecto puede incluir, por ejemplo y sin limitación, tratamiento de las afecciones enumeradas en el presente documento. La cantidad eficaz precisa para un sujeto dependerá del tamaño y la salud del sujeto, la naturaleza y el grado de la dolencia que se está tratando, las recomendaciones del médico tratante y los productos terapéuticos o la combinación de productos terapéuticos seleccionados para la administración. Por lo tanto, no es útil especificar una cantidad eficaz exacta por adelantado.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a métodos para inhibir el crecimiento de células tumorales en un sujeto usando los compuestos macrocíclicos de la presente divulgación. Como se demuestra en el presente documento, los

compuestos de la presente divulgación son capaces de unirse a PD-L1, interrumpiendo la interacción entre PD-L1 y PD-1, compitiendo con la unión de PD-L1 con anticuerpos monoclonales anti-PD-1 que se sabe que bloquean la interacción con PD-1, mejorando la secreción de IFN γ de células T específicas de CMV y mejorando la secreción de IFN γ de células T específicas de VIH. Como resultado, los compuestos de la presente divulgación son útiles para
 5 modificar una respuesta inmunitaria, para tratar enfermedades tales como cáncer o enfermedades infecciosas, para estimular una respuesta autoinmunitaria protectora o para estimular respuestas inmunitarias específicas de antígeno (por ejemplo, mediante coadministración de péptidos bloqueadores de PD-L1 con un antígeno de interés).

Composiciones farmacéuticas

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una composición, por ejemplo, una composición farmacéutica, que contiene uno o una combinación de los compuestos descritos en la presente divulgación, formulada junto con un portador farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas de la divulgación también pueden administrarse en terapia de combinación, es decir, combinadas con otros agentes. Por ejemplo, la terapia de
 15 combinación puede incluir un compuesto macrocíclico combinado con al menos un agente antiinflamatorio o inmunosupresor distinto. Los ejemplos de agentes terapéuticos que pueden usarse en la terapia de combinación se describen en mayor detalle a continuación en la sección sobre usos de los compuestos de la divulgación.

Como se usa en el presente documento, un "portador farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y similares, que sean fisiológicamente compatibles. En algunas realizaciones, el portador es adecuado para administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, parenteral, espinal o epidérmica (por ejemplo, por inyección o infusión). Dependiendo de la vía de administración, el principio activo puede estar recubierto con un material para proteger el compuesto de la acción de los ácidos y otras condiciones naturales que puedan
 25 inactivar el compuesto.

Una composición farmacéutica de la divulgación también puede incluir un antioxidante farmacéuticamente aceptable. Algunos ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes hidrosolubles, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato sódico, metabisulfito sódico, sulfito sódico y similares; (2)
 30 antioxidantes oleosolubles, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol y similares; y (3) agentes quelantes metálicos, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

Las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden administrarse a través de una o más vías de administración usando uno o más de una diversidad de métodos conocidos en la técnica. Como apreciará el experto en la materia, la vía y/o el modo de administración variarán dependiendo de los resultados deseados. En algunas realizaciones, las vías de administración para los compuestos macrocíclicos de la divulgación incluyen intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, subcutánea, espinal u otras vías de administración parenterales, por ejemplo, mediante inyección o infusión. La expresión "administración parenteral" como se usa en el presente
 35 documento significa modos de administración diferentes de la administración entérica y tópica, normalmente mediante inyección, e incluye, sin limitación, inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, epidural e intraesternal e infusión.

Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse mediante la incorporación del principio activo en la cantidad requerida en un disolvente adecuado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización por microfiltración. Generalmente, se preparan dispersiones mediante la incorporación del principio activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes necesarios de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de
 45 soluciones inyectables estériles, algunos métodos de preparación son el secado al vacío y el secado por congelación (liofilización) que producen un polvo del principio activo más cualquier ingrediente adicional deseado a partir una solución del mismo previamente esterilizada por filtración.

Los ejemplos de portadores acuosos o no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la divulgación incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares) y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula necesario en caso de dispersiones y mediante el uso de tensioactivos.
 55

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la presencia de microorganismos puede garantizarse mediante procedimientos de esterilización, anteriormente, y mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol de ácido sórbico y similares. También puede ser deseable
 65 incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro sódico y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede llevarse a cabo mediante la inclusión de agentes que retrasen

la absorción tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

5 Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen soluciones acuosas o dispersiones estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es conocido en la técnica. Excepto en la medida en el que cualquier agente o medio convencional sea incompatible con el principio activo, se contempla el uso del mismo en las composiciones farmacéuticas de la divulgación. También pueden incorporarse principios activos complementarios en las composiciones.

10 Normalmente las composiciones terapéuticas deben ser estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede formularse en forma de una solución, microemulsión, liposoma u otra estructura ordenada adecuada para una elevada concentración de fármaco. El transportador puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares) y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partículas requerido en el caso de una dispersión y mediante el uso de tensioactivos. En muchos casos, será deseable incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol o cloruro sódico en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede lograrse incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

20 Como alternativa, los compuestos de la divulgación pueden administrarse a través de una vía no parenteral, tal como una vía de administración tópica, epidérmica o mucosa, por ejemplo, por vía intranasal, por vía oral, por vía vaginal, por vía rectal, por vía sublingual o por vía tópica.

25 Cualquier composición farmacéutica contemplada en el presente documento puede, por ejemplo, suministrarse por vía oral mediante cualquier preparación oral aceptable y adecuada. Las preparaciones orales ilustrativas incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, comprimidos, trociscos, pastillas para chupar, suspensiones acuosas y oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras y blandas, cápsulas líquidas, jarabes y elixires. Las composiciones farmacéuticas destinadas a la administración oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la materia para la fabricación de composiciones farmacéuticas destinadas a la administración oral. Para proporcionar preparaciones farmacéuticamente aceptables, una composición farmacéutica de acuerdo con la divulgación puede contener al menos un agente seleccionado de agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes, emolientes, antioxidantes y agentes conservantes.

35 Un comprimido puede, por ejemplo, prepararse mezclando al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable no tóxico adecuado para la fabricación de comprimidos. Los excipientes ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como, por ejemplo, carbonato cálcico, carbonato sódico, lactosa, fosfato cálcico y fosfato sódico; agentes de granulación de y disgregación, tales como, por ejemplo, celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica, almidón de maíz y ácido algínico; agentes aglutinantes tales como, por ejemplo, almidón, gelatina, polivinilpirrolidona y goma arábiga; y agentes lubricantes, tales como, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico y talco. Adicionalmente, un comprimido puede estar sin recubrir o recubierto mediante técnicas conocidas para enmascarar el mal sabor de un fármaco de sabor desagradable o para retrasar la disgregación y la absorción del principio activo en el tracto gastrointestinal, manteniendo de esta manera los efectos del principio activo durante más tiempo. Los materiales enmascarantes del sabor hidrosolubles ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, hidroxipropilmetilcelulosa e hidroxipropilcelulosa. Los materiales retardantes ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, etilcelulosa y acetato butirato de celulosa.

50 Las cápsulas de gelatina dura pueden, por ejemplo, prepararse mezclando al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o al menos una sal del mismo con al menos un diluyente sólido inerte, tales como, por ejemplo, carbonato cálcico; fosfato cálcico; y caolín.

55 Las cápsulas de gelatina blanda pueden, por ejemplo, prepararse mezclando al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con al menos un portador hidrosoluble, tales como, por ejemplo, polietilenglicol; y al menos un medio oleaginoso, tales como, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida y aceite de oliva.

60 Puede prepararse una suspensión acuosa, por ejemplo, mezclando al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con al menos un excipiente adecuado para la fabricación de una suspensión acuosa, incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, agentes de suspensión, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato sódico, ácido algínico, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga; agentes de dispersión o humectantes, tales como, por ejemplo, un fosfátido de origen natural, por ejemplo, lecitina; productos de condensación de óxido de alquileno con ácidos grasos, tales como, por ejemplo, estearato de polioxietileno; productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, tales como, por ejemplo, heptadecatileno-oxicetanol; productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol, tales como, por ejemplo,

monooleato de polioxietilen sorbitol; y productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como, por ejemplo, monooleato de polietilen sorbitán. Una suspensión acuosa también puede contener al menos un conservante, tales como, por ejemplo, etil y n-propil p-hidroxibenzoato; al menos un agente colorante; al menos un agente saborizante; y/o al menos un agente edulcorante, incluyendo pero no limitado a, por ejemplo, sacarosa, sacarina y aspartamo.

Las suspensiones oleaginosas pueden, por ejemplo, prepararse suspendiendo al menos un compuesto de fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en un aceite vegetal, tales como, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de sésamo y aceite de coco; o en aceite mineral, tales como, por ejemplo, parafina líquida. Una suspensión oleaginosa también puede contener al menos un agente espesante, tales como, por ejemplo, cera de abeja, parafina dura y alcohol cetílico. Para proporcionar una suspensión oleaginosa agradable al paladar, puede añadirse al menos uno de los agentes edulcorantes descritos anteriormente en el presente documento y/o al menos un agente aromatizante a la suspensión oleaginosa. Una suspensión oleaginosa puede contener además al menos un conservante, incluyendo, pero no limitado a, por ejemplo, un antioxidante, tales como, por ejemplo, hidroxianisol butilado y alfa-tocoferol.

Los polvos y gránulos dispersables pueden, por ejemplo, prepararse mezclando al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con al menos un agente dispersante y/o humectante, al menos un agente de suspensión y/o al menos un conservante. Los agentes dispersantes, agentes humectantes y agentes de suspensión adecuados son como ya se han definido anteriormente. Los conservantes ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, antioxidantes, por ejemplo, ácido ascórbico. Además, los polvos y gránulos dispersables también pueden contener al menos un excipiente, incluyendo, pero no limitado a, por ejemplo, agentes edulcorantes, agentes saborizantes y agentes colorantes.

Una emulsión de al menos un compuesto de Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede, por ejemplo, prepararse como una emulsión de aceite en agua. La fase oleaginosa de las emulsiones que comprenden compuestos de fórmula (I) puede constituirse a partir de ingredientes conocidos de una manera conocida. La fase oleosa puede proporcionarse por, pero no está limitado a, por ejemplo, un aceite vegetal, tales como, por ejemplo, aceite de oliva y aceite de cacahuete; un aceite mineral, tales como, por ejemplo, parafina líquida; y mezclas de los mismos. Aunque la fase puede comprender simplemente un emulsionante, también puede comprender una mezcla de al menos ningún emulsionante con una grasa o un aceite o tanto con una grasa como con un aceite. Los agentes emulsionantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, fosfátidos de origen natural, por ejemplo, lecitina de semilla de soja, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como, por ejemplo, monooleato de sorbitán y productos de condensación de ésteres parciales con óxido de etileno, tales como, por ejemplo, monooleato de polioxietilen sorbitán. En algunas realizaciones, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como un estabilizante. A veces también es deseable incluir tanto un aceite como una grasa. Juntos, el emulsionante o emulsionantes con o sin el estabilizante o estabilizantes constituyen la denominada cera emulsionante y la cera junto con el aceite y la grasa constituyen la denominada base de pomada emulsionante que forma la fase oleaginosa dispersa de las formulaciones de crema. Una emulsión también puede contener un agente edulcorante, un agente saborizante, un conservante y/o un antioxidante. Los emulsionantes y estabilizantes de la emulsión adecuados para su uso en la formulación de la presente divulgación incluyen Tween 60, Span 80, alcohol cetosteárico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo, laurilsulfato sódico, diestearato de glicerilo solo o con una cera u otros materiales bien conocidos en la materia.

Los principios activos pueden prepararse con portadores que protegerán al compuesto frente a la liberación rápida, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes, parches transdérmicos y sistemas de suministro microencapsulados. Pueden usarse polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como acetato de etilvinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Muchos métodos para la preparación de dichas formulaciones están patentados o son generalmente conocidos por los expertos en la materia. Véase, *por ejemplo*, Robinson, J.R., ed., Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, Marcel Dekker, Inc., Nueva York (1978).

Las composiciones terapéuticas pueden administrarse con dispositivos médicos conocidos en la técnica. Por ejemplo, en una realización, una composición terapéutica de la divulgación puede administrarse con un dispositivo de inyección hipodérmica sin aguja, tales como los dispositivos divulgados en las Patentes de EE. UU. N.º 5.399.163, 5.383.851, 5.312.335, 5.064.413, 4.941.880, 4.790.824 o 4.596.556. Algunos ejemplos de implantes bien conocidos y módulos útiles en la presente divulgación incluyen: la Patente de EE. UU. N.º 4.487.603, que desvela una bomba de microinfusión implantable para dispensar un medicamento a una velocidad controlada; la Patente de EE. UU. N.º 4.486.194, que desvela un dispositivo terapéutico para administrar medicamento a través de la piel; la Patente de EE. UU. N.º 4.447.233, que desvela una bomba de infusión de medicamentos para suministrar un medicamento a una velocidad de infusión precisa; la Patente de EE. UU. N.º 4.447.224, que desvela un aparato de infusión implantable de flujo variable para la liberación continua de fármacos; la Patente de EE. UU. N.º 4.439.196, que desvela un sistema de liberación osmótica de fármaco que tiene compartimentos multicámara; y la Patente de EE. UU. N.º 4.475.196, que desvela un sistema de liberación osmótica de fármacos. Muchos otros de estos implantes, sistemas de administración y módulos son conocidos por los expertos en la materia.

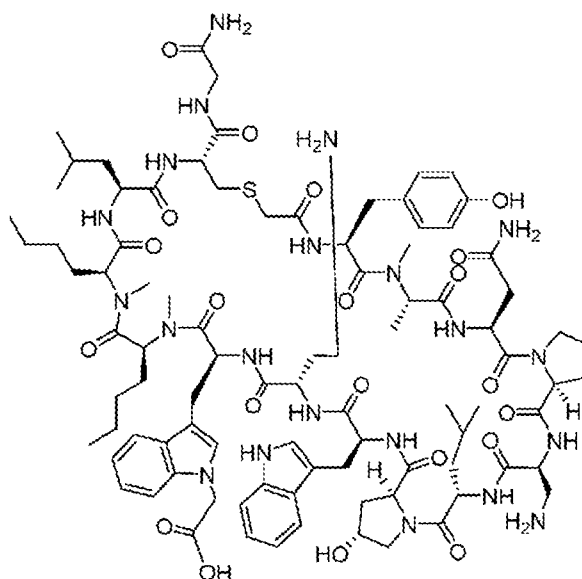
En determinadas realizaciones, los compuestos de la divulgación pueden formularse para garantizar una distribución adecuada *in vivo*. Por ejemplo, la barrera hematoencefálica (BBB) excluye muchos compuestos altamente hidrófilos. Para garantizar que los compuestos terapéuticos de la divulgación crucen la BBB (si se desea), pueden formularse, por ejemplo, en liposomas. Para los métodos de fabricación de liposomas, véanse, *por ejemplo*, las Patentes de EE. UU. N.º 4.522.811, 5.374.548 y 5.399.331. Los liposomas pueden comprender uno o más restos que se transportan de manera selectiva al interior de células u órganos específicos, mejorando de esta manera el suministro dirigido de fármacos (véase, por ejemplo, Ranade, V.V., *J. Clin. Pharmacol.*, 29:685 (1989)). Los restos de direccionamiento ilustrativos incluyen folato o biotina (véase, por ejemplo, la Patente de EE. UU. N.º 5.416.016 de Low *et al.*); manósidos (Umezawa *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 153:1038 (1988)); compuestos macrocíclicos (Bloeman, P.G. *et al.*, *FEBS Lett.*, 357:140 (1995); Owais, M. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 39:180 (1995)); receptor de proteína A tensoactiva (Briscoe *et al.*, *Am. J. Physiol.*, 1233:134 (1995)); p120 (Schreier *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 269:9090 (1994)); véanse también Keinanen, K. *et al.*, *FEBS Lett.*, 346:123 (1994); Killion, J.J. *et al.*, *Immunomethods* 4:273 (1994).

Métodos sintéticos

Los compuestos pueden prepararse mediante métodos conocidos en la técnica, incluyendo aquellos descritos a continuación y que incluyen variaciones dentro de la experiencia en la materia. Algunos reactivos e intermedios son conocidos en la técnica. Pueden prepararse otros reactivos e intermedios mediante métodos conocidos en la técnica usando materiales fácilmente disponibles. Las variables (por ejemplo, los sustituyentes "R" numerados) usados para describir la síntesis de los compuestos solo pretenden ilustrar cómo producir los compuestos y no deben confundirse con las variables usadas en las reivindicaciones o en otras secciones de la memoria descriptiva. Los siguientes métodos tienen fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la invención.

Las abreviaturas usadas en los esquemas generalmente siguen las convenciones usadas en la técnica. Las abreviaturas químicas usadas en la memoria descriptiva y los ejemplos se definen como sigue: "THF" para tetrahidrofurano; "DMF" para N,N-dimetilformamida; "MeOH" para metanol; "EtOH" para etanol; "n-PrOH" para alcohol 1-propílico o propan-1-ol; "i-PrOH" para alcohol 2-propílico o propan-2-ol; "Ar" para arilo; "TFA" para ácido trifluoroacético; "DMSO" para dimetilsulfóxido; "EtOAc" para acetato de etilo; "Et₂O" para éter dietílico; "DMAP" para 4-dimetilaminopiridina; "DCE" para 1,2-dicloroetano; "ACN" para acetonitrilo; "DME" para 1,2-dimetoxietano; "h" para horas; "ta" para temperatura ambiente; "tr" para tiempo de retención; "min" para minutos; "HOBt" para hidrato de 1-hidroxibenzotriazol; "HCTU" para 3-óxido hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-5-clorobenzotriazol o hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(6-cloro-1H-benzotriazol-1-il)uronio; "HATU" para hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio o N-óxido de hexafluorofosfato de N-[(dimetilamino)-1H-1,2,3-triazolo-[4,5-b]piridin-1-ilmetileno]-N-metilmetanaminio; "DIEA" e "iPrNEt₂" para diisopropiletilamina; "Et₃N" para trietilamina.

Las abreviaturas se definen como sigue: "1 x" para una vez, "2 x" para dos veces, "3 x" para tres veces, "°C" para grados Celsius, "equiv." para equivalente o equivalentes, "g" para gramo o gramos, "mg" para miligramo o miligramos, "l" para litro o litros, "ml" para mililitro o mililitros, "µl" para microlitro o microlitros, "N" para normal, "M" para molar, "mmol" para milimol o milimoles, "min" para minuto o minutos, "h" para hora u horas, "ta" para temperatura ambiente, "TR" para tiempo de retención, "atm" para atmósfera, "kPa (psi)" para kilopascal (libras por pulgada cuadrada), "conc." para concentrado, "sat." para saturado, "PM" para peso molecular, "pf" para punto de fusión, "ee" para exceso enantiomérico, "MS" o "Espec. Masas" para espectrometría de masas, "ESI" para espectroscopía de masas con ionización por electropulverización, "HR" para alta resolución, "HRMS" para espectrometría de masas de alta resolución, "LC" para cromatografía líquida, "LCMS" para cromatografía líquida-espectrometría de masas, "HPLC" para cromatografía líquida de alta presión, "RP HPLC" para HPLC en fase inversa, "TLC" o "tlc" para cromatografía en capa fina, "RMN" para espectroscopía de resonancia magnética nuclear, "1H" para protón, "δ" para delta, "s" para singlete, "d" para doblete, "t" para triplete, "c" para cuartete, "m" para multiplete, "a" para ancho, "Hz" para hercio y "α", "β", "R", "S", "E" y "Z" son denominaciones estereoquímicas familiares para un experto en la materia. La estructura de BMT-001 es

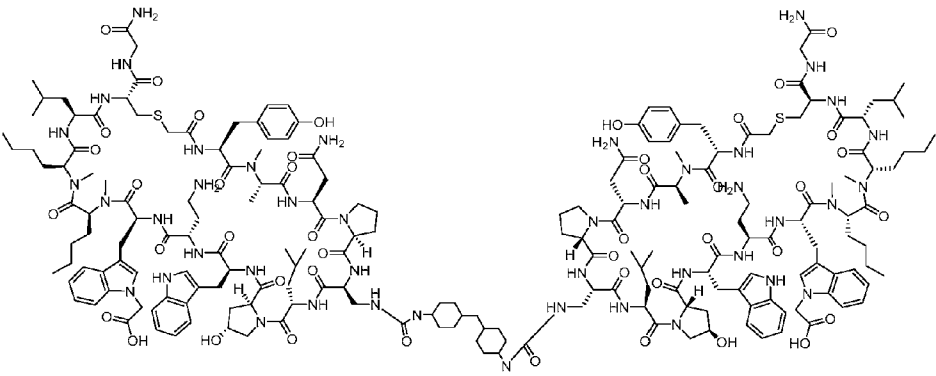
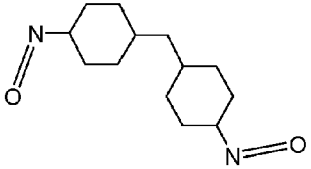


Procedimiento general para la preparación de las estructuras de la reivindicación I, BMT-001:

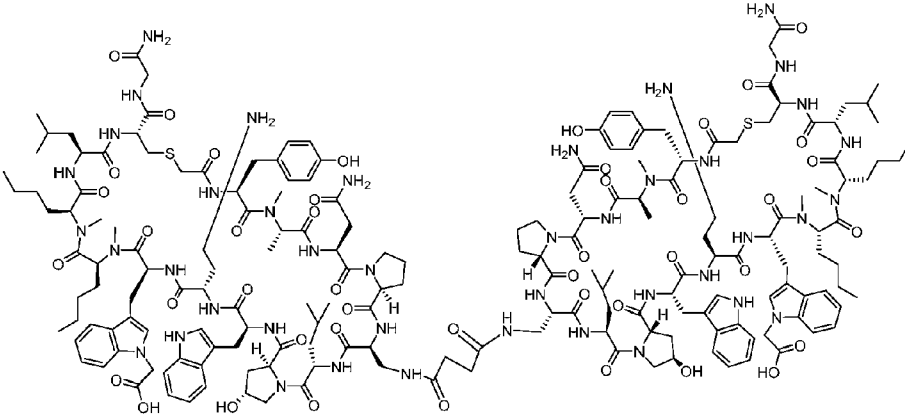
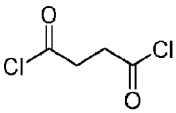
- 5 Una mezcla de BMT-001 (1 equiv.), un agente químico (1 - 20 equiv.) y Et₃N o iPr₂NEt (0 - 200 equiv.) en THF o dioxano o DME o MeOH o EtOH se agitó a temperatura ambiente a 100 °C durante 0,5 a 48 horas, antes de que la reacción se inactivara con metanol o agua. Después de que todos los disolventes se eliminaron al vacío, el residuo se purificó mediante HPLC preparativa para dar los compuestos de la reivindicación I.

Compuesto 1001	
Material de partida	BMT-001
Electrófilo usado	
MS	
EM (M/3 + H) ⁺ Calc.	1301,7
MS (M/3 + H) ⁺ Observ.	1301,9
Tiempo de retención	1,47 min
Condición de LC	
Disolvente A	Acetonitrilo al 10 %/Agua al 90 %/TFA al 0,1 %
Disolvente B	Agua al 10 %/Acetonitrilo al 90 %/TFA al 0,1 %
% de B de inicio	0

(continuación)

Compuesto 1001	
% de B final	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Temperatura	40 °C
Columna	Acquity BEH 21. x 50 mm 1,7 um
Compuesto 1002	
	
Material de partida	BMT-001
Electrófilo usado	
MS	
EM (M/3 + H) ⁺ Calc.	1345,7
MS (M/3 + H) ⁺ Observ.	1345,8
Tiempo de retención	1,48 min
Condición de LC	
Disolvente A	Acetonitrilo al 10 %/Agua al 90 %/TFA al 0,1 %
Disolvente B	Agua al 10 %/Acetonitrilo al 90 %/TFA al 0,1 %
% de B de inicio	0
% de B final	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Temperatura	40 °C
Columna	Acquity BEH 21. X 50 mm 1,7 um

(continuación)

Compuesto 1003	
	
Material de partida	BMT-001
Electrófilo usado	
MS	
EM (M/3 + H) ⁺ Calc.	1285,6
MS (M/3 + H) ⁺ Observ.	1286,0
Tiempo de retención	1,86 min
Condición de LC	
Disolvente A	5:95 de acetonitrilo:agua con acetato de amonio 10 mM
Disolvente B	95:5 de acetonitrilo:agua con acetato de amonio 10 mM
% de B de inicio	0
% de B final	100
Tiempo del gradiente	3 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Temperatura	50 °C
Columna	Waters XBridge C18, 2,1 mm x 50 mm, partículas de 1,7 µm

MÉTODOS PARA ENSAYAR LA CAPACIDAD DE LOS PÉPTIDOS MACROCÍCLICOS PARA COMPETIR POR LA UNIÓN DE PD-1 A PD-L1 USANDO ENSAYOS DE UNIÓN DE FLUORESCENCIA HOMÓGENA RESUELTA EN TIEMPO (HTRF)

5

La capacidad de los compuestos de fórmula (I) de unirse a PD-L1 se investigó usando un ensayo de unión de fluorescencia en tiempo resuelto homogéneo (HTRF) de PD-1/PD-L1.

10 Ensayo de unión de fluorescencia en tiempo resuelto homogéneo (HTRF)

La interacción de PD-1 y PD-L1 puede evaluarse usando preparaciones solubles purificadas de los dominios extracelulares de las dos proteínas. Los dominios extracelulares de la proteína PD-1 y PD-L1 se expresaron como proteínas de fusión con etiquetas de detección, para PD-1, la etiqueta era la porción Fc de la inmunoglobulina (PD-1-Ig) y para PD-L1 era el motivo de 6 histidinas (PD-L1-His). Todos los estudios de unión se realizaron en un tampón de ensayo de HTRF que consistía en dPBS complementado con albúmina de suero bovino al 0,1 % (con) y Tween-20 al 0,05 % (v/v). Para el ensayo de unión de h/PD-L1-His, los inhibidores se preincubaron con PD-L1-His (final 10 nM)

15

5 durante 15 m en 4 µl de tampón de ensayo, seguido de la adición de PD-1-Ig (final 20 nM) en 1 µl de tampón de ensayo y una incubación adicional durante 15 m. La detección de HTRF se realizó usando anti-Ig marcado con criptato de europio (final 1 nM) y anti-His marcado con alofococianina (APC) (final 20 nM). Los anticuerpos se diluyeron en tampón de detección de HTRF y se dispensaron 5 µl por encima de la reacción de unión. La mezcla de reacción se dejó equilibrar durante 30 minutos y se obtuvo la señal resultante (relación 665 nm/620 nm) usando un fluorómetro EnVision. Se establecieron ensayos de unión adicionales entre las proteínas humanas PD-1-Ig/PD-L2-His (20 y 5 nM, respectivamente) y CD80-His/PD-L1-Ig (100 y 10 nM, respectivamente).

10 Proteínas recombinantes: El PD-1 humano (25-167) con un dominio Fc humano C-terminal de la etiqueta epitópica de inmunoglobulina G (Ig) [hPD-1 (25-167)-3S-IG] y el PD-L1 humano (18-239) con una etiqueta epitópica His C-terminal [hPD-L1(18-239)-TVMV-His] se expresó en células HEK293T y se purificó secuencialmente mediante cromatografía de afinidad con Proteína A y cromatografía de exclusión por tamaño. El PD-L2-His humano y el CD80-His se obtuvieron a través de fuentes comerciales.

15 La Tabla 1 enumera los valores de CI_{50} para los ejemplos representativos de esta divulgación medidos en el ensayo de unión de fluorescencia en tiempo resuelto homogéneo (HTRF) de PD-1/PD-L1.

Tabla 1

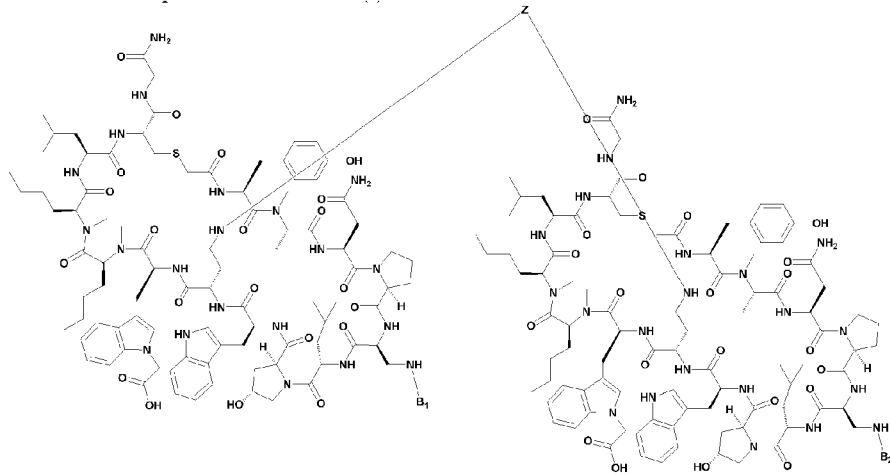
Número de ejemplo	CI_{50} (µM) de HTRF
1002	0,010

20 Resultará evidente para un experto en la materia que la presente divulgación no se limita a los ejemplos ilustrativos anteriores y que puede realizarse de otras maneras específicas sin apartarse de los atributos esenciales de la misma. Por lo tanto, se desea que los ejemplos se consideren a todos los efectos ilustrativos y no restrictivos, haciéndose referencia a las reivindicaciones adjuntas, en lugar de a los ejemplos anteriores y se pretende que estén abarcados e la misma todos los cambios que se encuentren dentro del significado y el intervalo de equivalencia de las
25 reivindicaciones.

Los compuestos de fórmula (I) poseen actividad como inhibidores de la interacción de PD-1/PD-L1 y, por lo tanto, pueden usarse en el tratamiento de enfermedades o deficiencias asociadas con la interacción PD-1/PD-L1. A través de la inhibición de la interacción PD-1/PD-L1, los compuestos de la presente divulgación pueden emplearse para tratar
30 enfermedades infecciosas tales como HIV, choque séptico, Hepatitis A, B, C o D y cáncer.

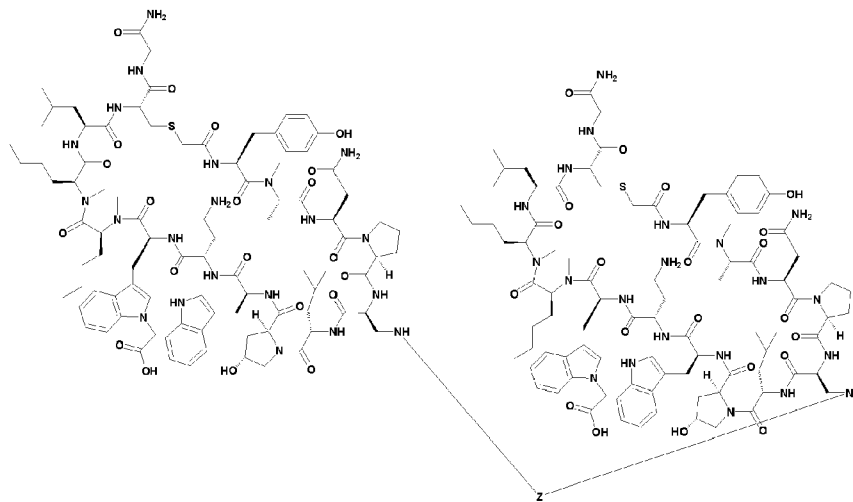
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



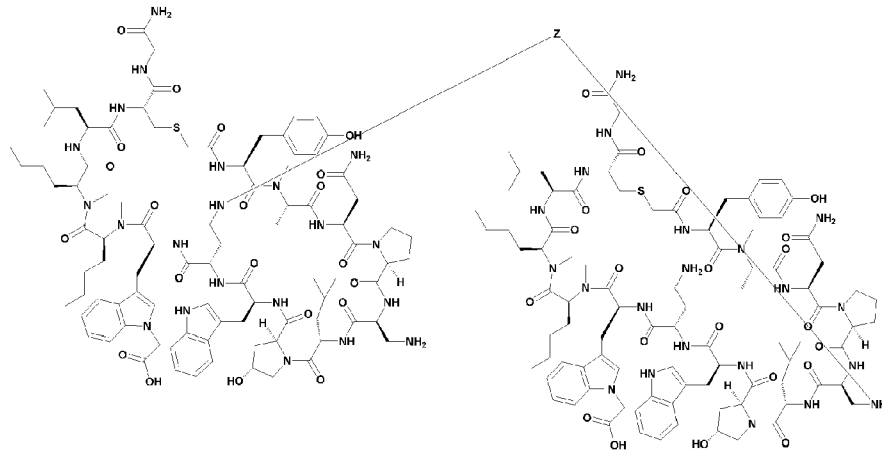
5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Z es un enlazador.

2. Un compuesto de fórmula (II)



10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Z es un enlazador.

3. Un compuesto de fórmula (III)

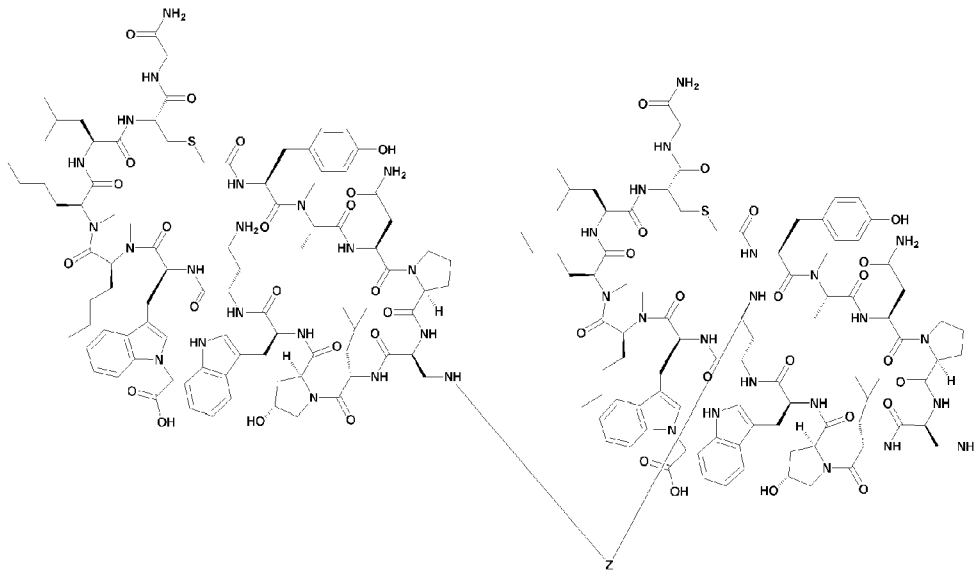


(III)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Z es un enlazador.

4. Un compuesto de fórmula (IV)

5

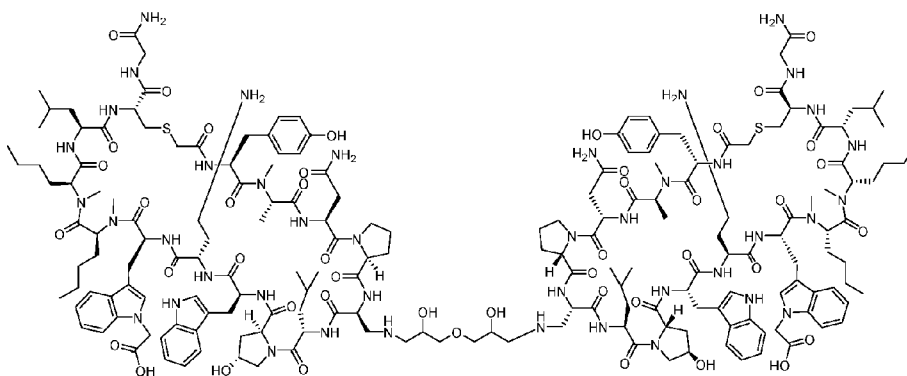


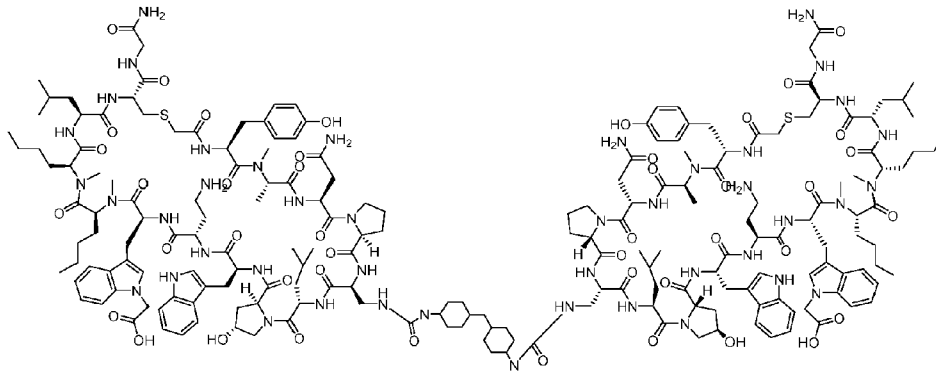
(IV)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Z es un enlazador.

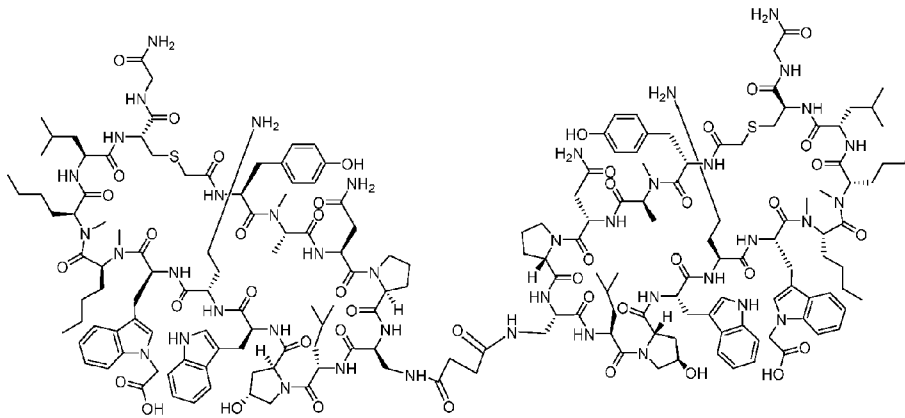
5. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de la reivindicación 2, que es

10





o



6. Un compuesto, o una sal terapéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en un método para la mejora, estimulación y/o aumento de la respuesta inmunitaria.
7. Un compuesto, o una sal terapéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en un método para la inhibición del crecimiento, la proliferación o la metástasis de las células cancerosas.
8. El compuesto, o una sal terapéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el cáncer se selecciona de melanoma, carcinoma de células renales, cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC, por sus siglas en inglés) escamoso, NSCLC no escamoso, cáncer colorrectal, cáncer de próstata resistente a castración, cáncer de ovario, cáncer gástrico, carcinoma hepatocelular, carcinoma pancreático, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinomas del esófago, tracto gastrointestinal y mama y neoplasias malignas hematológicas.
9. Un compuesto, o una sal terapéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en un método para el tratamiento de una enfermedad infecciosa.
10. El compuesto, o una sal terapéuticamente aceptable del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la enfermedad infecciosa está causada por un virus.
11. Un compuesto, o una sal terapéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en un método para el tratamiento del choque séptico.
12. Un compuesto, o una sal terapéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en un método para el bloqueo de la interacción de PD-L1 con PD-1 y/o CD80.