

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 991 280**

51 Int. Cl.:

A61K 31/536 (2006.01)
A61K 31/453 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07D 405/00 (2006.01)
C07D 405/02 (2006.01)
C07D 405/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.01.2019 PCT/US2019/012515**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **11.07.2019 WO19136368**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.01.2019 E 19735699 (1)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2024 EP 3737367**

54 Título: **Antagonistas de CCR2 para el tratamiento del linfoma cutáneo de linfocitos T**

30 Prioridad:

08.01.2018 US 201862614923 P

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

03.12.2024

73 Titular/es:

CHEMOCENTRYX, INC. (50.0%)
One Amgen Center Drive
Thousand Oaks, CA 91320, US y
THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF
CALIFORNIA (50.0%)

72 Inventor/es:

CAMPBELL, JAMES J.;
SINGH, RAJINDER;
HWANG, SAMUEL y
WU, XUESONG

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 991 280 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

Antagonistas de CCR2 para el tratamiento del linfoma cutáneo de linfocitos T

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad a tenor de 35 U.S.C § 119(e) de la Solicitud Provisional de EE. UU. N.º de Serie 62/614.923, presentada el 8 de enero de 2018.

Antecedentes

10 Los macrófagos asociados a tumores (TAM, por sus siglas en inglés) están presentes en gran número en los tejidos tumorales, lo que mejora la inflamación promotora del cáncer [1-3]. Los TAM contribuyen al microambiente tumoral inmunosupresor (TME, por sus siglas en inglés) secretando una serie de quimiocinas que son cruciales para el reclutamiento de células inmunosupresoras. Además, producen factores angiogénicos tales como VEGF, el factor de crecimiento derivado de plaquetas y el factor de crecimiento transformante β para inducir la neovascularización.
 15 Además, la PD-L1 (también conocida como B7H1) en los macrófagos confiere a los TAM una función supresora directa al inducir una tolerancia específica de antígeno en hospedadores portadores de tumores [3-5].

La abundancia de macrófagos en el TME y la correlación inversa con la supervivencia se han informado con frecuencia en neoplasias malignas, incluidas las de próstata, mama, colorrectal, páncreas y linfomas [4, 6]. La alta densidad de macrófagos en los tumores se asocia con un mal pronóstico del paciente y resistencia al tratamiento, y ha impulsado estrategias terapéuticas contra el cáncer dirigidas a los TAM [7]. Cabe destacar que se ha demostrado que la presencia de TAM en el linfoma no Hodgkin humano no solo se correlaciona con la supervivencia del paciente sino también con las respuestas al tratamiento [8]. La señalización mediada por el receptor del factor estimulante de colonias de macrófagos 1 (CSF1R) dirige la supervivencia de los monocitos y la diferenciación de los macrófagos [9]. Sin embargo,
 20 los ensayos clínicos que aplican estrategias de bloqueo del CSF1R no son consistentes en mostrar una mejoría del paciente. La razón principal de la inhibición imperfecta del CSF1R puede deberse a la dependencia de la capacidad del agente para acceder a las células neoplásicas en el TME, lo que potencialmente reduce el efecto terapéutico del bloqueo del CSF1R [7, 10-12].

30 El bloqueo del reclutamiento de monocitos a los tumores mediante el direccionamiento al eje CCL2-CCR2 proporciona otra estrategia prometedora [13]. Se ha demostrado que los anticuerpos neutralizantes CCL2 retardan la progresión tumoral en estudios preclínicos [14]. Los ensayos clínicos, sin embargo, mostraron respuestas clínicas limitadas. Los datos farmacocinéticos revelaron una rápida disociación del anticuerpo y un aumento no deseado en las concentraciones séricas de CCL2 al dirigirse al eje CCL2/CCR2 en el cáncer de próstata metastásico con un anticuerpo monoclonal CCL2 [15-18].

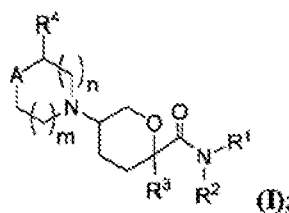
Los antagonistas de CCR2 se han vuelto atractivos para dirigirse al eje CCL2-CCR2 a la luz de las limitaciones mencionadas anteriormente [19, 20]. En un estudio de fase 1b, el bloqueo de CCR2 por un antagonista de CCR2 de molécula pequeña dosificado por vía oral (PF-04136309) ha demostrado una reducción en la infiltración de TAM y una respuesta inmunitaria antitumoral endógena en el adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC, por sus siglas en inglés) [21]. En general, hay una escasez de ensayos clínicos con resultados beneficiosos y se requieren más estudios para cuantificar el impacto en diferentes tipos de cáncer. Desde el punto de vista del mecanismo, aún queda por describir en modelos tumorales preclínicos cómo los antagonistas de CCR2 remodelan el TME y cómo activan la inmunidad antitumoral con respecto a la inmunomodulación celular. Además, se espera el desarrollo de una selección y combinación optimizadas de quimioterapias estándar para el direccionamiento a TAM con radioterapia o inmunoterapia [22].
 40
 45

La presente divulgación aborda estas necesidades y proporciona también ventajas relacionadas.

Breve resumen

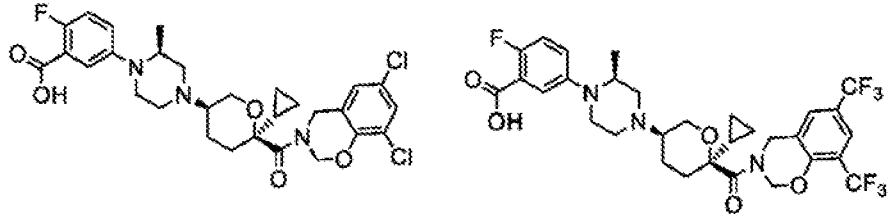
La presente invención proporciona antagonistas de CCR-2 para su uso en un método para tratar el linfoma cutáneo de linfocitos T (CTCL, por sus siglas en inglés), comprendiendo dicho método la administración de una cantidad eficaz de dicho antagonista de CCR2 que tiene la

55 fórmula I

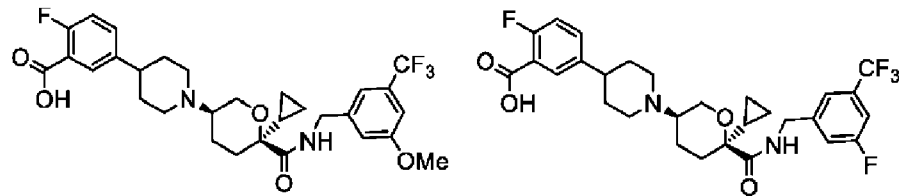


donde cada variable se describe a continuación.

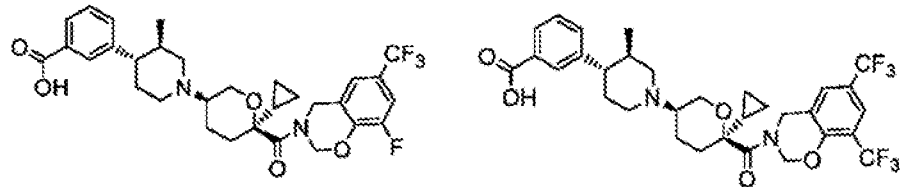
En algunas realizaciones, el antagonista de CCR2 tiene la fórmula seleccionada del grupo que consiste en



5

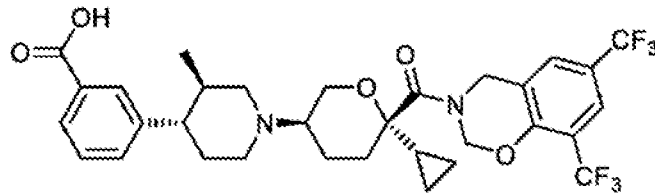


10



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, el antagonista de CCR2 tiene la fórmula



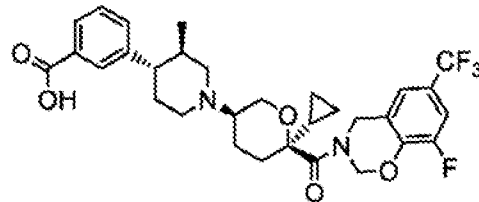
15

(Compuesto 1).

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, el antagonista de CCR2 tiene la fórmula

20

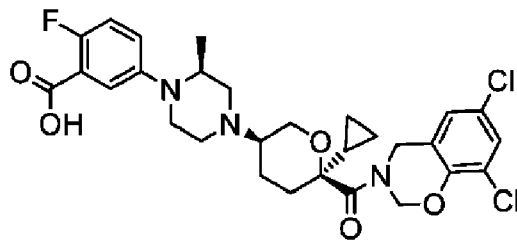


(Compuesto 2).

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, el antagonista de CCR2 tiene la fórmula

25



(Compuesto 3).

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 Breve descripción de los dibujos

Figura 1A-C. La administración oral del Compuesto 1 inhibe el crecimiento tumoral en el modelo de ratón MBL2/DNFB. (A) Esquema del régimen de tratamiento. El Compuesto 1 se suministra por vía oral a razón de 20 o 60 mg/kg al día durante dos semanas. Los ratones se sacrifican el día 15 para examinar los tumores de oreja. Se sacrifican ratones adicionales el día 3 o el día 7 para determinar respuestas terapéuticas más tempranas. (B) Examen de tumores de oreja en ratones MBL2/DNFB que fueron tratados con dos dosis diferentes del Compuesto 1 y vehículo durante dos semanas. Se muestra una oreja representativa de cada grupo de 8. (C) El grosor y el peso de la oreja se miden inmediatamente después de la eutanasia el día 15 (*: $p \leq 0,05$, ***: $p \leq 0,001$).

Figura 2A-B. La administración por vía oral del Compuesto 1 tiene una absorción dependiente de la dosis y es bien tolerada en ratones. (A) Se administró a los ratones una dosis oral diaria del Compuesto 1 en una concentración más baja (20 mg/kg al día) o una concentración más alta (60 mg/kg al día) durante diez días consecutivos. El analista químico detectó la concentración plasmática del Compuesto 1 24 horas después de la última dosis. (B) Se registró el peso corporal de los mismos grupos de ratones en el panel (A) antes y después de la última administración oral ($n = 4$ por grupo). El análisis estadístico se realiza mediante ANOVA bidireccional en GraphPad PRISM (GraphPad Software, San Diego, CA).

Figura 3A-C. El Compuesto 1 se dirige específicamente a los macrófagos, pero no a los neutrófilos. (A, B) Los macrófagos, definidos por las poblaciones de células CD11b+/F4/80+ en el análisis de flujo, se presentaron en porcentaje o en números absolutos en el TME de la oreja después de solo dos dosis diarias de Compuesto 1 (las dosificaciones se indican en la figura, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ frente al control de vehículo). (C) Suspensión de células individuales de los mismos tejidos que en (A) se tiñó con anticuerpos para CD11b, F4/80, CCR2, Ly6G y Ly6C. Las células seleccionadas en CD11b se analizaron más a fondo para diferenciar las subpoblaciones. Los círculos de color negro indican las células que son la diana del Compuesto 1. Los círculos de línea discontinua indican las células que no están bloqueadas por el Compuesto 1.

Figura 4A-C. La inflamación aumentada está asociada con el antagonismo de CCR2 por el Compuesto 1 en el microambiente tumoral. (A, B) Se recogieron tejidos de la oreja de ratones tratados con el Compuesto 1 (60 mg/kg) o vehículo el día 7. Se mostraron imágenes representativas de secciones HE y tinción IHC con anti F4/80 para los tejidos de la oreja del grupo tratado con el Compuesto 1 y el vehículo. (C) Las orejas del día 7 también se analizaron por citometría de flujo para cuantificar los números de las dos principales subpoblaciones mieloides en TME con anticuerpos para CD11b, F4/80 y Ly6G.

Figura 5A-C. El tratamiento con el Compuesto 1 alteró la expresión de citocinas y biomarcadores producidos a partir del TME. Se realizó una RT-PCR cuantitativa para los tejidos de la oreja recogidos el día 7. Se detectan selectivamente los genes que participan en la inflamación del cáncer y la comunicación inmunitaria. Se realiza una expresión comparativa entre los grupos tratados con el Compuesto 1 y el vehículo. (A) Muestra citocinas inmunoestimulantes y marcadores de activación citotóxica; (B) muestra citocinas proinflamatorias; y (C) muestra quimioatrayentes de neutrófilos y biomarcadores. Los valores de expresión génica están normalizados con respecto a la expresión endógena de GAPDH (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n = 3$ ratones por grupo).

Figura 6. El tratamiento con el Compuesto 1 alteró la expresión de citocinas y biomarcadores producidos a partir del TME. Se realizó una RT-PCR cuantitativa para los tejidos de la oreja recogidos el día 7. Se detectan selectivamente los genes que participan en la supresión inmunitaria y la antiinflamación. Se realiza una expresión comparativa entre los grupos tratados con el Compuesto 1 y el vehículo. Los valores de expresión génica están normalizados con respecto a la expresión endógena de GAPDH ($n = 3$ ratones por grupo).

Figura 7A-E. Los linfocitos T CD8 son obligatorios en la inmunidad antitumoral mediada por antagonistas de CCR2. (A) Se recogieron tejidos tumorales de ratones sacrificados después de dos semanas de tratamiento. Los grupos son los indicados en el gráfico. Se realizó una tinción IHC con anticuerpo CD8a. Se contó el número de linfocitos T CD8 positivos tomando tres imágenes aleatorias de HPF (campo de alto aumento) en cada sección de los cuatro ratones por grupo. (B) Esquema para neutralizar los linfocitos T CD8 junto con el tratamiento con el Compuesto 1.

Se administró un anticuerpo neutralizante anti CD8 o IgG2a de rata mediante inyección intraperitoneal un día antes de la inoculación del tumor MBL2, seguido de una segunda dosis después de 7 días. Se examinó la formación del tumor dos semanas después del tratamiento con el Compuesto 1 o el vehículo. (C) Los ratones tratados en el experimento (B) se sacrificaron el día 3 para el análisis del flujo de los ganglios linfáticos de drenaje cervical con el fin de determinar el efecto del agotamiento de CD8 (tres ratones por grupo). (D) Los ratones se sacrificaron el día 15 después de las dos semanas de tratamiento con el Compuesto 1/vehículo con o sin neutralización de linfocitos T CD8. Se mide el grosor de la oreja para determinar el tamaño del tumor actual. (E) También se miden los ganglios linfáticos de drenaje para determinar la metástasis del ganglio linfático (n = 4).

Figura 8A-D. El Compuesto 1 y el anti PD1 sinergizan el efecto antitumoral en tumores MBL2. (A) Se realizó una qRT-PCR para comparar la expresión de PD1 y PD-L1, respectivamente, en tumores MBL2 formados en la piel de la oreja en comparación con células MBL2 cultivadas *in vitro*. (B) Esquema para combinar el tratamiento con anti PD1 con el Compuesto 1 o el control de vehículo. (C) Los bazos de los ratones después de dos semanas de tratamiento se procesaron para la suspensión de células individuales seguida de tinción intracelular para el análisis de flujo (se muestra un gráfico de flujo representativo de cada grupo). (D) Los tumores de oreja se examinaron en ratones sacrificados después de dos semanas de tratamiento. Se muestra una fotografía representativa de la oreja de cada grupo (* p <0,05, n = 8 ratones por grupo). La línea discontinua en el gráfico de barras del grosor de la oreja indica un límite entre una capacidad positiva y una negativa para la formación de tumores.

Figura 9A-B. El anti PD-L1 inhibe el crecimiento del tumor MBL2/DNFB en las orejas de ratón. Se administró anti PD-L1 (BioXcell, 150 ug por ratón, tres veces por semana IP) a partir del mismo día de la implantación del tumor MBL2. Los ratones se sacrificaron después de dos semanas de tratamiento. Se registraron el tamaño y el peso de los tumores de las orejas. (A) Se muestran imágenes de dos grupos de ratones tratados con anti PD-L1 o con control de PBS. (B) Se midieron el grosor y el peso de las orejas (* p <0,05, ** p <0,01, n = 4 ratones por grupo)

Descripción detallada de la invención

La invención se define en las reivindicaciones.

I. General

La presente divulgación se basa, en parte, en el hallazgo sorprendente e inesperado de que un antagonista de CCR2 se puede usar para tratar eficazmente el linfoma cutáneo de linfocitos T (CTCL).

Los linfomas cutáneos de linfocitos T (CTCL) son un grupo heterogéneo de neoplasias de linfocitos T que se localizan principalmente en la piel y que comprenden los dos tipos más comunes, la micosis fungoide (MF) y el síndrome de Sézary (SS) [23]. La evidencia de inflamación de la piel es común en los CTCL [24, 25]. En la piel lesionada de MF o SS, aumenta la cantidad de macrófagos CD163-positivos y la expresión del ligando 18 de quimiocina CC por los macrófagos promueve un microambiente dominante de linfocitos T auxiliares (Th)2 al inducir la quimiotaxis de las células Th2. Tal microambiente tumoral se considera un factor determinante para el comportamiento clínico progresivo de los CTCL [26, 27]. Al dirigirse a los TAM en el TME con un antagonista de CCR2, se proporcionan estrategias alternativas para pacientes con CTCL en etapa tumoral, donde las buenas opciones terapéuticas son limitadas.

Informes anteriores han establecido un modelo de linfoma de linfocitos T de alto grado en la piel de ratón mediante la inyección de células de linfoma T MBL2 en la piel de la oreja seguida de la aplicación de 2,4-dinitro-1-fluorobenceno (DNFB) [28]. La formación de tumores en este modelo depende estrictamente de la aplicación tópica de DNFB, que desencadena una respuesta inflamatoria de la piel que promueve la formación de tumores. En el presente documento, se demuestra que el Compuesto 1, un antagonista de CCR2 de molécula pequeña, agota los macrófagos en el TME en la oreja, lo que conduce a una producción significativamente mayor de citocinas antitumorales, tales como IFN- γ . La administración de un antagonista de CCR2 condujo a la expansión de linfocitos T CD8 y, en consecuencia, disminuyó el crecimiento de células tumorales implantadas. Este mecanismo está respaldado por la observación de que este efecto antitumoral se puede anular mediante la administración simultánea de un anticuerpo monoclonal neutralizante CD8. Finalmente, se demuestra que la eficacia del tratamiento del antagonista de CCR2 aumenta mediante la administración conjunta de un anticuerpo anti PD1. En conjunto, este informe demuestra que bloquear el reclutamiento de TAM en el TME puede ser una estrategia eficaz para tratar el linfoma de linfocitos T y, más generalmente, los tumores sólidos.

II. Abreviaturas y definiciones

CTCL (linfoma cutáneo de linfocitos T); MF (micosis fungoide); microambiente tumoral (TME); DNFB (2,4-dinitro-1-fluorobenceno); PD-1 (ligando de muerte programada 1); qRT-PCR (PCR cuantitativa en tiempo real); TAM (macrófagos asociados a tumores); IP (intraperitoneal); mAb (anticuerpo monoclonal); IHC (inmunohistoquímica).

El término "alquilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, significa, a menos que se indique lo contrario, un radical hidrocarburo de cadena lineal o ramificada, que tiene el número de átomos de carbono designado (es decir, C₁₋₈ significa de uno a ocho carbonos). Los ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-

y el uno o más átomos de nitrógeno están opcionalmente cuaternizados. Un grupo heteroarilo se puede unir al resto de la molécula a través de un heteroátomo. Los ejemplos no limitantes de grupos arilo incluyen fenilo, naftilo y bifenilo, mientras que los ejemplos no limitantes de grupos heteroarilo incluyen piridilo, piridazinilo, pirazinilo, pirimidinilo, triazinilo, quinolinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinolinilo, ftalaziniilo, benzotriazinilo, purinilo, bencimidazolilo, benzopirazolilo, benzotriazolilo, benzoisoxazolilo, isobenzofurilo, isoindolilo, indolizínilo, benzotriazinilo, tienopiridinilo, tienopirimidinilo, pirazolopirimidinilo, imidazopiridinas, benzotiazolilo, benzofuranilo, benzotienilo, indolilo, quinolilo, isoquinolilo, isotiazolilo, pirazolilo, indazolilo, pteridinilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiadiazolilo, pirrolilo, tiazolilo, furilo, tienilo y similares. Los sustituyentes para cada uno de los sistemas anulares arilo y heteroarilo indicados anteriormente se seleccionan del grupo de sustituyentes aceptables descritos a continuación.

Por razones de brevedad, el término "arilo" cuando se usa junto con otros términos (por ejemplo, ariloxi, ariltioxi, arilalquilo) incluye anillos tanto arilo como heteroarilo, como se han definido anteriormente. Por lo tanto, el término "arilalquilo" pretende incluir aquellos radicales en los que un grupo arilo está unido a un grupo alquilo que está unido al resto de la molécula (por ejemplo, bencilo, fenetilo, piridilmetilo y similares).

Los términos anteriores (por ejemplo, "alquilo" "arilo" y "heteroarilo"), en algunas realizaciones, incluirán formas tanto sustituidas como sin sustituir del radical indicado. A continuación se proporcionan los sustituyentes preferidos para cada tipo de radical. Por razones de brevedad, los términos arilo y heteroarilo se referirán a versiones sustituidas o sin sustituir según se proporciona a continuación, mientras que el término "alquilo" y los radicales alifáticos relacionados pretenden referirse a una versión sin sustituir, salvo que se indique que está sustituida.

Los sustituyentes para los radicales alquilo (que incluyen los grupos con frecuencia denominados alquilenilo, alquenoilo, alquinilo y cicloalquilo) pueden ser una diversidad de grupos seleccionados de: -halógeno, -OR', -NR'R", -SR', -SiR'R"R"', -OC(O)R', -C(O)R', -CO₂R', -CONR'R", -OC(O)NR'R", -NR"C(O)R', -NR'-C(O)NR"R"', -NR"C(O)₂R', -NH-C(NH₂)=NH, -NR'C(NH₂)=NH, -NH-C(NH₂)=NR', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R", -NR'S(O)₂R', -CN y -NO_z en un número que varía de cero a (2 m'+1), donde m' es el número total de átomos de carbono en dicho radical. R', R" y R"' se refieren cada uno independientemente a hidrógeno, alquilo C₁₋₈ sin sustituir, heteroarilo sin sustituir, arilo sin sustituir, arilo sustituido con 1-3 halógenos, alquilo C₁₋₈ sin sustituir, grupos alcoxi C₁₋₈ o tioalcoxi C₁₋₈, o grupos arilalquilo C₁₋₄ sin sustituir. Cuando R' y R" están unidos al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 3, 4, 5, 6 o 7 miembros. Por ejemplo, -NR'R" pretende incluir 1-pirrolidinilo y 4-morfolinilo. El término "acilo", como se usa por sí mismo o como parte de otro grupo, se refiere a un radical alquilo en donde dos sustituyentes en el carbono que está más cerca del punto de unión del radical se reemplazan por el sustituyente =O (por ejemplo, -C(O)CH₃, -C(O)CH₂CH₂OR' y similares).

De manera similar, los sustituyentes para los grupos arilo y heteroarilo son variados y generalmente se seleccionan de: -halógeno, -OR', -OC(O)R', -NR'R", -SR', -R', -CN, -NO₂, -CO₂R', -CONR'R", -C(O)R', -OC(O)NR'R", -NR"C(O)R', -NR"C(O)₂R', -NR'-C(O)NR"R"', -NH-C(NH₂)=NH, -NR'C(NH₂)=NH, -NH-C(NH₂)=NR', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R", -NR'S(O)₂R', -N₃, perfluoroalcoxi (C₁-C₄) y perfluoroalquilo (C₁-C₄), en un número que varía de cero al número total de valencias abiertas en el sistema anular aromático; y donde R', R" y R"' se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₆, alquenoilo C₂₋₈, alquinilo C₂₋₈, arilo y heteroarilo sin sustituir, (arilo sin sustituir)-alquilo C₁₋₄ y ariloxi-alquilo C₁₋₄ sin sustituir. Otros sustituyentes adecuados incluyen cada uno de los sustituyentes arilo anteriores unidos a un átomo anular mediante un enlace alquilenilo de 1-4 átomos de carbono.

Dos de los sustituyentes de los átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo pueden reemplazarse opcionalmente por un sustituyente de fórmula -T-C(O)-(CH₂)_q-U-, en donde T y U son independientemente -NH-, -O-, -CH₂- o un enlace sencillo, y q es un número entero de 0 a 2. Como alternativa, dos de los sustituyentes de los átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo pueden reemplazarse opcionalmente por un sustituyente de fórmula -A-(CH₂)_r-B-, en donde A y B son independientemente -CH₂-, -O-, -NH-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂NR'- o un enlace sencillo, y r es un número entero de 1 a 3. Uno de los enlaces sencillos del nuevo anillo formado de este modo puede reemplazarse opcionalmente por un doble enlace. Como alternativa, dos de los sustituyentes en los átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo pueden reemplazarse opcionalmente por un sustituyente de fórmula -(CH₂)_s-X-(CH₂)_t-, donde s y t son independientemente números enteros de 0 a 3 y X es -O-, -NR'-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂- o -S(O)₂NR'-. El sustituyente R' en -NR'- y -S(O)₂NR'- se selecciona de hidrógeno o alquilo C₁₋₆ sin sustituir.

Como se usa en el presente documento, el término "heteroátomo" pretende incluir oxígeno (O), nitrógeno (N), azufre (S) y silicio (Si).

Para los compuestos proporcionados en el presente documento, un enlace que se dibuja desde un sustituyente (típicamente un grupo R) al centro de un anillo aromático (por ejemplo, benceno, piridina y similares) se entenderá que se refiere a un enlace que proporciona una conexión en cualquiera de los vértices disponibles del anillo aromático. En algunas realizaciones, la representación también incluirá una conexión en un anillo que está condensado al anillo aromático. Por ejemplo, un enlace dibujado en el centro de la porción de benceno de un indol indicará un enlace a cualquier vértice disponible de las porciones de anillo de seis o cinco miembros del indol.

La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" pretende incluir las sales de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, dependiendo de los sustituyentes particulares que se

encuentren en los compuestos descritos en el presente documento. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funcionalidades relativamente ácidas, se pueden obtener sales de adición de bases poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, pura o en un disolvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales procedentes de bases inorgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen de aluminio, amonio, calcio, cobre, férricas, ferrosas, litio, magnesio, mangánicas, manganosas, potasio, sodio, cinc y similares. Las sales procedentes de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, incluyendo aminas sustituidas, aminas cíclicas, aminas de origen natural y similares, tales como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperadina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina y similares. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funcionalidades relativamente básicas, se pueden obtener sales de adición de ácidos poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, pura o en un disolvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen las procedentes de ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrogenocarbónico, fosfórico, monohidrogenofosfórico, dihidrogenofosfórico, sulfúrico, monohidrogenosulfúrico, yodhídrico o fosforoso, y similares, así como las sales procedentes de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos como acético, propiónico, isobutírico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, mandélico, ftálico, bencenosulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, metanosulfónico y similares. También se incluyen sales de aminoácidos, tales como arginato y similares, y sales de ácidos orgánicos como ácido glucurónico o galactunórico y similares (véase, por ejemplo, Berge, S.M., *et al.*, "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19). Determinados compuestos específicos de la presente invención contienen funcionalidades tanto básicas como ácidas que permiten que los compuestos se conviertan en sales de adición de bases o ácidos.

Las formas neutras de los compuestos pueden regenerarse poniendo en contacto la sal con una base o un ácido y aislando el compuesto precursor de la manera convencional. La forma precursora del compuesto difiere de las diversas formas de sal en determinadas propiedades físicas, tales como la solubilidad en disolventes polares, pero, por lo demás, las sales son equivalentes a la forma precursora del compuesto para los fines de la presente invención.

Determinados compuestos de la presente invención poseen átomos de carbono asimétricos (centros ópticos) o dobles enlaces; los racematos, diastereómeros, isómeros geométricos, regioisómeros e isómeros individuales (por ejemplo, enantiómeros separados) están todos destinados a estar incluidos dentro del alcance de la presente invención. Cuando en el presente documento se proporcionan compuestos con una estereoquímica identificada (indicada como R o S, o con designaciones de enlaces discontinuos o en cuña), un experto en la técnica entenderá que estos compuestos están sustancialmente libres de otros isómeros (por ejemplo, al menos un 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % y hasta un 100 % libres del otro isómero).

Como se usa en el presente documento, la expresión "tumor sólido" se refiere a una neoplasia maligna. Un tumor sólido es generalmente una masa localizada de tejido; sin embargo, los tumores sólidos pueden invadir el tejido circundante y hacer metástasis en nuevas partes del cuerpo. Los tumores sólidos pueden ser benignos (no cancerosos) o malignos (cancerosos). Los diferentes tipos de tumores sólidos se nombran por el tipo de células que los forman. Los ejemplos de tumores sólidos son sarcomas, carcinomas y linfomas. La expresión "tumor sólido" no incluye leucemia (cánceres de la sangre). Los "sarcomas" son cánceres que surgen de los tejidos conectivos o de soporte, tales como los huesos o los músculos. Los "carcinomas" son cánceres que surgen de las células glandulares y epiteliales, que recubren los tejidos corporales. Los "linfomas" son cánceres de los órganos linfoides, tales como los ganglios linfáticos, el bazo y el timo. Como estas células se producen en la mayoría de los tejidos del cuerpo, los linfomas pueden desarrollarse en una amplia diversidad de órganos. Los tumores sólidos de ejemplo incluyen, pero sin limitación, sarcomas y carcinomas tales como fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiomasarcoma, rabdomiosarcoma, carcinoma de colon, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma escamocelular, carcinoma basocelular, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, carcinoma hepatocelular, carcinoma de las vías biliares, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilm, cáncer de cuello del útero, tumor testicular, carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón microcítico, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioblastoma multiforme, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, linfoma cutáneo de linfocitos T (CTCL), melanoma, neuroblastoma y retinoblastoma.

III. Descripción detallada de las realizaciones

La invención se define en las reivindicaciones.

A. Compuestos para uso en terapia

La presente invención se refiere a compuestos para su uso en el tratamiento del linfoma, el linfoma cutáneo de

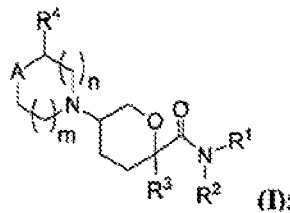
linfocitos T (CTCL). Como se ha descrito anteriormente, los linfomas cutáneos de linfocitos T (CTCL) son un grupo heterogéneo de neoplasias de linfocitos T localizadas principalmente en la piel.

5 El CTCL se divide comúnmente en cuatro estadios separados (incluidas los subestadios). El CTCL en estadio temprano (Estadio IA e IB) incluye la piel cubierta de parches o placas rojas. La diferencia entre el Estadio IA y el Estadio IB es la cantidad de piel afectada por manchas o placas rojas. En el Estadio IIA, además de los parches/placas de la piel, los ganglios linfáticos de los individuos afectados están agrandados, pero el cáncer no se ha diseminado a los ganglios linfáticos. El Estadio IIB es el estadio donde se encuentran uno o más tumores en la piel (es decir, "CTCL en estadio tumoral"), los ganglios linfáticos pueden estar agrandados, pero el cáncer no se ha diseminado a los ganglios linfáticos. En el CTCL en Estadio III, casi toda la piel está enrojecida, incluyendo los parches, las placas y/o los tumores, los ganglios linfáticos pueden estar agrandados, pero el cáncer no se ha diseminado a los ganglios linfáticos. En el Estadio IV, el cáncer se ha diseminado a los ganglios linfáticos o a otros órganos.

15 La presente divulgación contempla el tratamiento de cualquiera de los estadios I-IV con los métodos descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, los sujetos tienen CTCL en estadio temprano (es decir, Estadio IA, IB o IIA). En algunas realizaciones, los sujetos con CTCL están en el Estadio IIB o en un estadio más avanzado (es decir, el "CTCL en estadio tumoral"). Por lo tanto, en algunas realizaciones, al sujeto se le diagnostica CTCL en Estadio IIB o una forma más avanzada de CTCL. En algunas realizaciones, al sujeto se le diagnostica CTCL en Estadio IIB.

20 En algunas realizaciones, el CTCL es un subtipo específico de CTCL. En alguna realización, el CTCL es micosis fungoide (MF). En algunas realizaciones, el CTCL es síndrome de Sézary (SS).

El antagonista de CCR2 es un antagonista de molécula pequeña de CCR2 que tiene la fórmula (I):



25 o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, estereoisómero o rotámero del mismo; en donde

30 A es C(R⁵)(R⁶) o N(R⁵)
 los subíndices m y n son cada uno independientemente números enteros de 0 a 2, y m + n es ≤3;
 R¹ se selecciona del grupo que consiste en arilo, aril-alquilo C₁₋₄, heteroarilo y heteroaril-alquilo C₁₋₄, en donde la porción heteroarilo tiene de 1-3 heteroátomos como miembros anulares seleccionados de N, O y S; y en donde dichos grupos o porciones arilo y heteroarilo están sustituidas opcionalmente con de 1 a 5 sustituyentes R^x;
 R² se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₈, cicloalquil C₃₋₈-alquilo C₁₋₄, arilo, aril-alquilo C₁₋₄, heteroarilo y heteroaril-alquilo C₁₋₄, en donde la porción heteroarilo tiene de 1-3 heteroátomos como miembros anulares seleccionados de N, O y S; y en donde dichos grupos o porciones arilo y heteroarilo están sustituidas opcionalmente con de 1 a 4 sustituyentes R^x;
 u, opcionalmente, R¹ y R² se combinan con el átomo de nitrógeno al que están unidos cada uno para formar un anillo monocíclico o bicíclico-heterocíclico condensado o heteroarilo de 6 a 11 miembros, en donde -NR¹R² está opcionalmente sustituidos además con de 1 a 4 sustituyentes R^x;
 R³ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₈ y cicloalquil C₃₋₈-alquilo C₁₋₄, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes R^y;
 R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈ opcionalmente sustituido con de 1 a 2 R^y, y -CO₂H;
 R⁵ se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈, alcoxi C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₈, cicloalquiloxi C₃₋₈, cicloalquil C₃₋₈-alquilo C₁₋₄, alquilamino C₁₋₈, di-alquilamino C₁₋₈, arilo, ariloxi, arilamino, aril-alquilo C₁₋₄, heteroarilo, heteroariloxi, heteroarilamino y heteroaril-alquilo C₁₋₄, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con de 1 a 5 sustituyentes R^z;
 R⁶ se selecciona del grupo que consiste en H, F, OH, alquilo C₁₋₈ y alcoxi C₁₋₈, en donde los grupos alquilo C₁₋₈ y alcoxi C₁₋₈ están opcionalmente sustituidos con de 1 a 3 sustituyentes R^z;
 u, opcionalmente, R⁵ y R⁶ se unen para formar un anillo cicloalquilo espirocíclico de 5 o 6 miembros que está opcionalmente insaturado y tiene un grupo arilo condensado que está opcionalmente sustituido con de 1 a 4 sustituyentes R^z;
 cada R^x se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -CN, -R^c, -CO₂R^a, -CONR^aR^b, -C(O)R^a, -OC(O)NR^aR^b, -NR^bC(O)R^a, -NR^bC(O)₂R^c, -NR^a-C(O)NR^aR^b, -NR^aC(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -OR^a, -O-X¹-OR^a, -O-X¹-NR^aR^b, -O-X¹-CO₂R^a, -O-X¹-CONR^aR^b, -X¹-OR^a, -X¹-NR^aR^b, -X¹-CO₂R^a, -X¹-CONR^aR^b, -SF₅, -S(O)₂NR^aR^b y arilo o heteroarilo de 5 o 6 miembros, en donde cada X¹ es un alquilenno C₁₋₄; cada uno de R^a y R^b se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₈ y haloalquilo C₁₋₈ o, cuando se unen al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de cinco o seis miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales como miembros anulares seleccionados de N, O o S, y opcionalmente sustituidos con

oxo; cada R^c se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C_{1-8} , haloalquilo C_{1-8} y cicloalquilo C_{3-6} ; y opcionalmente, cuando dos sustituyentes R^x están en átomos adyacentes, se combinan para formar un anillo carbocíclico condensado de cinco o seis miembros, y en donde los grupos arilo o heteroarilo están opcionalmente sustituidos con 1-3 miembros seleccionados de halógeno, hidroxilo, alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} , haloalquilo C_{1-4} y haloalcoxi C_{1-4} ;

cada R^y se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, $-CN$, $-R^f$, $-CO_2R^d$, $-CONR^dR^e$, $-C(O)R^d$, $-OC(O)NR^dR^e$, $-NR^eC(O)R^d$, $-NR^eC(O)_2R^f$, $-NR^dC(O)NR^dR^e$, $-NR^dC(O)NR^dR^e$, $-NR^dR^e$, $-OR^d$ y $-S(O)_2NR^dR^e$; en donde cada R^d y R^e se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C_{1-8} y haloalquilo C_{1-8} o, cuando se unen al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de cinco o seis miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales como miembros anulares seleccionados de N, O o S; cada R^f se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C_{1-8} , haloalquilo C_{1-8} y cicloalquilo C_{3-6} ;

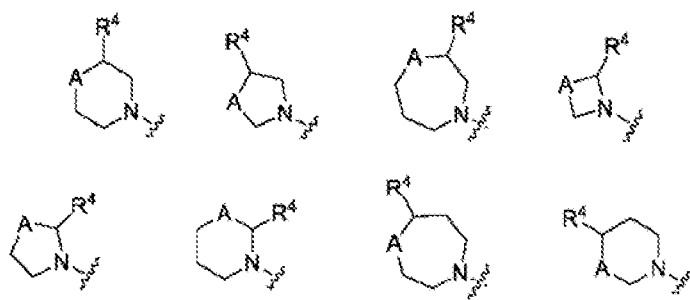
cada R^z se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, $-CN$, $-R^i$, $-CO_2R^g$, $-CONR^gR^h$, $-C(O)R^g$, $-OC(O)NR^gR^h$, $-NR^hC(O)R^g$, $-NR^hC(O)_2R^i$, $-NR^gC(O)NR^gR^h$, $-NR^gR^h$, $-OR^g$, $-S(O)_2NR^gR^h$, $-X^1-R^j$, $-X^1-NR^gR^h$, $-X^1-CONR^gR^h$, $-X^1-NR^hC(O)R^g$, $-NHR^j$, $-NHCH_2R^j$ y tetrazol; en donde cada R^g y R^h se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-6} y haloalquilo C_{1-8} , o cuando se unen al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de cinco o seis miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales como miembros del anillo seleccionados de N, O o S y está opcionalmente sustituido con uno o dos oxo; cada R^i se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C_{1-8} , haloalquilo C_{1-8} y cicloalquilo C_{3-6} ; y cada R^j se selecciona del grupo que consiste en cicloalquilo C_{3-6} , pirrolinilo, piperidinilo, morfolinilo, tetrahidrofurano y tetrahidropirano.

Se entenderá que cuando R^1 y R^2 se combinan con el átomo de nitrógeno al que están unidos cada uno para formar un anillo monocíclico o bicíclico-heterocíclico condensado de 6 a 11 miembros, el anillo monocíclico o bicíclico-heterocíclico condensado de 6 a 11 miembros abarca anillos monocíclicos heterocíclicos condensados con un anillo arilo o heteroarilo.

En la fórmula I, el sustituyente R^3 , en una realización, se selecciona entre el grupo que consiste en H, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, ciclopropilo, ciclopropilmetilo, ciclobutilo y ciclobutilmetilo.

En las descripciones en el presente documento, un experto en la técnica entenderá que la línea ondulada que cruza un enlace tiene como objetivo identificar el punto de unión de un sustituyente o grupo determinado al resto de la molécula.

Como se ha indicado anteriormente, los subíndices m y n son números enteros seleccionados de 0, 1 y 2, y $m + n \leq 3$. Cuando el subíndice es 0, un experto en la técnica comprenderá que se pretende una estructura cíclica con un vértice anular A, pero que los vértices anulares adyacentes a cada lado de los paréntesis están unidos por un enlace. Por consiguiente, la presente invención incluye las estructuras en donde el anillo que tiene A como vértice pretende incluir:



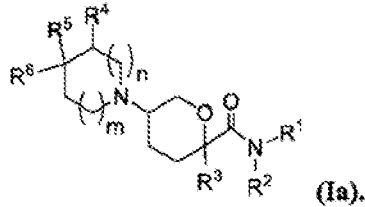
En un grupo seleccionado de realizaciones, m y n son ambos 0. En otro grupo seleccionado de realizaciones, m y n son ambos 1. Aún en otro grupo de realizaciones seleccionadas, m es 1 y n es 0. Aún en otro grupo de realizaciones, m es 1 y n es 2.

En aún otras realizaciones seleccionadas, el anillo que tiene el vértice A se representa por una fórmula seleccionada de:

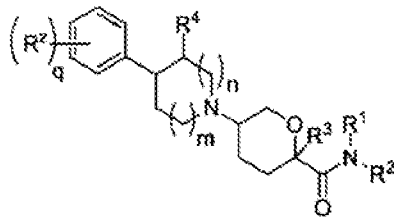




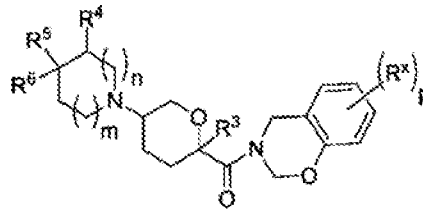
En un subgrupo de realizaciones, los compuestos de fórmula (I) se representan por:



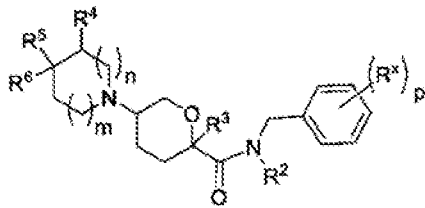
Dentro de la fórmula (Ia), se proporcionan varias realizaciones seleccionadas como las fórmulas **la1**, **la2**, **la3**, **la4** e **la5**.



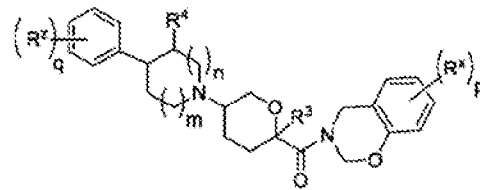
(Ia1)



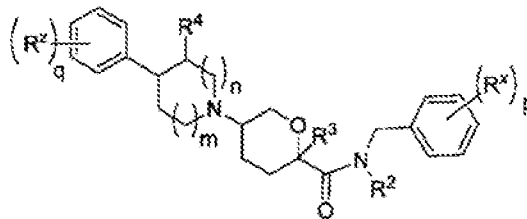
(Ia2)



(Ia3)



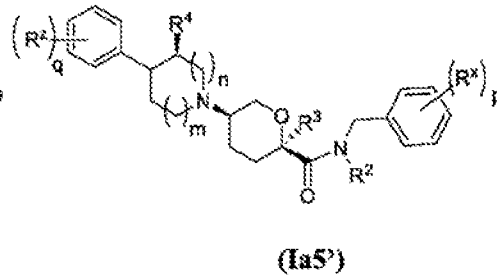
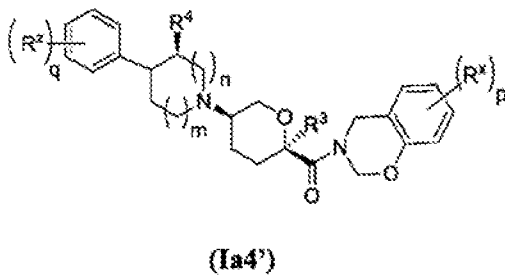
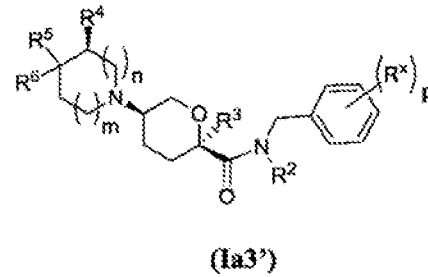
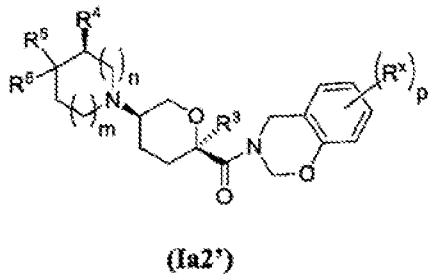
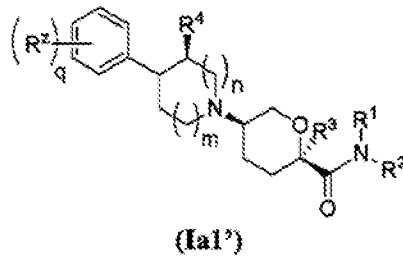
(Ia4)



(Ia5)

En cada una de las fórmulas **la**, **la1**, **la2**, **la3**, **la4** e **la5**, los sustituyentes indicados (R^1 a R^6 , R^x y R^z) y los subíndices m y n tienen los significados proporcionados anteriormente con respecto a la fórmula I. Los subíndices, p y q , tienen los siguientes significados: para **la1**, **la4** e **la5**, el subíndice q es un número entero de 0 a 5; para **la2** e **la4**, el subíndice p es un número entero de 0 a 4; y para **la3** e **la5**, el subíndice p es un número entero de 0 a 5.

En aún otras realizaciones seleccionadas, los compuestos proporcionados en el presente documento se representan por fórmulas seleccionadas de:



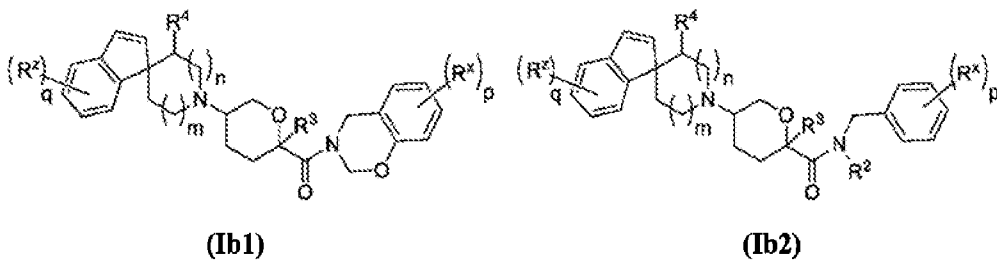
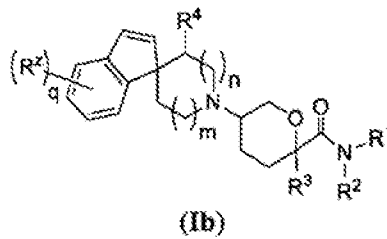
5

en donde cada compuesto está sustancialmente libre de otros estereoisómeros, y en donde los sustituyentes indicados (R^1 a R^6 , R^x y R^z) y los subíndices m y n tienen los significados proporcionados anteriormente con respecto a la fórmula I. Los subíndices, p y q , tienen los siguientes significados: para **Ia1'**, **Ia4'** e **Ia5'**, el subíndice q es un número entero de 0 a 5; para **Ia2'** e **Ia4'**, el subíndice p es un número entero de 0 a 4; y para **Ia3'** e **Ia5'**, el subíndice p es un número entero de 0 a 5.

10

En otro grupo de realizaciones de fórmula I, A es $C(R^5)(R^6)$, en donde R^5 y R^6 se combinan para formar un anillo. A continuación se proporcionan realizaciones seleccionadas:

15



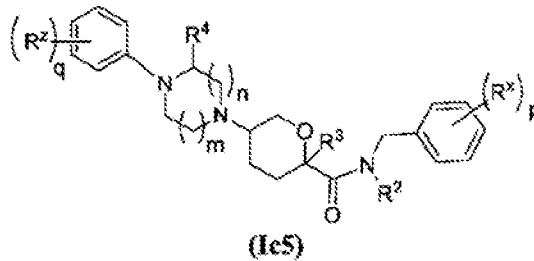
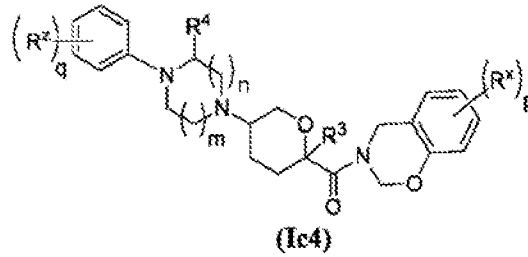
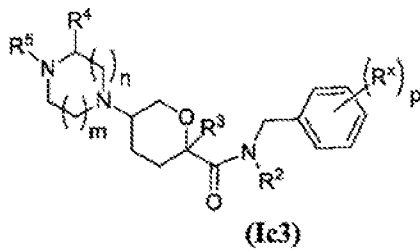
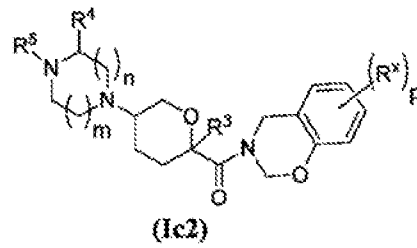
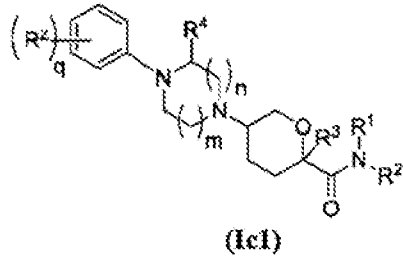
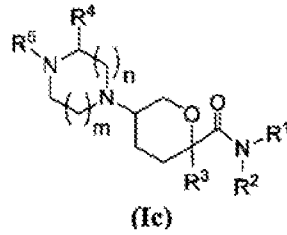
20

En cada una de las fórmulas **Ib**, **Ib1** e **Ib2**, los sustituyentes indicados (R^1 a R^6 , R^x y R^z) y los subíndices m y n tienen los significados proporcionados anteriormente con respecto a la fórmula I. Los subíndices, p y q , tienen los siguientes significados: para **Ib**, **Ib1** e **Ib2**, el subíndice q es un número entero de 0 a 5; para **Ib1**, el subíndice p es un número entero de 0 a 4; y para **Ib2**, el subíndice p es un número entero de 0 a 5.

25

En otro grupo de realizaciones de fórmula I, A es NR⁵ (véase la fórmula Ic). A continuación se proporcionan realizaciones seleccionadas:

5

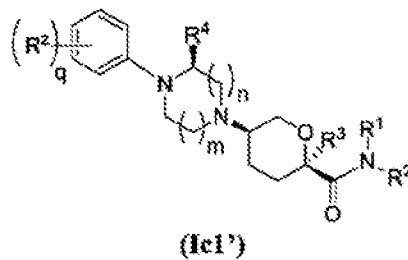


10

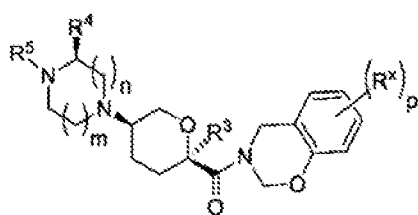
En cada una de las fórmulas Ic, Id, Ic2, Ic3, Ic4 e Ic5, los sustituyentes indicados (R¹ a R⁶, R^x y R^z) y los subíndices m y n tienen los significados proporcionados anteriormente con respecto a la fórmula I. Los subíndices, p y q, tienen los siguientes significados: para Ic1, Ic4 e Ic5, el subíndice q es un número entero de 0 a 5; para Ic2 e Ic4, el subíndice p es un número entero de 0 a 4; y para Ic3 e Ic5, el subíndice p es un número entero de 0 a 5.

15

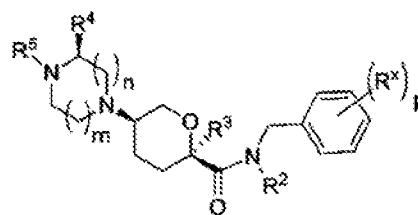
En aún otras realizaciones seleccionadas, los compuestos proporcionados en el presente documento se representan por fórmulas seleccionadas de:



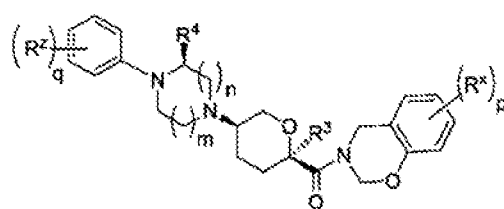
20



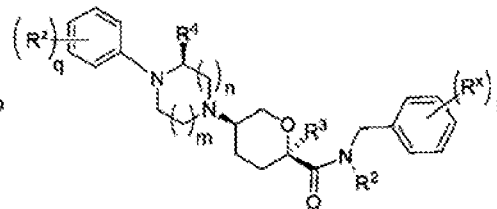
(Ic2')



(Ic3')



(Ic4')



(Ic5')

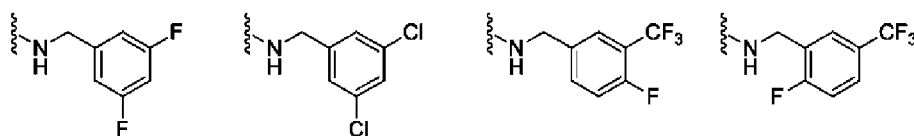
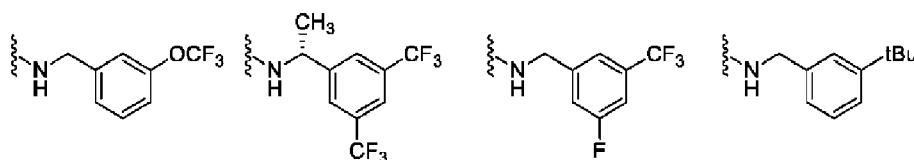
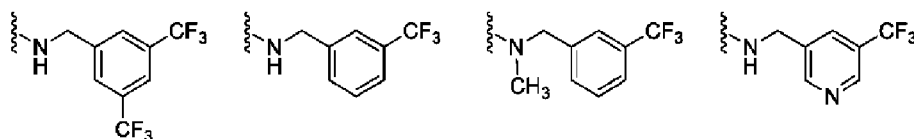
5

en donde cada compuesto está sustancialmente libre de otros estereoisómeros, y en donde los sustituyentes indicados (R^1 a R^6 , R^x y R^z) y los subíndices m y n tienen los significados proporcionados anteriormente con respecto a la fórmula I. Los subíndices, p y q , tienen los siguientes significados: para **Ic1'**, **Ic4'** e **Ic5'**, el subíndice q es un número entero de 0 a 5; para **Ic2'** e **Ic4'**, el subíndice p es un número entero de 0 a 4; y para **Ic3'** e **Ic5'**, el subíndice p es un número entero de 0 a 5.

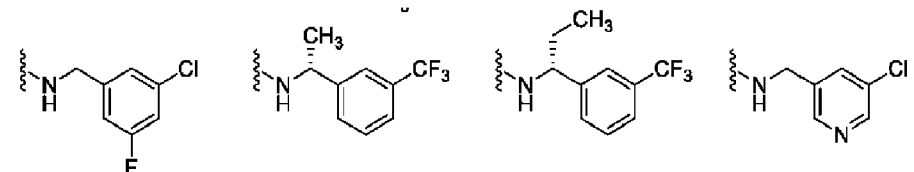
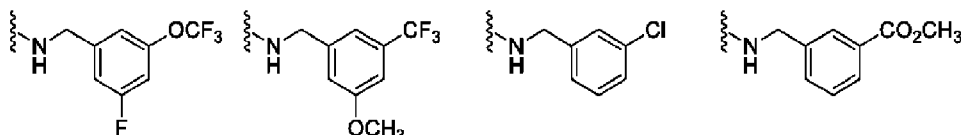
10

En otras realizaciones seleccionadas, los compuestos se proporcionan en cada uno de I, Ia, Ia1, Ia1', Ib, Ic, Ic1 e Ic1', descritos anteriormente, en donde $-N(R^1)(R^2)$ se selecciona de:

15

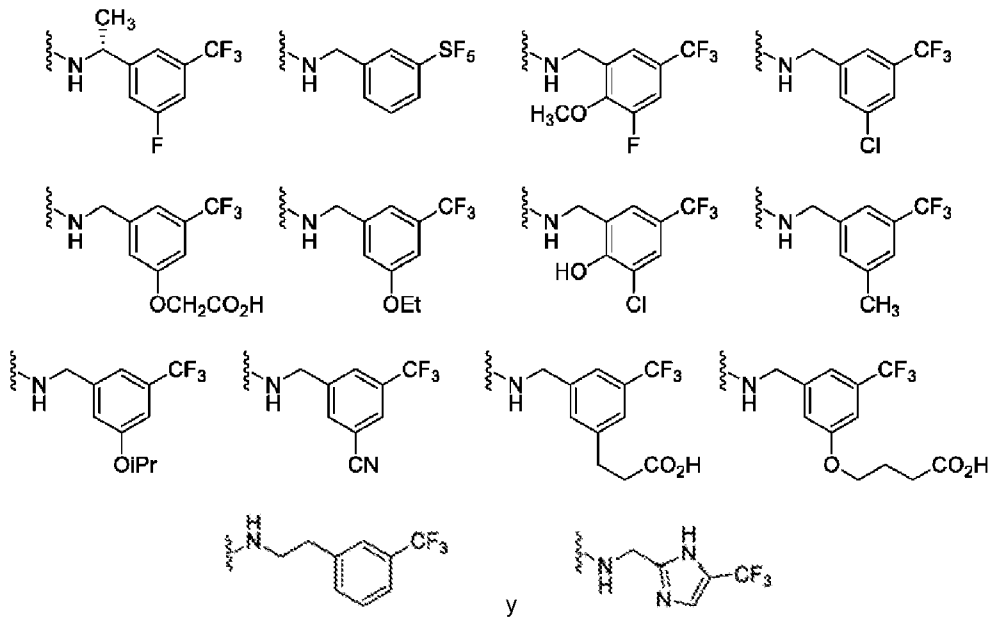


20



25

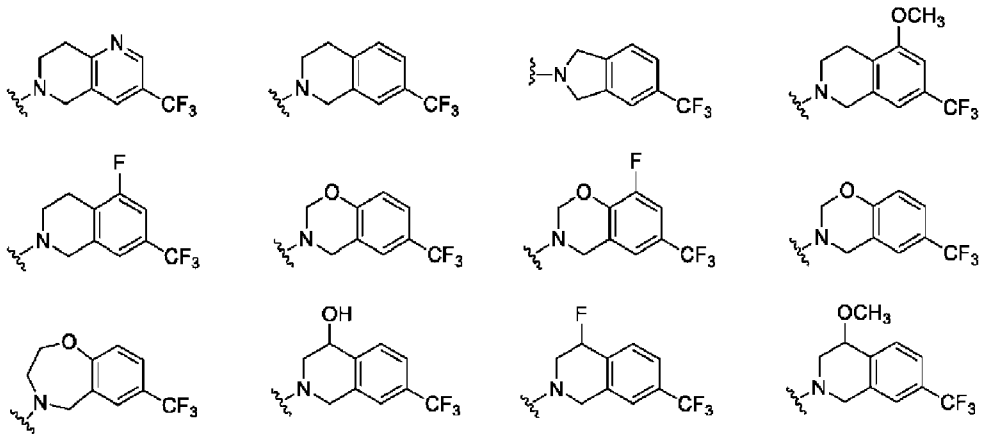
5



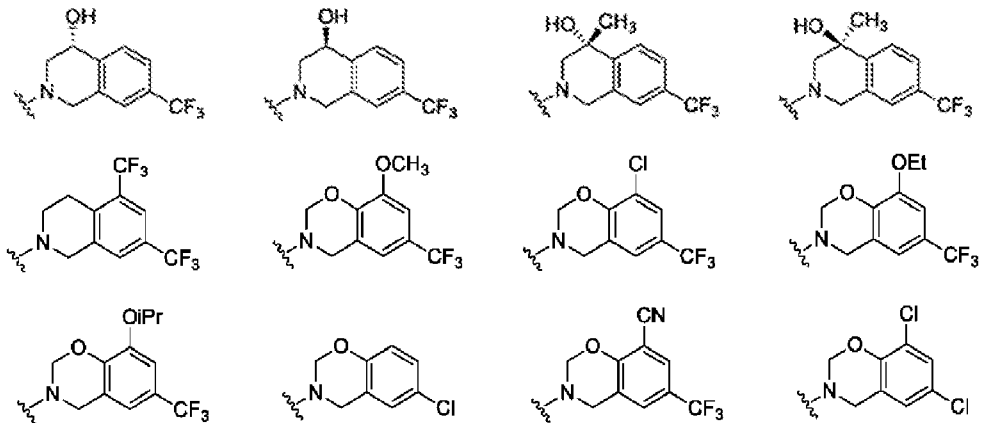
10

En aún otras realizaciones seleccionadas, se proporcionan en cada uno de I, la, la1, la1', lb, lc, lc1 y lc1', descritos anteriormente, en donde -N(R¹)(R²) se selecciona de:

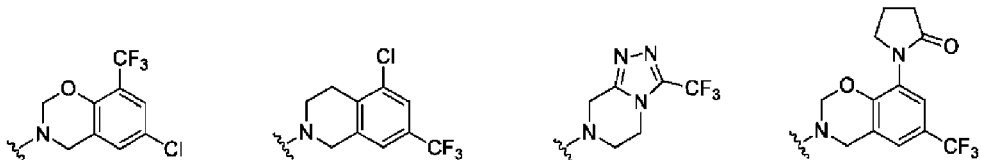
15

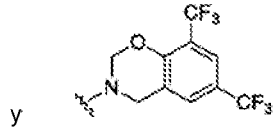


20



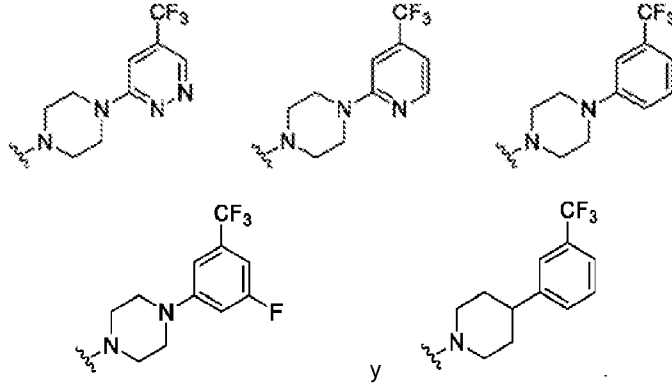
25





En otras realizaciones seleccionadas, se proporcionan en cada uno de I, **la**, **la1**, **la1'**, **lb**, **lc**, **lc1** e **lc1'**, descritos anteriormente, en donde -N(R¹)(R²) se selecciona de:

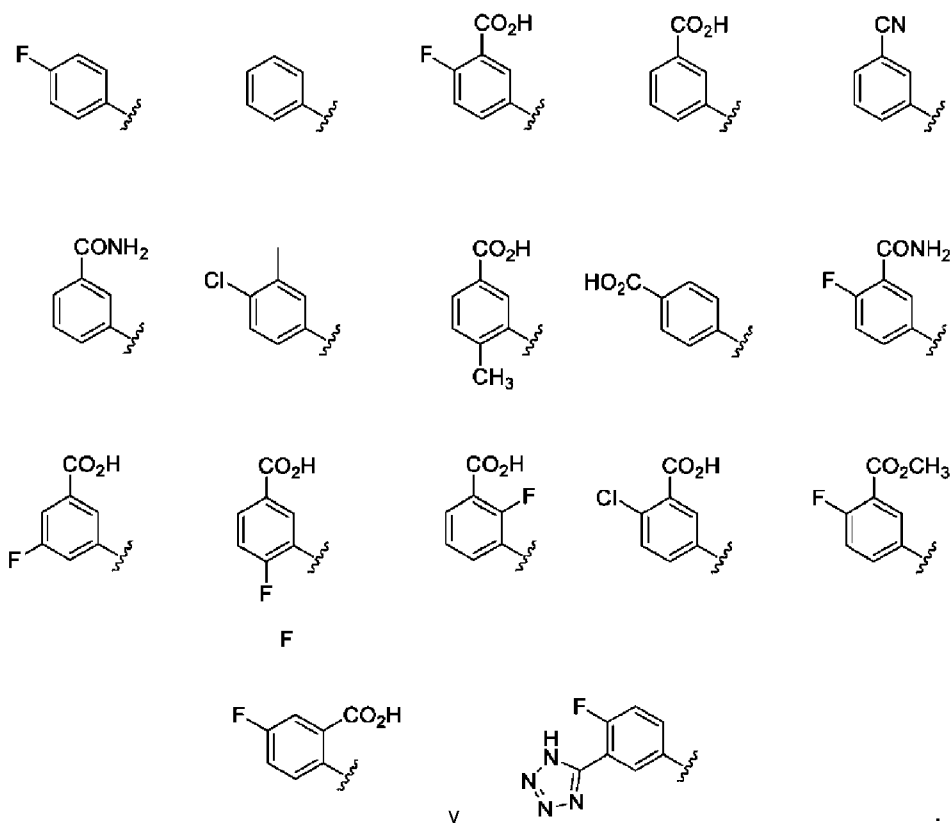
5



10 En algunas realizaciones, se proporcionan los compuestos de las fórmulas I, **la**, **la2**, **la3**, **la2'** e **la3'**, en donde A es C(R⁵)(R⁶), o se muestra en la fórmula como C(R⁵)(R⁶), en donde R⁵ se selecciona de arilo, ariloxi, arilamino, aril-alquilo C₁₋₄, heteroarilo, heteroariloxi, heteroarilamino y heteroaril-alquilo C₁₋₄, en donde los grupos o porciones arilo o heteroarilo se seleccionan de:

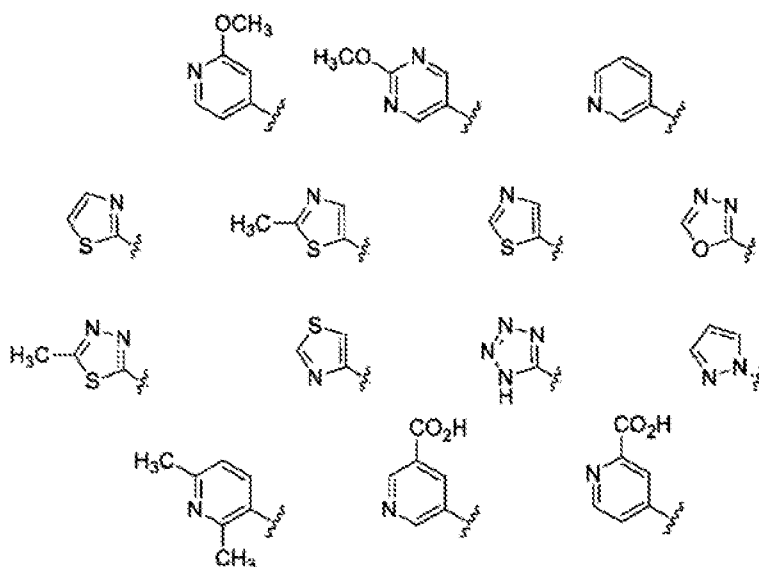
15

Grupo 1



5 En aún otras realizaciones seleccionadas, se proporcionan los compuestos de las fórmulas I, **1a**, **1a2**, **1a3**, **1a2'** e **1a3'**, en donde A es C(R⁵)(R⁶), o se muestra en la fórmula como C(R⁵)(R⁶), en donde R⁵ se selecciona de heteroarilo, heteroariloxi, heteroarilamino y heteroaril-alquilo C₁₋₄, en donde el grupo o porción heteroarilo se selecciona de:

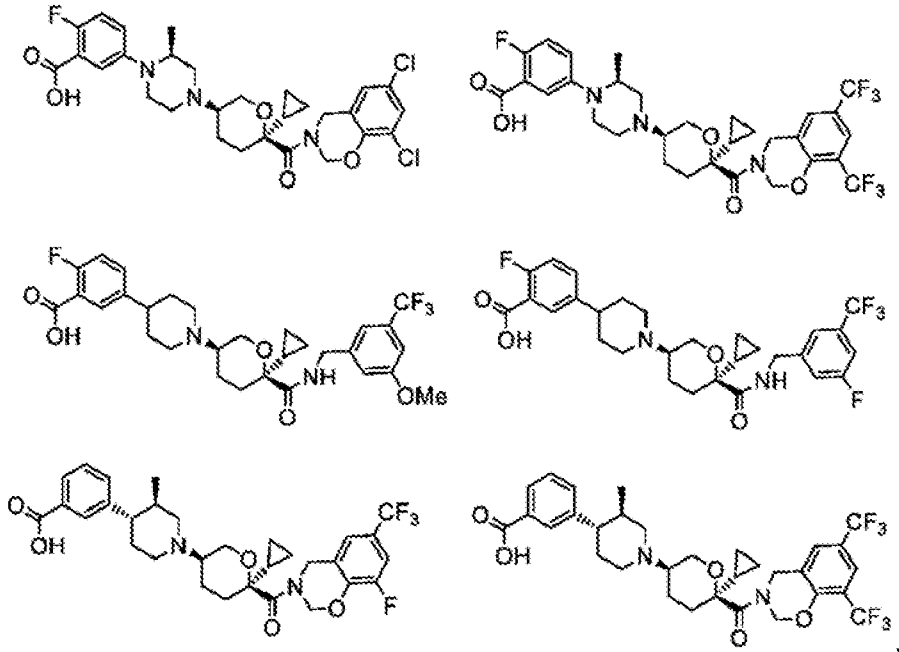
Subgrupo 1b



10 En algunas realizaciones, se proporcionan los compuestos de las fórmulas I, **1c**, **1c2**, **1c3**, **1c2'** e **1c3'**, en donde A es N(R⁵), o se muestra en la fórmula como N(R⁵), en donde R⁵ se selecciona de arilo, aril-alquilo C₁₋₄, heteroarilo y heteroaril-alquilo C₁₋₄, en donde los grupos o porciones arilo o heteroarilo se seleccionan del Grupo 1 anterior. En determinadas realizaciones seleccionadas, se proporcionan los compuestos de las fórmulas I, **1c**, **1c2**, **1c3**, **1c2'** e **1c3'**,
 15 en donde A es N(R⁵), o se muestra en la fórmula como N(R⁵), en donde R⁵ se selecciona de arilo y aril-alquilo C₁₋₄, en donde el grupo o porción arilo se selecciona del Subgrupo 1a, anterior. En aún otras realizaciones seleccionadas, se proporcionan los compuestos de las fórmulas I, **1c**, **1c2**, **1c3**, **1c2'** e **1c3'**, en donde A es N(R⁵), o se muestra en la fórmula

como N(R⁵), en donde R⁵ se selecciona de heteroarilo y heteroaril-alquilo C₁₋₄, en donde el grupo o porción heteroarilo se selecciona del Subgrupo 1b, anterior.

5 En algunas realizaciones, el antagonista de CCR2 tiene la fórmula seleccionada del grupo que consiste en

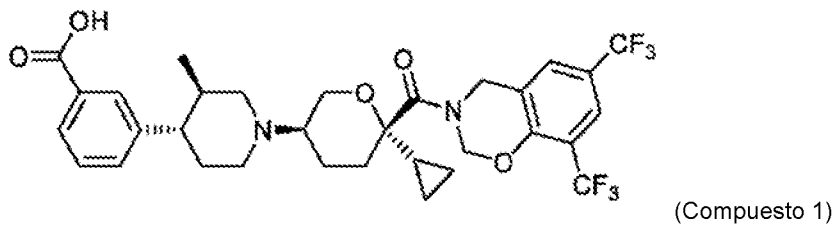


10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

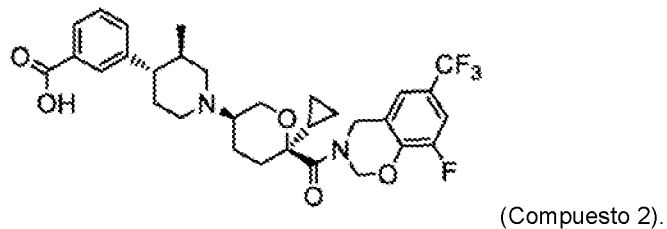
En algunas realizaciones, el antagonista de CCR2 tiene la fórmula del Compuesto 1

15



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

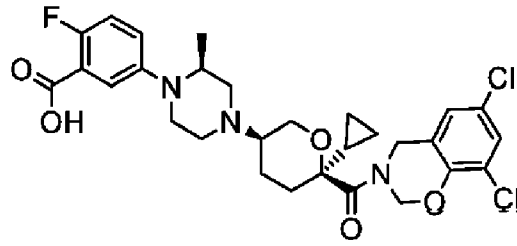
20 En algunas realizaciones, el antagonista de CCR2 tiene la fórmula del Compuesto 2



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25

En algunas realizaciones, el antagonista de CCR2 tiene la fórmula del Compuesto 3



(Compuesto 3).

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 En algunas realizaciones, el antagonista de CCR2 se selecciona de los compuestos o composiciones farmacéuticas que se divulgan en el documento US2016/0340356, derivada de la Solicitud N.º 15/158.713, presentada el 19 de mayo de 2016 por ChemoCentryx.

- 10 En algunas realizaciones, el antagonista del receptor de quimiocinas CCR2 se selecciona del grupo que consiste en AZ889, AZD2423, INCB-8761, MK-0812, BMS-813160, INCB-003284, PF-04634817, BMS-741672, Cenicriviroc, CCX-140.

C. Métodos de administración

- 15 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad del compuesto en cuestión que provocará la respuesta biológica o médica de una célula, tejido, sistema o animal, tal como un ser humano, que está buscando el investigador, veterinario, médico u otro proveedor de tratamiento.

- 20 En general, en el presente documento se proporcionan compuestos para su uso en un método para tratar el linfoma cutáneo de linfocitos T (CTCL), en donde el método comprende administrar a un paciente una cantidad eficaz de uno o más compuestos proporcionados en el presente documento. En una realización preferida, el método implica preferentemente la administración del uno o más compuestos de la invención a un paciente (por ejemplo, un ser humano) por vía oral o tópica. Los regímenes de tratamiento pueden variar dependiendo del compuesto usado, pero se prefiere una frecuencia de administración de 4 veces al día o menos. En general, se prefiere una pauta posológica de 2 veces al día, siendo particularmente preferida la dosificación una vez al día. Se entenderá, sin embargo, que el nivel específico de dosis y el régimen de tratamiento para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la vía de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos (es decir, otros fármacos que se administran al paciente) y la gravedad del CTCL, así como el criterio del médico prescriptor. En general, se prefiere el uso de la dosis mínima suficiente para proporcionar una terapia eficaz. Generalmente, los pacientes pueden monitorizarse para determinar la eficacia terapéutica usando criterios médicos o veterinarios adecuados para el tratamiento del CTCL.

- 35 Dependiendo de la afección del sujeto, los compuestos y composiciones de la presente invención pueden administrarse por vías de administración oral, parenteral (por ejemplo, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, ICV, inyección o infusión intracisternal, inyección subcutánea, o implante), inhalación, nasal, vaginal, rectal, sublingual o tópica y pueden formularse, solos o conjuntamente, en formulaciones farmacéuticas unitarias que contienen portadores, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales apropiados para cada vía de administración. La presente invención también contempla la administración de los compuestos y composiciones de la presente invención en una formulación de depósito.

- 45 Los niveles de dosificación del orden de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 140 mg por kilogramo de peso corporal al día son útiles en el tratamiento del CTCL (de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 7 g por paciente humano al día). La cantidad de principio activo que puede combinarse con los materiales transportadores para producir una forma farmacéutica única variará dependiendo del hospedador tratado y del modo particular de administración. Las formas farmacéuticas unitarias contendrán generalmente de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg de un principio activo. Para los compuestos administrados por vía oral, transdérmica, intravenosa o subcutánea, se prefiere que se administre una cantidad suficiente del compuesto para lograr una concentración en suero de 5 ng (nanogramos)/ml-10 µg (microgramos)/ml de suero, más preferentemente, se debe administrar suficiente compuesto para lograr una concentración en suero de 20 ng-1 µg/ml de suero, lo más preferentemente, se debe administrar suficiente compuesto para lograr una concentración en suero de 50 ng/ml-200 ng/ml en suero. Para la inyección directa en el sinovio (para el tratamiento de la artritis), se deben administrar compuestos suficientes para lograr una concentración local de aproximadamente 1 micromolar.

- 55 La frecuencia de dosificación también puede variar dependiendo del compuesto usado y de la enfermedad particular tratada. Sin embargo, se prefiere una pauta posológica de 4 veces al día, tres veces al día o menos, siendo particularmente preferida una pauta posológica de una vez al día o 2 veces al día. Se entenderá, sin embargo, que el

nivel específico de dosis para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la vía de administración y la tasa de excreción, la combinación de fármacos (es decir, otros fármacos que se administran al paciente), la gravedad del CTCL y otros factores, incluyendo el criterio del médico prescriptor.

En algunas realizaciones, para el tratamiento o prevención de CTCL, un nivel de dosificación adecuado será generalmente de aproximadamente 0,001 a 100 mg por kg de peso corporal del paciente al día, que se puede administrar en una sola o en múltiples dosis. Preferentemente, el nivel de dosificación será de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 25 mg/kg al día; más preferentemente, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 10 mg/kg al día. Un nivel de dosificación adecuado puede ser de aproximadamente 0,01 a 25 mg/kg al día, de aproximadamente 0,05 a 10 mg/kg al día, o de aproximadamente 0,1 a 5 mg/kg al día. Dentro de este intervalo, la dosificación puede ser de 0,005 a 0,05, de 0,05 a 0,5, de 0,5 a 5,0, o de 5,0 a 50 mg/kg al día. Para la administración oral, las composiciones se proporcionan preferentemente en forma de comprimidos que contienen de 1,0 a 1000 miligramos del principio activo, particularmente 1,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 50,0, 75,0, 100,0, 150,0, 200,0, 250,0, 300,0, 400,0, 500,0, 600,0, 750,0, 800,0, 900,0 y 1000,0 miligramos del principio activo, para el ajuste sintomático de la dosificación al paciente que se va a tratar. Los compuestos pueden administrarse en un régimen de 1 a 4 veces al día, preferentemente una o dos veces al día.

Se entenderá, sin embargo, que el nivel de dosis y la frecuencia de dosificación específicos para cualquier paciente particular pueden variarse y dependerán de una diversidad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, características hereditarias, el estado de salud general, el sexo, la dieta, el modo y el tiempo de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad del CTCL y el hospedador que se somete a la terapia.

D. Terapia combinada

En el tratamiento del CTCL, los compuestos de la presente invención pueden usarse con los siguientes: (1) estrategias de vacunación contra el cáncer, (2) moduladores de puntos de control inmunitarios tales como anticuerpos antagonistas contra inhibidores de puntos de control inmunitarios (anti PD1, anti PD-L1, anti CTLA4, anti Tim3, anti VISTA, anti KIR) o anticuerpos agonistas contra aceleradores inmunitarios (anti Lag3, anti OX40, anti ICOS, anti 4-1BB), (3) anticuerpos bloqueadores o de agotamiento contra proteínas de la superficie celular que se regulan positivamente comúnmente en células transformadas (CEACAM1, Syndecan-2, GRP78), (4) terapias antiangiogénicas (anti VEGF, anti VEGFR, inhibidores de moléculas pequeñas de VEGFR), (5) antilinfangiogénesis (anticuerpos bloqueadores o inhibidores contra VEGF, FDF2, PDGF así como sus respectivos receptores), (6) terapias quimioterápicas estándar (gemcitabina, paclitaxel, FOLFORINOX), (7) radioterapia, (8) otros antagonistas de quimiocinas (inhibidores de moléculas pequeñas de CCR1, CCR4, CCR6, CXCR4, CXCR2, CXCR7, anticuerpos bloqueadores o anticuerpos de agotamiento), (9) anticuerpos de agotamiento contra quimiocinas que activan los receptores de quimiocinas mencionados anteriormente, (10) inhibidores dirigidos a mutaciones somáticas comunes en el cáncer, tales como los que se dirigen específicamente a los siguientes genes (*BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *EGFR*, *CTNNB1*, *NOTCH1*, *PIK3CA*, *PTEN*, *APC*, *FLT3*, *IDH1*, *IDH2*, *KIT*, *TP53*, *JAK2*). La terapia combinada también se contempla en métodos para aumentar el número de linfocitos T CD8+ en un microambiente de tumor sólido y métodos para reducir el número de macrófagos en un microambiente de tumor sólido.

En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención pueden usarse junto con un agente antiinflamatorio o analgésico, tal como un agonista de opiáceos, un inhibidor de lipooxigenasa, tal como un inhibidor de 5-lipooxigenasa, un inhibidor de ciclooxigenasa, tal como un inhibidor de ciclooxigenasa-2, un inhibidor de interleucina, tal como un inhibidor de interleucina-1, un antagonista de NMDA, un inhibidor del óxido nítrico o un inhibidor de la síntesis de óxido nítrico, un agente antiinflamatorio no esteroideo o un agente antiinflamatorio supresor de citocinas, por ejemplo, con un compuesto, tal como acetaminofeno, aspirina, codeína, secuestrantes biológicos del TNF, fentanilo, ibuprofeno, indometacina, ketorolaco, morfina, naproxeno, fenacetina, piroxicam, un analgésico esteroideo, sufentanilo, sunlindaco, tenidap y similares.

En algunas realizaciones, el inhibidor de puntos de control inmunitario es un inhibidor de PD-1 y/o PD-L1. En algunas realizaciones, un inhibidor de PD-L1 puede ser durvalumab o atezolizumab o avelumab o BMS-936559 (MDX-1105) o ALN-PDL o TSR-042 o KD-033 o CA-170 o CA-327 o STI-1014 o MEDI-0680 o KY-1003. Durvalumab (MEDI4736) es un anticuerpo monoclonal humano dirigido contra PD-L1. Atezolizumab (MPDL3280A) es un anticuerpo monoclonal IgG1 totalmente humanizado y genomanipulado contra PD-L1. Avelumab (MSB0010718C) es un anticuerpo monoclonal IgG1 totalmente humanizado y genomanipulado contra PD-L1. BMS-936559 (MDX-1105) es un anticuerpo monoclonal IgG4 completamente humano contra PD-L1. ALN-PDL es un ARN inhibidor (ARNi) dirigido contra PD-L1. TSR-042 se refiere a un anticuerpo quimérico genomanipulado que está dirigido contra la vía PD-1/PD-L1. KD-033 se refiere a una proteína de fusión anti PD-L1/IL-15 bifuncional en donde el anticuerpo anti PD-L1 está unido en su cola a la citocina IL-15 por el dominio sushi del receptor de IL-15. CA-170 se refiere a un antagonista de molécula pequeña de PD-L1 y VISTA. STI-1014 se refiere a un anticuerpo anti PD-L1. KY-1003 es un anticuerpo monoclonal contra PD-L1. CA-327 se refiere a un antagonista de molécula pequeña de PD-L1 y TIM3.

En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1 y/o PD-L1 se selecciona del grupo que consiste en durvalumab, atezolizumab, pembrolizumab, nivolumab, AP-106, AP-105, MSB-2311, CBT-501, avelumab, AK-105, IO-102, IO-103, PDR-001, CX-072, SHR-1316, JTX-4014, GNS-1480, mAb anti PD1 humanizado recombinante (Shanghai Junshi Biosciences), REGN-2810, pelareorep, SHR-1210, vacuna inhibidora de PD1/PDL1 (THERAVECTYS), BGB-A317, mAb anti PD-1 humanizado recombinante (Bio-Thera Solutions), Probody dirigido a PD-1 (CytomX), XmAb-20717, FS-118, PSI-001, SN-PDL01, SN-PD07, TIL modificados con PD-1 (Sangamo Therapeutics), PRS-332, FPT-155, mAb jenuo (Genor Biopharma), TSR-042, REGN-1979, REGN-2810, resminostat, FAZ-053, anticuerpo biespecifico PD-1/CTLA-4 (MacroGenics), MGA-012, MGD-013, M-7824, anticuerpo biespecifico basado en PD-1 (Beijing Hanmi Pharmaceutical), AK-112, AK-106, AK-104, AK-103, BI-754091, ENUM-244C8, MCLA-145, MCLA-134, anticuerpo monoclonal oncolítico anti PD1 (Transgene SA), AGEN-2034, IBI-308, WBP-3155, JNJ-63723283, MEDI-0680, SSI-361, CBT-502, anticuerpo biespecifico anti PD-1, mAb anti PD-1/LAG-3 de doble direccionamiento (TESARO), mAb anti PD-1/TIM-3 de doble direccionamiento (TESARO), PF-06801591, LY-3300054, BCD-100, STI-1110, biosimilar de pembrolizumab, biosimilar de nivolumab, terapia con PD-L1-TGF-beta, KY-1003, STI-1014, GLS-010, AM-0001, GX-P2, KD-033, anticuerpo biespecifico PD-L1/BCMA (Immune Pharmaceuticals), anticuerpo biespecifico dirigido a PD-1/Ox40 (Immune Pharmaceuticals), BMS-936559, DARPins anti PD-1/VEGF-A (Molecular Partners), mDX-400, ALN-PDL, péptido inhibidor de PD-1 (Aurigene), vacuna de células dendríticas cargadas con ARNi (Alnylam Pharmaceuticals), GB-226, inmunoterapia a base de CAR-TNK dirigida a PD-L1 (TNK Therapeutics/NantKwest), INSIX RA, INDUS-903, AMP-224, anticuerpo humanizado biespecifico anti CTLA-4/anti PD-1 (Akeso Biopharma), vacuna B7-H1 (State Key Laboratory of Cancer Biology/Fourth Military Medical University) y GX-D1.

En algunas realizaciones, un inhibidor de PD-1 puede ser pembrolizumab o nivolumab o IBI-308 o mDX-400 o BGB-108 o MEDI-0680 o SHR-1210 o PF-06801591 o PDR-001 o GB-226 o STI-1110. Nivoluxnab (también conocido como OPDIVO™, MDX-1106, BMS-936558 y ONO-4538) es un anticuerpo monoclonal IgG4 humano contra PD-1. pembrolizumab (también conocido como KEYTRUDA®, lambrolizumab y MK-34) es un anticuerpo monoclonal IgG4 humanizado de isotipo kappa contra PD-1. IBI-308 se refiere a un anticuerpo monoclonal dirigido a PD-1. mDX-400 se refiere a un anticuerpo de ratón contra PD-1. BGB-108 es un anticuerpo monoclonal humanizado contra PD-1. MEDI-0680 (AMP-514) es un anticuerpo monoclonal IgG4 humanizado contra PD-1. SHR-1210 se refiere a un anticuerpo monoclonal contra PD-1. PF-06801591 es un anticuerpo monoclonal contra PD-1. PDR-001 se refiere a un anticuerpo monoclonal contra PD-1. GB-226 se refiere a un anticuerpo monoclonal contra PD-1. STI-1110 se refiere a un anticuerpo monoclonal contra PD-1.

En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1 es RPM1-14.

En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1 es un anticuerpo seleccionado de nivolumab, pembrolizumab y pidilizumab.

Los anticuerpos anti PD-1, y fragmentos de anticuerpos descritos en el presente documento abarcan proteínas que tienen secuencias de aminoácidos que varían de las de los anticuerpos descritos, pero que conservan la capacidad de unión a PD-1.

En algunas realizaciones, los anticuerpos anti PD-1 incluyen anticuerpos biespecíficos y proteínas terapéuticas similares a anticuerpos, incluyendo DARTs®, DUOBODIES®, BITES®, XmAbs®, TandAbs®, derivados de Fab y similares que se unen a PD-1.

Los anticuerpos anti PD-L1 y los fragmentos de anticuerpos descritos en el presente documento abarcan proteínas que tienen secuencias de aminoácidos que varían de las de los anticuerpos descritos, pero que conservan la capacidad de unión a PD-L1. Dichos anticuerpos variantes y fragmentos de los mismos pueden comprender una o más adiciones, deleciones o sustituciones de aminoácidos cuando se comparan con la secuencia precursora, pero presentan una actividad biológica que es esencialmente equivalente o esencialmente bioequivalente a la de los anticuerpos descritos.

En algunas realizaciones, los anticuerpos anti PD-L1 incluyen anticuerpos biespecíficos y proteínas terapéuticas similares a anticuerpos, incluyendo DARTs®, DUOBODIES®, BITES®, XmAbs®, TandAbs®, derivados de Fab y similares que se unen a PD-L1.

Se describen ejemplos no limitantes de inhibidores adicionales de la vía PD-1/PD-L1 en, por ejemplo, Chen y Han, Jour Clin Invest, 2015, 125(9):3384-3391, las Patentes de EE. UU. N.º 8.168.757; 8.354.509; 8.552.154; 8.741.295; y 9.212.224; la Pub. de Sol. de Patente de EE. UU. N.º 2014/0341917; 2015/0203580 y 2015/0320859; la Pub. de Sol. de Patente Internacional N.º WO2015/026634.

En algunas realizaciones, el inhibidor de puntos de control inmunitario es un inhibidor de CTLA-4. Se conocen en la técnica varios inhibidores de CTLA-4. En algunas realizaciones, el inhibidor de CTLA-4 es un anticuerpo. En algunas realizaciones, el anticuerpo inhibidor de CTLA-4 se selecciona entre ipilimumab, tremelimumab, AGEN1884 y AGEN2041. En algunas realizaciones, el anticuerpo inhibidor de CTLA-4 es ipilimumab. En algunas realizaciones, el anticuerpo inhibidor de CTLA-4 es tremelimumab. En algunas realizaciones, el anticuerpo inhibidor de CTLA-4 es AGEN1884. En algunas realizaciones, el anticuerpo inhibidor de CTLA-4 es AGEN2041.

Un producto biológico, por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento del mismo, se considera un biosimilar si, por ejemplo, el producto biológico es muy similar a un producto biológico ya aprobado por la FDA, conocido como el producto de referencia. Un biosimilar no tiene diferencias clínicamente significativas en términos de seguridad y eficacia con respecto al producto de referencia. Un biosimilar también puede tener el mismo mecanismo de acción, vía de administración, forma farmacéutica y concentración que su producto de referencia.

Dos productos biológicos, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de los mismos, se consideran bioequivalentes si, por ejemplo, son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas cuya tasa y grado de absorción no muestran una diferencia significativa cuando se administran a la misma dosis molar en condiciones experimentales similares, bien en una sola dosis o en múltiples dosis. Algunos anticuerpos se considerarán equivalentes o alternativas farmacéuticas si son equivalentes en el grado de su absorción pero no en su tasa de absorción y, sin embargo, pueden considerarse bioequivalentes porque tales diferencias en la tasa de absorción son intencionadas y se reflejan en el etiquetado, no son esenciales para obtener las concentraciones eficaces del fármaco en el organismo en, por ejemplo, el uso crónico, y se consideran médicamente irrelevantes para el producto farmacológico estudiado en concreto.

En algunas realizaciones, dos productos biológicos (por ejemplo, dos anticuerpos o fragmentos de los mismos) son bioequivalentes si no hay diferencias clínicamente significativas en su seguridad, pureza o potencia.

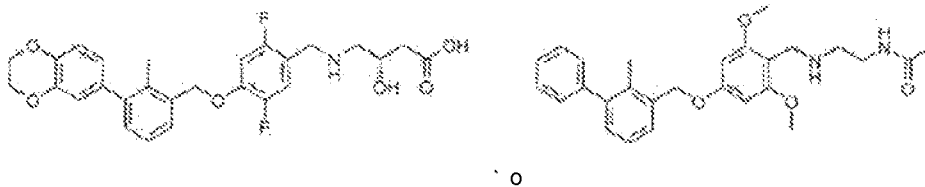
En otras realizaciones, dos productos biológicos (por ejemplo, dos anticuerpos o fragmentos de los mismos) son bioequivalentes si un paciente puede cambiar una o más veces entre el producto de referencia y el producto biológico sin un aumento esperado en el riesgo de efectos adversos, incluyendo un cambio clínicamente significativo en la inmunogenicidad o una menor eficacia, en comparación con la terapia continuada sin dicho cambio.

Aún en otras realizaciones, dos productos biológicos (por ejemplo, dos anticuerpos o fragmentos de los mismos) son bioequivalentes si ambos actúan mediante un mecanismo de acción común para la condición de uso, en la medida en que se conozcan dichos mecanismos.

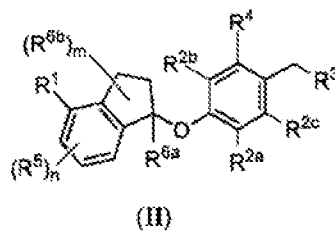
La bioequivalencia puede demostrarse por métodos *in vivo* y/o *in vitro*. Las medidas de bioequivalencia incluyen, por ejemplo, (a) una prueba *in vivo* en seres humanos u otros mamíferos, en la que la concentración del anticuerpo o sus metabolitos se mide en sangre, plasma, suero u otro líquido biológico en función del tiempo; (b) una prueba *in vitro* que se ha correlacionado con y es razonablemente predictiva de datos de biodisponibilidad *in vivo* en seres humanos; (c) una prueba *in vivo* en seres humanos u otros mamíferos en los que se mide el efecto farmacológico agudo adecuado del anticuerpo (o su diana) en función del tiempo; y (d) en un ensayo clínico bien controlado que establece la seguridad, eficacia o biodisponibilidad o bioequivalencia de un anticuerpo.

Las variantes Biobetter de los anticuerpos descritos en el presente documento pueden basarse en un anticuerpo de referencia existente específico para un antígeno diana, por ejemplo, PD-1 o PD-L1, que ha experimentado cambios de manera que, por ejemplo, tiene una mayor afinidad de unión a su antígeno diana y/o se une a un epítipo diferente al del anticuerpo de referencia, o tiene una eficacia terapéutica, expresión y/o características biofísicas más deseables.

En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1 y/o PD-L1 es un inhibidor de PD-1/PD-L1 de molécula pequeña que tiene la fórmula:



En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1 y/o PD-L1 es un inhibidor de PD-1/PD-L1 de molécula pequeña que tiene la fórmula (II)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; en donde:

R¹ se selecciona del grupo que consiste en halógeno, cicloalquilo C₅₋₈, arilo C₆₋₁₀ y tienilo, en donde el arilo C₆₋₁₀ y

el tienilo están opcionalmente sustituidos con de 1 a 5 sustituyentes R^x;

cada R^x se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -CN, -R^c, -CO₂R^a, -CONR^aR^b, -C(O)R^a, -OC(O)NR^aR^b, -NR^bC(O)R^a, -NR^bC(O)₂R^c, -NR^a-C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -OR^a, -O-X¹-OR^a, -O-X¹-CO₂R^a, -O-X¹-CONR^aR^b, -X¹-OR^a, -X¹-NR^aR^b, -X¹-CO₂R^a, -X¹-CONR^aR^b, -SF₅ y -S(O)₂NR^aR^b, en donde cada X¹ es un alquileo C₁₋₄; cada uno de R^a y R^b se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₈ y haloalquilo C₁₋₈ o, cuando se unen al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de cinco o seis miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales como miembros anulares seleccionados de N, O o S, en donde el anillo de cinco o seis miembros está opcionalmente sustituido con oxo; cada R^c se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈, alqueno C₂₋₈, alquino C₂₋₈ y haloalquilo C₁₋₈; y opcionalmente, cuando dos sustituyentes R^x están en átomos adyacentes, se combinan para formar un anillo carbocíclico o heterocíclico condensado de cinco, seis o siete miembros opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, oxo, haloalquilo C₁₋₈ y alquilo C₁₋₈;

cada R^{2a}, R^{2b} y R^{2c} se selecciona independientemente del grupo que consiste en -H, halógeno, -CN, -R^d, -CO₂R^e, -CONR^eR^f, -C(O)R^e, -OC(O)NR^eR^f, -NR^cC(O)R^e, -NR^cC(O)₂R^d, -NR^e-C(O)NR^eR^f, -NR^eR^f, -OR^e, -O-X²-OR^e, -O-X²-NR^eR^f, -O-X²-CO₂R^e, -O-X²-CONR^eR^f, -X²-OR^e, -X²-NR^eR^f, -X²-CO₂R^e, -X²-CONR^eR^f, -SF₅, -S(O)₂NR^eR^f, arilo C₆₋₁₀ y heteroarilo C₅₋₁₀, en donde cada X² es un alquileo C₁₋₄; cada R^e y R^f se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₈ y haloalquilo C₁₋₈ o, cuando se unen al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de cinco o seis miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales como miembros anulares seleccionados de N, O y S, y opcionalmente sustituidos con oxo; cada R^d se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈, alqueno C₂₋₈ y haloalquilo C₁₋₈;

R³ se selecciona del grupo que consiste en -NR^gR^h y heterociclilo C₄₋₁₂, en donde el heterociclilo C₄₋₁₂ está opcionalmente sustituido con de 1 a 6 R^y;

cada R^y se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -CN, -Rⁱ, -CO₂R^j, -CONRⁱR^k, -CONHalquil C₁₋₆-OH, -C(O)Rⁱ, -OC(O)NRⁱR^k, -NRⁱC(O)R^k, -NRⁱC(O)₂R^k, CONOH, PO₃H₂, -NRⁱ-alquil C₁₋₆-C(O)₂R^k, -NRⁱC(O)NRⁱR^k, -NRⁱR^k, -ORⁱ, -S(O)₂NRⁱR^k, -O-alquil C₁₋₆-ORⁱ, -O-alquil C₁₋₆-NRⁱR^k, -O-alquil C₁₋₆-CO₂Rⁱ, -O-alquil C₁₋₆-CONRⁱR^k, -alquil C₁₋₆-ORⁱ, -alquil C₁₋₆-NRⁱR^k, -alquil C₁₋₆-CO₂Rⁱ, -alquil C₁₋₆-CONRⁱR^k y SF₅,

en donde la porción alquilo C₁₋₆ de R^y está opcionalmente sustituida además con OH, SO₂NH₂, CONH₂, CONOH, PO₃H₂, COO-alquilo C₁₋₈ o CO₂H, en donde cada Rⁱ y R^k se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₈ opcionalmente sustituido con de 1 a 2 sustituyentes seleccionados de OH, SO₂NH₂, CONH₂, CONOH, PO₃H₂, COO-alquilo C₁₋₈ o CO₂H, y haloalquilo C₁₋₈ opcionalmente sustituido con de 1 a 2 sustituyentes seleccionados de OH, SO₂NH₂, CONH₂, CONOH, PO₃H₂, COO-alquilo C₁₋₈ o CO₂H o, cuando se unen al mismo átomo de nitrógeno, Rⁱ y R^k se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de cinco o seis miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales como miembros anulares seleccionados de N, O o S, y opcionalmente sustituidos con oxo; cada Rⁱ se selecciona independientemente del grupo que consiste en -OH, alquilo C₁₋₈, alqueno C₂₋₈ y haloalquilo C₁₋₈, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, SO₂NH₂, CONH₂, CONOH, PO₃H₂, COO-alquilo C₁₋₈ o CO₂H;

R^g se selecciona del grupo que consiste en H, haloalquilo C₁₋₈ y alquilo C₁₋₈;

R^h se selecciona de -alquilo C₁₋₈, haloalquilo C₁₋₈, alquil C₁₋₈-COOH, alquil C₁₋₈-OH, alquil C₁₋₈-CONH₂, alquil C₁₋₈-SO₂NH₂, alquil C₁₋₈-PO₃H₂, alquil C₁₋₈-CONOH, alquil C₁₋₈-NR^{h1}R^{h2}, -C(O)-alquilo C₁₋₈, -C(O)-alquil C₁₋₈-OH, -C(O)-alquil C₁₋₈-COOH, cicloalquilo C₃₋₁₀, -cicloalquil C₃₋₁₀-COOH, -cicloalquil C₃₋₁₀-OH, heterociclilo C₄₋₈, -heterociclil C₄₋₈-COOH, -heterociclil C₄₋₈-OH, -alquil C₁₋₈-heterociclilo C₄₋₈, -alquil C₁₋₈-cicloalquilo C₃₋₁₀, heteroarilo C₅₋₁₀, -alquil C₁₋₈-heteroarilo C₅₋₁₀, carbociclilo C₁₀, -alquil C₁₋₈-arilo C₆₋₁₀, -alquil C₁₋₈-(C=O)-arilo C₆₋₁₀, -alquil C₁₋₈-NH(C=O)-alqueno C₁₋₈, -alquil C₁₋₈-NH(C=O)-alquilo C₁₋₈, -alquil C₁₋₈-NH(C=O)-alquinilo C₁₋₈, -alquil C₁₋₈-(C=O)-NH-alquil C₁₋₈-COOH y -alquil C₁₋₈-(C=O)-NH-alquil C₁₋₈-OH opcionalmente sustituido con CO₂H; o

R^h combinado con el N al que está unido es un mono, di o tripéptido que comprende 1-3 aminoácidos naturales y 0-2 aminoácidos no naturales, en donde

los aminoácidos no naturales tienen un sustituyente de carbono alfa seleccionado del grupo que consiste en hidroxialquilo C₂₋₄, alquil C₁₋₃-guanidinilo y alquil C₁₋₄-heteroarilo,

el carbono alfa de cada aminoácido natural o no natural está opcionalmente sustituido además con un grupo metilo, y

el resto terminal del mono, di o tripéptido se selecciona del grupo que consiste en C(O)OH, C(O)O-alquilo C₁₋₆ y PO₃H₂, en donde

R^{h1} y R^{h2} se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₆ e hidroxialquilo C₁₋₄;

las porciones alquilo C₁₋₈ de R^h están opcionalmente sustituidas además con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, COOH, SO₂NH₂, CONH₂, CONOH, COO-alquilo C₁₋₈, PO₃H₂ y heteroarilo C₅₋₆ opcionalmente sustituido con de 1 a 2 sustituyentes alquilo C₁₋₃,

las porciones carbociclilo C₁₀, heteroarilo C₅₋₁₀ y arilo C₆₋₁₀ de R^h están opcionalmente sustituidos con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, B(OH)₂, COOH, SO₂NH₂, CONH₂, CONOH, PO₃H₂, COO-alquilo C₁₋₈, alquilo C₁₋₄, alquil C₁₋₄-OH, alquil C₁₋₄-SO₂NH₂, alquil C₁₋₄-CONH₂, alquil C₁₋₄-CONOH, alquil C₁₋₄-PO₃H₂, alquil C₁₋₄-COOH y fenilo, y

las porciones heterociclilo C₄₋₈ y cicloalquilo C₃₋₁₀ de R^h están opcionalmente sustituidas con de 1 a 4 sustituyentes R^w;

cada sustituyente R^w se selecciona independientemente de alquilo C₁₋₄, alquil C₁₋₄-OH, alquil C₁₋₄-COOH, alquil C₁₋

4-SO₂NH₂, alquil C₁₋₄-CONH₂, alquil C₁₋₄-CONOH, alquil C₁₋₄-PO₃H, OH, COO-alquilo C₁₋₈, COOH, SO₂NH₂, CONH₂, CONOH, PO₃H₂ y oxo;

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en O-alquilo C₁₋₈, O-haloalquilo C₁₋₈, O-alquil C₁₋₈-R^z, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo C₅₋₁₀, -O-alquil C₁₋₄-arilo C₆₋₁₀ y -O-alquil C₁₋₄-heteroarilo C₅₋₁₀, en donde el arilo C₆₋₁₀ y el heteroarilo C₅₋₁₀ están opcionalmente sustituidos con de 1 a 5 R^z;

cada R^z se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -CN, -R^m, -CO₂Rⁿ, -CONRⁿR^p, -C(O)Rⁿ, -OC(O)NRⁿR^p, -NRⁿC(O)R^p, -NRⁿC(O)₂R^m, -NRⁿ-C(O)NRⁿR^p, -NRⁿR^p, -ORⁿ, -O-X³-ORⁿ, -O-X³-NRⁿR^p, -O-X³-CO₂Rⁿ, -O-X³-CONRⁿR^p, -X³-ORⁿ, -X³-NRⁿR^p, -X³-CO₂Rⁿ, -X³-CONRⁿR^p, -SF₅, -S(O)₂RⁿR^p, -S(O)₂NRⁿR^p, y un anillo carbocíclico de tres a siete miembros o un anillo heterocíclico de cuatro a siete miembros en donde el anillo carbocíclico de tres a siete miembros o un anillo heterocíclico de cuatro a siete miembros está opcionalmente sustituido con de 1 a 5 R^t, en donde cada R^t se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈, haloalquilo C₁₋₈, -CO₂Rⁿ, -CONRⁿR^p, -C(O)Rⁿ, -OC(O)NRⁿR^p, -NRⁿC(O)R^p, -NRⁿC(O)₂R^m, -NRⁿ-C(O)NRⁿR^p, -NRⁿR^p, -ORⁿ, -O-X³-ORⁿ, -O-X³-NRⁿR^p, -O-X³-CO₂Rⁿ, -O-X³-CONRⁿR^p, -X³-ORⁿ, -X³-NRⁿR^p, -X³-CO₂Rⁿ, -X³-CONRⁿR^p, -SF₅ y -S(O)₂NRⁿR^p;

en donde cada X³ es un alquileo C₁₋₄; cada Rⁿ y R^p se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₈ y haloalquilo C₁₋₈ o, cuando se unen al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de cinco o seis miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales como miembros anulares seleccionados de N, O o S, y opcionalmente sustituidos con oxo; cada R^m se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈, alqueno C₂₋₈ y haloalquilo C₁₋₈; y, opcionalmente, cuando dos sustituyentes R^z están en átomos adyacentes, se combinan para formar un anillo carbocíclico o heterocíclico condensado de cinco o seis miembros opcionalmente sustituido con oxo;

n es 0, 1, 2 o 3;

cada R⁵ se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -CN, -R^q, -CO₂R^r, -CONR^rR^s, -C(O)R^r, -OC(O)NR^rR^s, -NR^rC(O)R^s, -NR^rC(O)₂R^q, -NR^r-C(O)NR^rR^s, -NR^rR^s, -OR^r, -O-X⁴-OR^r, -O-X⁴-NR^rR^s, -O-X⁴-CO₂R^r, -O-X⁴-CONR^rR^s, -X⁴-OR^r, -X⁴-NR^rR^s, -X⁴-CO₂R^r, -X⁴-CONR^rR^s, -SF₅, -S(O)₂NR^rR^s, en donde cada X⁴ es un alquileo C₁₋₄; cada R^r y R^s se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₈ y haloalquilo C₁₋₈ o, cuando se unen al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de cinco o seis miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales como miembros anulares seleccionados de N, O o S, y opcionalmente sustituidos con oxo; cada R^q se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈ y haloalquilo C₁₋₈;

R^{6a} se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₄ y haloalquilo C₁₋₄;

cada R^{6b} se selecciona independientemente del grupo que consiste en F, alquilo C₁₋₄, O-R^u, haloalquilo C₁₋₄, NR^uR^v, en donde cada R^u y R^v se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₈ y haloalquilo C₁₋₈ o, cuando se unen al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de cinco o seis miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales como miembros anulares seleccionados de N, O o S, y opcionalmente sustituidos con oxo; y m es 0, 1, 2, 3 o 4.

En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1/PD-L1 de molécula pequeña se selecciona de los compuestos o composiciones farmacéuticas que se divulgan en el documento WO 2018/005374, presentado por ChemoCentryx el 26 de junio de 2017.

Los inhibidores de PD-1 y/o PD-L1 de la presente divulgación se pueden formular para retardar la degradación del compuesto o anticuerpo o para minimizar la inmunogenicidad del anticuerpo. Se conocen diversas técnicas en la técnica para lograr estos fines.

En la terapia combinada descrita en el presente documento, el antagonista de CCR2 se puede formular junto con el agente terapéutico adicional o por separado. Tanto el antagonista de CCR2 como la terapia adicional se formularán en formulaciones farmacéuticas unitarias adecuadas (ya sea solas o juntas) que contienen portadores, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales apropiados para cada vía de administración. Se entenderá que el nivel de dosis y la frecuencia de dosificación específicos para cualquier paciente particular pueden variarse y dependerán de una diversidad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, características hereditarias, el estado de salud general, el sexo, la dieta, el modo y el tiempo de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad del CTCL y el hospedador que se somete a la terapia.

Los productos biológicos, tales como anticuerpos, pueden estar constituidos en una composición farmacéutica que contiene uno o más anticuerpos o un fragmento de los mismos y un portador farmacéuticamente aceptable. Como se usa en el presente documento, un "portador farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y similares, que sean fisiológicamente compatibles. Preferentemente, el portador es adecuado para administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, parenteral, espinal o epidérmica (por ejemplo, mediante inyección o infusión). Una composición farmacéutica de la invención puede incluir una o más sales farmacéuticamente aceptables, antioxidantes, portadores acuosos y no acuosos, y/o adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes.

En algunas realizaciones, el compuesto y agente terapéuticos se proporcionan cada uno en una cantidad que sería subterapéutica si se proporcionaran solos o sin el otro. Los expertos en la técnica apreciarán que las "combinaciones" pueden implicar combinaciones en tratamientos (es decir, se pueden administrar dos o más fármacos en forma de una mezcla o al menos de manera concurrente o al menos introducirse en un sujeto en distintos momentos pero de tal forma que ambos estén en un sujeto al mismo tiempo).

De manera análoga, los compuestos, agentes y composiciones de la presente invención pueden usarse junto con otros fármacos que se usan en el tratamiento, prevención, supresión o mejora del cáncer. Dichos otros fármacos pueden administrarse, por una vía y en una cantidad comúnmente usada para ello, simultánea o secuencialmente con un compuesto, agente o composición de la presente invención. Cuando un compuesto, agente o composición de la presente invención se usa de manera simultánea con uno o más fármacos, se prefiere una composición farmacéutica que contenga dichos otros fármacos además del compuesto, agente o composición de la presente invención. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas pueden incluir las que también contienen uno o más principios activos o agentes terapéuticos diferentes, además de un compuesto, agente o composición de la presente invención.

La terapia combinada incluye la administración conjunta del antagonista de CCR2 y un agente terapéutico adicional, la administración secuencial del antagonista de CCR2 y un agente terapéutico adicional, la administración de una composición que contiene el antagonista de CCR2 y un inhibidor del agente terapéutico 1 adicional, o la administración simultánea de composiciones separadas de forma que una composición contenga el antagonista de CCR2 y otra composición contenga un agente terapéutico adicional.

IV. Ejemplos

Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar, pero no limitar, la invención reivindicada.

Materiales y métodos

Animales y líneas celulares. Se adquirieron ratones C57BL/6 hembra (6-8 semanas de edad) en Charles River (Hollister, CA) y se alojaron en instalaciones para animales de la University of California Davis (UCDAVIS), Sacramento, CA. Todos los experimentos con animales se realizaron de acuerdo con las pautas y la aprobación del Institutional Animal Care and Usage Committee at UCDAVIS. La línea celular MBL2 es una línea celular establecida procedente del linfoma de linfocitos T inducido por el MuLV de Moloney en ratones C57BL/6, en el que se eliminó el gen *gag* del genoma para reducir la inmunogenicidad dependiente del virus. Las células MBL2 se cultivaron en DMEM (Invitrogen, Carlsbad, CA) con FBS inactivado por calor al 10 %.

Establecimiento de tumores MBL2 en ratones. El método de establecimiento de tumores cutáneos en las orejas de los ratones se describió previamente [28]. Brevemente, se inyectaron células MBL2 lavadas con PBS (4×10^5 en 20 μ l de PBS) en el espacio dérmico debajo de la superficie dorsal central de las orejas y por encima del plano del cartílago usando una aguja de calibre 28g. A continuación, se trató por vía a los ratones una vez con DNFB (1-fluoro-2, 4-dinitrobenzoceno, 0,5 % en un vehículo que consistía en 4:1 (v/v) acetona y aceite de oliva, 10 μ l/oreja) (Sigma, St. Louis, CA) en la piel de la oreja dorsal. Se evaluó el crecimiento tumoral para determinar el grosor máximo de la oreja usando un calibrador digital, o por peso para todas las orejas con tumores extirpadas de la base de la oreja. La determinación del punto extremo se basa en el tamaño máximo permitido del tumor en la oreja, o la erosión y el sangrado locales, que generalmente se produjeron dentro de las dos semanas posteriores a la implantación.

Tratamiento del tumor con antagonista de CCR2 y/o anti PD1. Los compuestos de molécula pequeña, el Compuesto 1, ya sea en una concentración alta (6 mg/ml) o en una concentración baja (2 mg/ml), así como el control de vehículo, se proporcionaron en su totalidad por ChemoCentryx (Mountain View, CA) en una formulación lista para laboratorio. En la aplicación terapéutica, la administración oral a través de sonda del Compuesto 1 o del vehículo comenzó el mismo día de la inoculación de células MBL2, normalmente con dos horas de diferencia. El Compuesto 1 se administró una vez al día (60 mg/kg para la dosis alta o 20 mg/kg para la dosis baja) durante hasta dos semanas después de la implantación del tumor. Los ratones fueron sacrificados el día 3 o el día 7 para el análisis de las respuestas inmunitarias tempranas al tratamiento. Para el tratamiento de tumores con anti PD1, se inyectaron IP MAb anti PD-1 de ratón (CD279) e IgG2a de rata (BioXcell, West Lebanon, NH) *in vivo* (10 mg/kg por ratón) tres veces por semana comenzando el mismo día de la implantación del tumor. Para la terapia combinada, el régimen de agente único anterior se mantuvo igual.

H&E e histoquímica. Después de que los tumores de las orejas de ratón se extirparan quirúrgicamente en la base de la oreja, la muestra de oreja se cortó en dos partes a lo largo del eje largo y se colocó en RNAlater para la extracción de ARN o en formalina al 10 % para la tinción con hematoxilina y eosina (H&E) o tinción inmunohistoquímica con anticuerpos de ratón purificados (anti CD8 y anti F4/80 de Biologend, San Diego, CA).

PCR cuantitativa en tiempo real. El ARN (<2 μ g por muestra) se convirtió en ADNc con el kit de ADNc de primera cadena de alta capacidad (Qiagen). El análisis por PCR en tiempo real se realizó en un sistema de PCR en tiempo real StepOne Plus (Applied Biosystem, Carlsbad, CA). Los pares de cebadores de QPCR se adquirieron en Integrated DNA Technologies (Coralville, Iowa).

Agotamiento de linfocitos T CD8 en un modelo de tumor. Se inyectó anti CD8 α de ratón In VivoPlus (clon 53-6.7), adquirido en BioXcell, por vía intraperitoneal (250 μ g por inyección) en ratones el día antes de la implantación del tumor. Se realizó una segunda inyección después de 7 días con la misma dosis. Para analizar el efecto del agotamiento de CD8, los ratones inoculados con tumor en la oreja se sacrificaron tres días después de la primera administración. Se recogieron ganglios linfáticos de drenaje cervical y se aisló una suspensión celular para el análisis por citometría de flujo que incluía tinción con FITC-anti CD8 (un clon diferente 5H10-1, Biolegend, San Diego, CA).

Citometría de flujo para tejidos de oreja de ratón, ganglios linfáticos y bazos. Se adquirieron Ab anti CD45 de ratón (clon 30-F11), CD11b (M1/70), F4/80 (BM8), Ly6G (1A8), Ly6C (HK1.4), IFN- γ (XMG1.2) y CD8 (5H10-1) en BioLegend (San Diego, CA). Las orejas o los tejidos tumorales se digirieron para obtener suspensiones de células cutáneas como se describe [30]. Los ganglios linfáticos o los bazos se trituraron directamente y se filtraron a través de filtros de células con poros de 100 μ m (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). Los glóbulos rojos de las muestras de bazo se eliminaron con un tampón de lisis de glóbulos rojos (BioLegend). La tinción intracelular se realizó después de incubar las células durante 4 h con brefeldina A y PMA/ionomicina como se describe. La citometría de flujo se realizó usando un Acuri C6 o LSR II (BD Biosciences, San José, CA) junto con el software de análisis FlowJo (Tree Star, San Carlos, CA).

Análisis estadístico. Todos los datos se expresan como la media \pm EEM. Los datos se analizaron usando GraphPad Prism versión 6 (GraphPad Software, San Diego, CA). Se realizaron comparaciones simples de medias y EEM de los datos usando una prueba de la t de Student bilateral. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

Ejemplo 1: Un antagonista de CCR2 de molécula pequeña agota los macrófagos tumorales y estimula la acumulación de linfocitos T CD8 en un modelo murino de linfoma cutáneo de linfocitos T (CTCL)

(Sumario)

Se ha implicado a los macrófagos asociados a tumores (TAM) reclutados a partir de monocitos de la sangre en un papel crítico en el establecimiento de un microambiente tumoral inmunosupresor (TME) que apoya el crecimiento tumoral. Se ha informado del establecimiento de linfoma cutáneo de linfocitos T de alto grado en la piel de ratones singénicos mediante la inyección de células de linfoma T MBL2 en la piel de la oreja seguida de la aplicación de DNFB. En este modelo, los macrófagos desempeñan un papel clave en el sostenimiento del crecimiento tumoral. Por lo tanto, se plantea la hipótesis de que el bloqueo del tráfico de monocitos (a través de la inhibición de receptores de quimiocinas específicos) en la piel puede influir en el desarrollo tumoral. En el presente documento, se examinan los efectos de la administración oral de un fármaco de molécula pequeña, el Compuesto 1, que bloquea la quimiotaxis de monocitos mediada por CCR2 en este modelo de tumor. Después de la administración del Compuesto 1 durante dos días después del inicio del tumor, se mide (por citometría de flujo) una marcada disminución de macrófagos en la piel (17,7 % de los leucocitos totales frente al 2,78 % en los ratones tratados con vehículo y con el Compuesto 1, respectivamente). Una semana después del tratamiento, se produjeron abscesos neutrófilos y ulceración epidérmica en el sitio del tumor de los ratones tratados con el Compuesto 1, pero no con el vehículo. La citometría de flujo identificó cantidades significativamente mayores de neutrófilos en el TME después del tratamiento con el Compuesto 1. A las dos semanas, la mayoría de los ratones del grupo de control fueron sacrificados debido a tumores grandes. Sin embargo, los tumores tratados con el Compuesto 1 estaban más pequeños y, a veces, casi erradicados debido a una respuesta inflamatoria intensa compuesta por cantidades significativamente mayores de linfocitos T CD8 $^{+}$ dentro del tumor (identificadas por inmunohistoquímica). En resumen, los datos muestran una marcada reducción de la acumulación de macrófagos tumorales en los ratones tratados con el Compuesto 1 acompañada en muchos animales por una reducción del tamaño del tumor y un aumento de los linfocitos T CD8 $^{+}$ en el TME. Se sugiere que una estrategia terapéutica para el CTCL basada en la inhibición del receptor CCR2 y la regulación del microambiente tumoral justifica una mayor exploración.

Ejemplo 2: El Compuesto 1, un antagonista de CCR2, inhibió la progresión tumoral en un modelo de ratón de linfoma cutáneo de linfocitos T

Se ha informado previamente sobre un modelo de linfoma de linfocitos T de ratón dependiente de la inflamación que se generó mediante la implantación de células MBL2 en la piel subcutánea seguida de una única aplicación tópica de 2,4-dinitro-1-fluorobenceno (DNFB) en las orejas. La implantación de células MBL2 solas en las orejas subcutáneas, aunque en ratones singénicos, no da como resultado la formación de tumores, presumiblemente porque la inflamación desencadenada por DNFB a menudo es necesaria para la formación eficiente de tumores. Sin embargo, cuando se aplica a los ratones una dosis única de DNFB, un alérgeno de contacto ya estudiado, en la piel dorsal inmediatamente después de la implantación de células tumorales, los microambientes tumorales resultantes (TME) permiten la generación reproducible de tumores en dos semanas. La aplicación de DNFB induce una gran cantidad de células inflamatorias que se infiltran en el TME, que contiene principalmente poblaciones de células mieloides, es decir, macrófagos y neutrófilos. Al inducir el "suicidio" de los macrófagos usando liposomas de clodronato, se ha demostrado que los macrófagos en el modelo MBL2/DNFB contribuyen al crecimiento tumoral [29]. Por lo tanto, se plantea la hipótesis de que los compuestos que se dirigen al receptor de quimiocina CCR2 para bloquear el reclutamiento de monocitos y la diferenciación de macrófagos en el TME también reducirán potencialmente el crecimiento de tumores

de linfoma cutáneo de linfocitos T.

El Compuesto 1 es un antagonista de CCR2 biodisponible por vía oral. Después de administrarse con dos dosis diferentes, 20 mg/kg o 60 mg/kg, a través de una sonda oral diaria, la concentración plasmática del Compuesto 1 en ratones se correlacionó bien con las dosis de alimentación (figura 2A). Además, ninguno de los esquemas de dosificación dio como resultado cambios significativos de peso (>20 %) en los ratones (figura 2B), lo que sugiere que el fármaco fue bien tolerado. Para el régimen de tratamiento experimental, se administró el Compuesto 1 diariamente por sonda oral, comenzando el mismo día de la implantación del tumor (figura 1a). Los tumores de la oreja en los ratones tratados con dos dosis diferentes del Compuesto 1, pero no en los ratones tratados con el vehículo, mostraron una reducción visible en el crecimiento del tumor (figura 1C). Tanto el grosor como el peso de la oreja (medidos inmediatamente después de la eutanasia) se redujeron significativamente con el tratamiento con el Compuesto 1 en comparación con el grupo no tratado o el control tratado con el vehículo (figura 1C). Por lo tanto, el Compuesto 1 bloqueó el crecimiento tumoral en un modelo de linfoma de linfocitos T dependiente de la inflamación y los macrófagos.

15 **Ejemplo 3: Los macrófagos CCR2⁺ se agotan específicamente en el microambiente tumoral (TME) después del tratamiento con el Compuesto 1**

Como se ha demostrado previamente, DNFB induce un TME inflamatorio en la piel de la oreja en el modelo MBL2/DNFB, es decir, las orejas presentan enrojecimiento, edema y acumulación rápida de grandes cantidades de células inflamatorias en solo dos días [28]. Con el fin de revelar los mecanismos por los cuales el Compuesto 1 reduce el crecimiento tumoral en ratones, se examinaron ratones que fueron tratados con Compuesto 1 durante dos días después de la implantación del tumor. El análisis por citometría de flujo de la suspensión celular de los tumores de la oreja mostró que los niveles de macrófagos CD11b⁺/F4/80⁺ disminuyeron significativamente con el tratamiento con Compuesto 1, que incluía tanto valores porcentuales de células vivas como números absolutos por cálculo en orejas enteras (figura 3A y B). Dado que tanto los datos de flujo como la medición del tumor indicaron que la dosis más alta de Compuesto 1 generó mejores resultados del tratamiento sin efectos secundarios, se usaron 60 mg/kg al día como dosis estándar en experimentos posteriores.

Se sabe que otras subpoblaciones procedentes de mieloides que están estrechamente relacionadas con los macrófagos en términos de función inmunitario se acumulan en el TME. Cabe preguntarse si el Compuesto 1 se dirige específicamente a los macrófagos positivos para CD11b y F4/80 detectados anteriormente. Combinando los marcadores de superficie, es decir, CD11b, F4/80, Ly6G, Ly6C y CCR2, mediante citometría de flujo en una suspensión de células individuales de los tejidos de la oreja completa, se observó que había claramente dos tipos de células que dominaban la población de células mieloides seleccionada en CD11b (figura 3C). Sin embargo, las células positivas para F4/80 son el tipo de célula al que se dirige el Compuesto 1. Esta población expresa conjuntamente Ly6C y CCR2, la diana funcional del Compuesto 1. La otra población celular principal está compuesta por células positivas para CD11b y Ly6G, que también expresan conjuntamente Ly6C, pero no CCR2 (figura 3C). Aunque estas células muestran marcadores de neutrófilos, se denominan células similares a neutrófilos debido a su naturaleza potencialmente inmadura y características similares a las MDSC (células supresoras derivadas de mieloides) en el entorno del microambiente tumoral. Como se muestra en la figura 3C, la acumulación de neutrófilos no se bloqueó por el Compuesto 1; por el contrario, su abundancia relativa aumentó debido al agotamiento de los macrófagos por el antagonismo de CCR2.

45 **Ejemplo 4: El tratamiento con el Compuesto 1 mejora la inflamación intratumoral**

Durante la formación del tumor, los ratones tratados con el Compuesto 1 mostraron una inflamación de la piel significativamente mejorada en las orejas, que estaban más rojas y escamosas que los ratones de control. El examen histológico de los tejidos del día 7 reveló que las superficies de las orejas en el lado dorsal, es decir, el lado expuesto a DNFB, exhibieron ulceración superficial, descamación y acumulación obvia de infiltrados inflamatorios microscópicamente (figura 4A). La tinción IHC con anti F4/80 confirmó que los macrófagos estaban en gran parte ausentes en el TME (figura 4B). El análisis por citometría de flujo en los tejidos del mismo punto temporal mostró un aumento significativo de células similares a neutrófilos, lo que es consistente con la manifestación histológica (figura 4C). Cabe destacar que, no solo aumentó el porcentaje, sino que también aumentó el número total, lo que indica que las células similares a neutrófilos se reclutaron en el TME acompañando el agotamiento de macrófagos. Por lo tanto, el tratamiento con el Compuesto 1 da como resultado la necrosis de células tumorales y un aumento de células similares a neutrófilos en un TME que posee un bajo número de macrófagos F4/80⁺.

60 **Ejemplo 5: El tratamiento con el Compuesto 1 altera las citocinas y biomarcadores inmunitarios en el TME**

Para comprender mejor los mecanismos subyacentes a la inhibición tumoral mediada por el Compuesto 1, se cuantificaron las citocinas y las quimiocinas que se sabe que participan en la inmunidad antitumoral en tumores tratados con el Compuesto 1. De interés, el IFN- γ , las quimiocinas inducidas por IFN- γ , CXCL10 y CXCL11 aumentaron significativamente en las orejas a nivel de ARNm mediante el tratamiento con el Compuesto 1. Se encontró que IL-12, otro marcador Th1, aumentaba en las orejas de ratones tratados con el Compuesto 1. Se observó una regulación positiva constante de la granzima B, otra indicación de activación de las vías citotóxicas antitumorales (figura 5A). Por el contrario, la expresión de IL-10 y TGF-beta, citocinas Th2 representativas, se expresó de manera similar entre los

ratones tratados con el Compuesto 1 y los controles (figura 6).

Un análisis adicional de la expresión génica mostró que varias citocinas inflamatorias importantes, tales como IL-17a, IL-1beta e IL-6, se regularon positivamente en grados variables en los ratones tratados con el Compuesto 1. La regulación positiva de CCL2, el ligando de CCR2, y su quimiocina estrechamente relacionada CCL7, durante el antagonismo de CCR2 en el TME puede reflejar una transcripción mejorada de CCL2 en el contexto de una inhibición eficaz de CCR2 (figura 5B). El último grupo de biomarcadores que aumentó notablemente en el TME después del tratamiento con el Compuesto 1 son los quimioatrayentes y biomarcadores de neutrófilos reconocidos, es decir, CXCL1/2 y S100A8/9 (figura 5C), lo que es consistente con el reclutamiento de células similares a los neutrófilos, como se muestra mediante citometría de flujo (figura 4C).

Ejemplo 6: Los linfocitos T CD8 median en las actividades antitumorales después del bloqueo de macrófagos en el TME

A continuación, cabe preguntarse si los linfocitos T CD8 eran necesarios para que el Compuesto 1 bloqueara eficazmente el crecimiento tumoral. Los tejidos tumorales se extirparon de ratones portadores de tumores que recibieron dos semanas de tratamiento. Se observaron pocos linfocitos T CD8 en tumores no tratados y tratados con vehículo mediante tinción IHC (figura 7A). El tratamiento con el Compuesto 1, sin embargo, aumentó notablemente la cantidad de infiltración de linfocitos T CD8⁺ en el TME de una manera dependiente de la dosis (figura 7A).

A continuación, se administraron anticuerpos neutralizantes CD8 mediante inyección IP simultáneamente con el tratamiento con el Compuesto 1 (figura 7B). Tres días después de la primera inyección de anticuerpos anti CD8 de agotamiento, se observó que los linfocitos T CD3⁺/CD8⁺ estaban prácticamente ausentes en los ganglios linfáticos de drenaje cervical en los ratones tratados con anticuerpos (figura 7C). Dos semanas después del tratamiento con anti CD8, la medición del tamaño de tumores de la oreja en el punto extremo mostró de nuevo que el tratamiento con el Compuesto 1 inhibió el crecimiento del tumor como se indica (triángulos de color verde delineados), mientras que el anti CD8 anuló este efecto (similar a los niveles de los grupos tratados con el vehículo) (figura 7D). En el modelo DNFB-MBL2, el tamaño de los ganglios linfáticos cervicales de drenaje ipsilaterales se correlacionó bien con la metástasis ganglionar. Como se muestra en la figura 7E, la reducción del tamaño de los ganglios linfáticos cervicales con el tratamiento con el Compuesto 1 se revirtió por el agotamiento de los linfocitos T CD8. Por lo tanto, el tratamiento con el Compuesto 1 requiere la presencia de linfocitos T CD8⁺ para una reducción eficaz del crecimiento del tumor, así como de la metástasis de los ganglios linfáticos.

Ejemplo 7: El bloqueo de macrófagos actúa en sinergia con anti PD1 para limitar el crecimiento del tumor MBL2

El papel de PD1 en la evasión inmunitaria del cáncer está bien establecido en la medida en que las células tumorales o las células presentadoras de antígeno, tales como los macrófagos, expresan PD-L1 e interactúan con los linfocitos T CD8 positivos para PD-1 para volverlos anérgicos con respecto a la actividad antitumoral. Por lo tanto, los inhibidores que bloquean la interacción entre PD-1 y PD-L1 pueden mejorar las respuestas de los linfocitos T, conocidas como bloqueo de puntos de control inmunitario. En comparación con las células MBL2 cultivadas *in vitro*, el tumor MBL2 formado en ratones exhibió un aumento significativo de PD-L1 (figura 8A). De manera similar a los resultados con el Compuesto 1, el bloqueo por anticuerpos del eje PD-1/PD-L1 en este modelo MBL2 podría retrasar eficazmente el crecimiento tumoral, pero no pudo eliminar los tumores (figura 9A-B). Esto impulsa a aplicar una terapia combinada en lugar de un solo agente para lograr mejores efectos antitumorales.

Para la terapia combinada, los ratones se trataron con anti PD1 a razón de 10 mg/kg cada dos días comenzando el mismo día del primer tratamiento con el Compuesto 1 y la implantación del tumor (figura 8B). Cuando los ratones fueron sacrificados después de completar el tratamiento de dos semanas, se analizaron los bazo en cada grupo y se encontró que la cantidad de linfocitos T CD8 productores de IFN-γ aumentó significativamente en el grupo tratado con la combinación del Compuesto 1 y anti PD1, lo que sugiere que estos ratones exhiben una inmunidad antitumoral más fuerte (figura 8C). Al examinar el tamaño de los tumores de la oreja, se encontró que la terapia combinada, pero no el tratamiento con anti PD1 y vehículo, inhibió significativamente el crecimiento de los tumores de la oreja en comparación con el grupo de control tratado con isotipo y vehículo. De acuerdo con las observaciones anteriores del modelo MBL2/DNFB durante períodos de tiempo prolongados, es decir, más de 6 semanas después de la implantación del tumor, los ratones con un grosor de oreja inferior a 1 mm a las dos semanas rara vez, o nunca, desarrollan tumores. Como se muestra por la línea discontinua horizontal en el gráfico, casi el 75 % de los ratones del grupo de tratamiento combinado tenían un grosor de tumor inferior a 1 mm, lo que sugiere una desaparición del tumor a largo plazo (figura 8D).

Bibliografía

1. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M: Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010, 140:883-899.
2. Franklin RA, Liao W, Sarkar A, Kim MV, Bivona MR, Liu K, Pamer EG, Li MO: The cellular and molecular origin of tumor-associated macrophages. *Science* 2014, 344:921-925.
3. Yang L, Zhang Y: Tumor-associated macrophages: from basic research to clinical application. *J Hematol Oncol*

2017, 10:58.

4. Fujimura T, Kambayashi Y, Fujisawa Y, Hidaka T, Aiba S: Tumor-Associated Macrophages: Therapeutic Targets for Skin Cancer. *Front Oncol* 2018, 8:3.
5. Fujimura T, Ring S, Umansky V, Mahnke K, Enk AH: Regulatory T cells stimulate B7-H1 expression in myeloid-derived suppressor cells in ret melanomas. *J Invest Dermatol* 2012, **132**:1239-1246.
6. Pedersen MB, Danielsen AV, Hamilton-Dutoit SJ, Bendix K, Norgaard P, Moller MB, Steiniche T, d'Amore F: High intratumoral macrophage content is an adverse prognostic feature in anaplastic large cell lymphoma. *Histopathology* 2014, 65:490-500.
7. Tang X, Mo C, Wang Y, Wei D, Xiao H: Anti-tumour strategies aiming to target tumour-associated macrophages. *Immunology* 2013, 138:93-104.
8. Cheung KJ, Johnson NA, Affleck JG, Severson T, Steidl C, Ben-Neriah S, Schein J, Morin RD, Moore R, Shah SP, et al: Acquired TNFRSF14 mutations in follicular lymphoma are associated with worse prognosis. *Cancer Res* 2010, 70:9166-9174.
9. Stanley ER, Chitu V: CSF-1 receptor signaling in myeloid cells. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2014, 6.
10. Papadopoulos KP, Gluck L, Martin LP, Olszanski AJ, Tolcher AW, Ngarmchamnanrith G, Rasmussen E, Amore BM, Nagorsen D, Hill JS, Stephenson J, Jr.: First-in-Human Study of AMG 820, a Monoclonal Anti-Colony-Stimulating Factor 1 Receptor Antibody, in Patients with Advanced Solid Tumors. *Clin Cancer Res* 2017, 23:5703-5710.
11. Cannarile MA, Weisser M, Jacob W, Jegg AM, Ries CH, Ruttinger D: Colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R) inhibitors in cancer therapy. *J Immunother Cancer* 2017, 5:53.
12. Quail DF, Bowman RL, Akkari L, Quick ML, Schuhmacher AJ, Huse JT, Holland EC, Sutton JC, Joyce JA: The tumor microenvironment underlies acquired resistance to CSF-1R inhibition in gliomas. *Science* 2016, 352:aad3018.
13. Zhang J, Patel L, Pienta KJ: Targeting chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2) as an example of translation of cancer molecular biology to the clinic. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2010, 95:31-53.
14. Chen X, Wang Y, Nelson D, Tian S, Mulvey E, Patel B, Conti I, Jaen J, Rollins BJ: CCL2/CCR2 Regulates the Tumor Microenvironment in HER-2/neu-Driven Mammary Carcinomas in Mice. *PLoS One* 2016, 11:e0165595.
15. Yao M, Smart C, Hu Q, Cheng N: Continuous Delivery of Neutralizing Antibodies Elevate CCL2 Levels in Mice Bearing MCF10CA1d Breast Tumor Xenografts. *Transl Oncol* 2017, 10:734-743.
16. Pienta KJ, Machiels JP, Schrijvers D, Alekseev B, Shkolnik M, Crabb SJ, Li S, Seetharam S, Puchalski TA, Takimoto C, et al: Phase 2 study of carlumab (CNTO 888), a human monoclonal antibody against CC-chemokine ligand 2 (CCL2), in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Invest New Drugs* 2013, 31:760-768.
17. Sandhu SK, Papadopoulos K, Fong PC, Patnaik A, Messiou C, Olmos D, Wang G, Tromp BJ, Puchalski TA, Balkwill F, et al: A first-in-human, first-in-class, phase I study of carlumab (CNTO 888), a human monoclonal antibody against CC-chemokine ligand 2 in patients with solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 2013, 71:1041-1050.
18. Lim SY, Yuzhalin AE, Gordon-Weeks AN, Muschel RJ: Targeting the CCL2-CCR2 signaling axis in cancer metastasis. *Oncotarget* 2016, 7:28697-28710.
19. Yao W, Ba Q, Li X, Li H, Zhang S, Yuan Y, Wang F, Duan X, Li J, Zhang W, Wang H: A Natural CCR2 Antagonist Relieves Tumor-associated Macrophage-mediated Immunosuppression to Produce a Therapeutic Effect for Liver Cancer. *EBioMedicine* 2017, 22:58-67.
20. Zheng Y, Qin L, Zacarias NV, de Vries H, Han GW, Gustavsson M, Dabros M, Zhao C, Cherney RJ, Carter P, et al: Structure of CC chemokine receptor 2 with orthosteric and allosteric antagonists. *Nature* 2016, 540:458-461.
21. Nywening TM, Wang-Gillam A, Sanford DE, Belt BA, Panni RZ, Cusworth BM, Toriola AT, Nieman RK, Worley LA, Yano M, et al: Targeting tumour-associated macrophages with CCR2 inhibition in combination with FOLFIRINOX in patients with borderline resectable and locally advanced pancreatic cancer: a single-centre, open-label, dose-finding, non-randomised, phase 1b trial. *Lancet Oncol* 2016, 17:651-662.
22. Roblek M, Calin M, Schlesinger M, Stan D, Zeisig R, Simionescu M, Bendas G, Borsig L: Targeted delivery of CCR2 antagonist to activated pulmonary endothelium prevents metastasis. *J Control Release* 2015, 220:341-347.
23. Hwang ST, Janik JE, Jaffe ES, Wilson WH: Mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Lancet* 2008, 371:945-957.
24. Krejsgaard T, Lindahl LM, Mongan NP, Wasik MA, Litvinov IV, Iversen L, Langhoff E, Woetmann A, Odum N: Malignant inflammation in cutaneous T-cell lymphoma—a hostile takeover. *Semin Immunopathol* 2017, 39:269-282.
25. Wu X, Hwang ST: Cutaneous T-Cell Lymphoma: The Yin and Yang of Inflammation and Neoplasia. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2015, 17:34-35.
26. Sugaya M, Miyagaki T, Ohmatsu H, Suga H, Kai H, Kamata M, Fujita H, Asano Y, Tada Y, Kadono T, et al: Association of the numbers of CD163(+) cells in lesional skin and serum levels of soluble CD163 with disease progression of cutaneous T cell lymphoma. *J Dermatol Sci* 2012, 68:45-51.
27. Miyagaki T, Sugaya M, Suga H, Ohmatsu H, Fujita H, Asano Y, Tada Y, Kadono T, Sato S: Increased CCL18 expression in patients with cutaneous T-cell lymphoma: association with disease severity and prognosis. *J EurAcad Dermatol Venereol* 2013, 27:e60-67.
28. Wu X, Sells RE, Hwang ST: Upregulation of inflammatory cytokines and oncogenic signal pathways preceding tumor formation in a murine model of T-cell lymphoma in skin. *J Invest Dermatol* 2011, 131:1727-1734.
29. Wu X, Schulte BC, Zhou Y, Haribhai D, Mackinnon AC, Plaza JA, Williams CB, Hwang ST: Depletion of M2-like tumor-associated macrophages delays cutaneous T-cell lymphoma development *in vivo*. *J Invest Dermatol* 2014, 134:2814-2822.

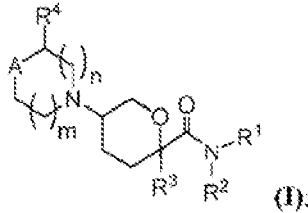
30. Broggi A, Cigni C, Zanoni I, Granucci F: Preparation of Single-cell Suspensions for Cytofluorimetric Analysis from Different Mouse Skin Regions. *J Vis Exp* 2016:e52589.
31. Bonapace L, Coissieux MM, Wyckoff J, Mertz KD, Varga Z, Junt T, Bentires-Alj M: Cessation of CCL2 inhibition accelerates breast cancer metastasis by promoting angiogenesis. *Nature* 2014, 515:130-133.
- 5 32. Hitchcock JR, Watson CJ: Anti-CCL2: building a reservoir or opening the floodgates to metastasis? *Breast Cancer Res* 2015, 17:68.
33. Xue CB, Wang A, Han Q, Zhang Y, Cao G, Feng H, Huang T, Zheng C, Xia M, Zhang K, et al: Discovery of INCB8761/PF-4136309, a Potent, Selective, and Orally Bioavailable CCR2 Antagonist. *ACS Med Chem Lett* 2011, 2:913-918.
- 10 34. Wein L, Savas P, Luen SJ, Virassamy B, Salgado R, Loi S: Clinical Validity and Utility of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Routine Clinical Practice for Breast Cancer Patients: Current and Future Directions. *Front Oncol* 2017, 7:156.
35. Cohen IJ, Blasberg R: Impact of the Tumor Microenvironment on Tumor-Infiltrating Lymphocytes: Focus on Breast Cancer. *Breast Cancer (Auckl)* 2017, 11:1178223417731565.
- 15 36. Peranzoni E, Lemoine J, Vimeux L, Feuillet V, Barrin S, Kantari-Mimoun C, Bercovici N, Guerin M, Biton J, Ouakrim H, et al: Macrophages impede CD8 T cells from reaching tumor cells and limit the efficacy of anti-PD-1 treatment. *Proc Natl Acad Sci U SA* 2018, 115:E4041-E4050.
37. Ahmadzadeh M, Johnson LA, Heemskerk B, Wunderlich JR, Dudley ME, White DE, Rosenberg SA: Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* 2009, 114:1537-1544.
- 20

Aunque la invención anterior se ha descrito con cierto nivel de detalle a modo de ilustración y ejemplo con fines de claridad de comprensión, un experto en la materia apreciará que pueden ponerse en prácticas ciertos cambios y modificaciones dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Cuando exista conflicto entre la presente solicitud y una referencia proporcionada en el presente documento, predominará la presente solicitud.

25

REIVINDICACIONES

1. Un antagonista del receptor de quimiocina 2 (CCR2) para su uso en un método para tratar el linfoma cutáneo de linfocitos T (CTCL), comprendiendo dicho método la administración de una cantidad eficaz de dicho antagonista de CCR2 que tiene la fórmula

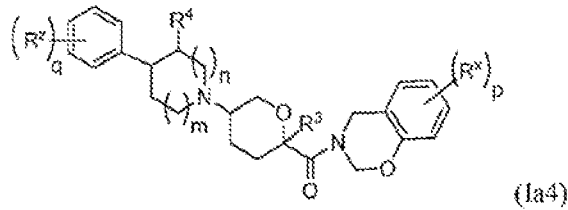


o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, estereoisómero o rotámero del mismo; en donde

- 10 A es C(R⁵)(R⁶) o N(R⁵)
 los subíndices m y n son cada uno independientemente números enteros de 0 a 2, y m + n es ≤3;
 R¹ se selecciona del grupo que consiste en arilo, aril-alquilo C₁₋₄, heteroarilo y heteroaril-alquilo C₁₋₄, en donde la porción heteroarilo tiene de 1-3 heteroátomos como miembros anulares seleccionados de N, O y S; y en donde dichos grupos o porciones arilo y heteroarilo están sustituidas opcionalmente con de 1 a 5 sustituyentes R^x;
 15 R² se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₈, cicloalquil C₃₋₈-alquilo C₁₋₄, arilo, aril-alquilo C₁₋₄, heteroarilo y heteroaril-alquilo C₁₋₄, en donde la porción heteroarilo tiene de 1-3 heteroátomos como miembros anulares seleccionados de N, O y S; y en donde dichos grupos o porciones arilo y heteroarilo están sustituidas opcionalmente con de 1 a 4 sustituyentes R^x;
 20 u, opcionalmente, R¹ y R² se combinan con el átomo de nitrógeno al que están unidos cada uno para formar un anillo monocíclico o bicíclico-heterocíclico condensado o heteroarilo de 6 a 11 miembros, en donde -NR¹R² está opcionalmente sustituidos además con de 1 a 4 sustituyentes R^x;
 R³ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₈ y cicloalquil C₃₋₈-alquilo C₁₋₄, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con 1-3 sustituyentes R^y;
 25 R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈ opcionalmente sustituido con de 1 a 2 R^y, y -CO₂H;
 R⁵ se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈, alcoxi C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₈, cicloalquiloxi C₃₋₈, cicloalquil C₃₋₈-alquilo C₁₋₄, alquilamino C₁₋₈, di-alquilamino C₁₋₈, arilo, ariloxi, arilamino, aril-alquilo C₁₋₄, heteroarilo, heteroariloxi, heteroarilamino y heteroaril-alquilo C₁₋₄, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con de 1 a 5 sustituyentes R^z;
 30 R⁶ se selecciona del grupo que consiste en H, F, OH, alquilo C₁₋₈ y alcoxi C₁₋₈, en donde los grupos alquilo C₁₋₈ y alcoxi C₁₋₈ están opcionalmente sustituidos con de 1 a 3 sustituyentes R^z;
 u, opcionalmente, R⁵ y R⁶ se unen para formar un anillo cicloalquilo espirocíclico de 5 o 6 miembros que está opcionalmente insaturado y tiene un grupo arilo condensado que está opcionalmente sustituido con de 1 a 4 sustituyentes R^z;
 35 cada R^x se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -CN, -R^c, -CO₂R^a, -CONR^aR^b, -C(O)R^a, -OC(O)NR^aR^b, -NR^bC(O)R^a, -NR^bC(O)₂R^c, -NR^a-C(O)NR^aR^b, -NR^aC(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -OR^a, -O-X¹-OR^a, -O-X¹-NR^aR^b, -O-X¹-CO₂R^a, -O-X¹-CONR^aR^b, -X¹-OR^a, -X¹-NR^aR^b, -X¹-CO₂R^a, -X¹-CONR^aR^b, -SF₅, -S(O)₂NR^aR^b y arilo o heteroarilo de 5 o 6 miembros, en donde cada X¹ es un alquilenilo C₁₋₄; cada uno de R^a y R^b se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₈ y haloalquilo C₁₋₈ o, cuando se unen al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de cinco o seis miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales como miembros anulares seleccionados de N, O o S, y opcionalmente sustituidos con oxo; cada R^c se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈, haloalquilo C₁₋₈ y cicloalquilo C₃₋₆; y opcionalmente, cuando dos sustituyentes R^x están en átomos adyacentes, se combinan para formar un anillo carbocíclico condensado de cinco o seis miembros, y en donde los grupos arilo o heteroarilo están opcionalmente sustituidos con 1-3 miembros seleccionados de halógeno, hidroxilo, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄ y haloalcoxi C₁₋₄;
 40 cada R^y se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -CN, -R^f, -CO₂R^d, -CONR^dR^e, -C(O)R^d, -OC(O)NR^dR^e, -NR^eC(O)R^d, -NR^eC(O)₂R^f, -NR^dC(O)NR^dR^e, -NR^dC(O)NR^dR^e, -NR^dR^e, -OR^d y -S(O)₂NR^dR^e, en donde cada R^d y R^e se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₈ y haloalquilo C₁₋₈ o, cuando se unen al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de cinco o seis miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales como miembros anulares seleccionados de N, O o S; cada R^f se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈, haloalquilo C₁₋₈ y cicloalquilo C₃₋₆;
 45 cada R^z se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -CN, -Rⁱ, -CO₂R^g, -CONR^gR^h, -C(O)R^g, -OC(O)NR^gR^h, -NR^hC(O)R^g, -NR^gC(O)₂Rⁱ, -NR^gC(O)NR^gR^h, -NR^gR^h, -OR^g, -S(O)₂NR^gR^h, -X¹-Rⁱ, -X¹-NR^gR^h, -X¹-CONR^gR^h, -X¹-NR^hC(O)R^g, -NHRⁱ, -NHCH₂Rⁱ y tetrazol; en donde cada R^g y R^h se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₆ y haloalquilo C₁₋₈, o cuando se unen al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de cinco o seis miembros que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales como miembros del anillo seleccionados de N, O o S y está

opcionalmente sustituido con uno o dos oxo; cada Rⁱ se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈, haloalquilo C₁₋₈ y cicloalquilo C₃₋₆; y cada Rⁱ se selecciona del grupo que consiste en cicloalquilo C₃₋₆, pirrolinilo, piperidinilo, morfolinilo, tetrahidrofuranilo y tetrahidropiranilo.

5 2. El antagonista de CCR2 para el uso de la reivindicación 1, en donde dicho antagonista de CCR2 tiene la fórmula:

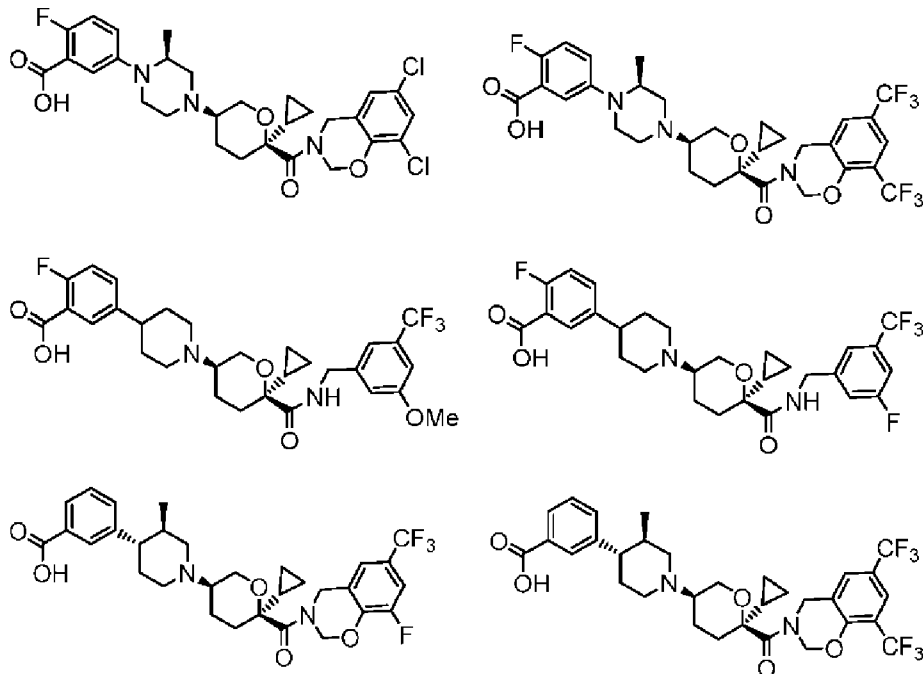


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; en donde

- 10 los subíndices m y n son cada uno independientemente 1;
 R³ se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈ y cicloalquilo C₃₋₈;
 R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H y alquilo C₁₋₈;
 el subíndice p es 1 o 2;
 15 cada R^x se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -R^c, -OR^a, -O-X¹-OR^a y -X¹-OR^a,
 en donde cada X¹ es un alquilenilo C₁₋₄; cada R^a se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁₋₈ y haloalquilo C₁₋₈; cada R^c
 se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₈ y haloalquilo C₁₋₈;
 el subíndice q es 1 o 2;
 20 cada R² se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -R¹, -CO₂R⁹ y tetrazol; en donde
 cada R⁹ se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁₋₈ y haloalquilo C₁₋₈; cada R¹ se selecciona independientemente del
 grupo que consiste en alquilo C₁₋₈ y haloalquilo C₁₋₈.

3. El antagonista de CCR2 para el uso de la reivindicación 1, en donde dicho antagonista de CCR2 se selecciona del grupo que consiste en

25

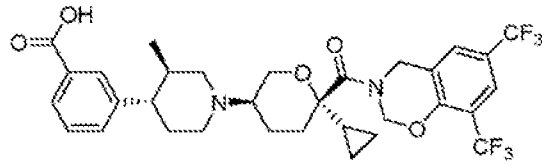


30

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. El antagonista de CCR2 para el uso de la reivindicación 1, en donde dicho antagonista de CCR2 tiene la fórmula del Compuesto 1

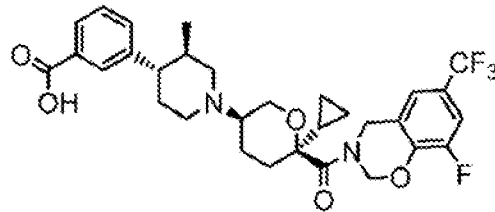
35



(Compuesto 1)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

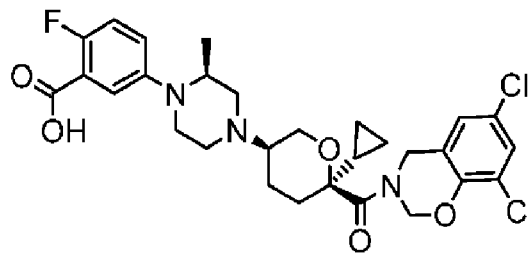
- 5 5. El antagonista de CCR2 para el uso de la reivindicación 1, en donde dicho antagonista de CCR2 tiene la fórmula del Compuesto 2



(Compuesto 2)

- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. El antagonista de CCR2 para el uso de la reivindicación 1, en donde dicho antagonista de CCR2 tiene la fórmula del Compuesto 3



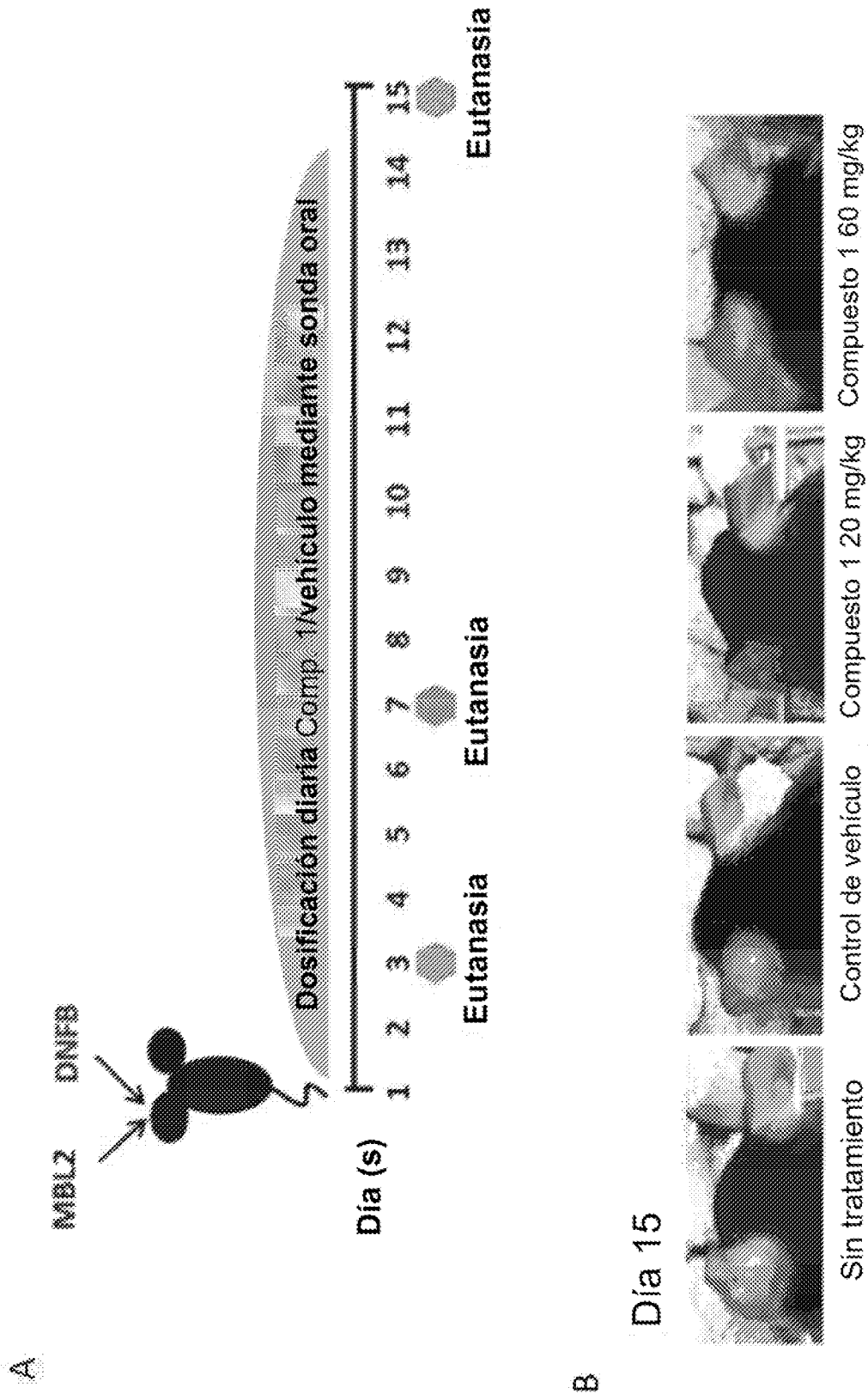
(Compuesto 3)

- 15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
7. El antagonista de CCR2 para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para tratar un tumor sólido, en donde dicho antagonista de CCR2 se administra por vía oral.
8. El antagonista de CCR2 para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para tratar el CTCL en un sujeto que lo necesita, en donde el sujeto tiene CTCL en estadio IA.
- 25 9. El antagonista de CCR2 para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para tratar el CTCL en un sujeto que lo necesita, en donde el sujeto tiene CTCL en estadio IB.
10. El antagonista de CCR2 para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para tratar el CTCL en un sujeto que lo necesita, en donde el sujeto tiene CTCL en estadio IIA.
- 30 11. El antagonista de CCR2 para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para tratar el CTCL en un sujeto que lo necesita, en donde el sujeto tiene CTCL en estadio IIB.
- 35 12. El antagonista de CCR2 para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para tratar el CTCL en un sujeto que lo necesita, en donde el sujeto tiene CTCL en estadio III.
13. El antagonista de CCR2 para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para tratar el CTCL en un sujeto que lo necesita, en donde el sujeto tiene CTCL en estadio IV.
- 40 14. El antagonista de CCR2 para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para tratar un tumor sólido o CTCL, que comprende además la administración de uno o más agentes terapéuticos adicionales.
15. El antagonista de CCR2 para el uso de la reivindicación 14, en donde el uno o más agentes terapéuticos adicionales son un inhibidor de puntos de control inmunitario, opcionalmente,

en donde el inhibidor de puntos de control inmunitario es un inhibidor de PD-1 y/o PD-L1.

16. El antagonista de CCR2 para el uso de la reivindicación **15**, en donde el inhibidor de puntos de control inmunitario es un inhibidor de PD-1 y/o PD-L1, que

- 5
- (i) se selecciona del grupo que consiste en pembrolizumab, nivolumab, IBI-308, mDX-400, BGB-108, MEDI-0680, SHR-1210, PF-06801591, PDR-001, GB-226 y STI-1110; o
 - (ii) se selecciona del grupo que consiste en nivolumab, pembrolizumab y pidilizumab; o
 - (iii) se selecciona del grupo que consiste en durvalumab, atezolizumab, avelumab, BMS-936559, ALN-PDL, TSR-
- 10 042, KD-033, CA-170, CA-327, STI-1014 y KY-1003.



C

Día 15

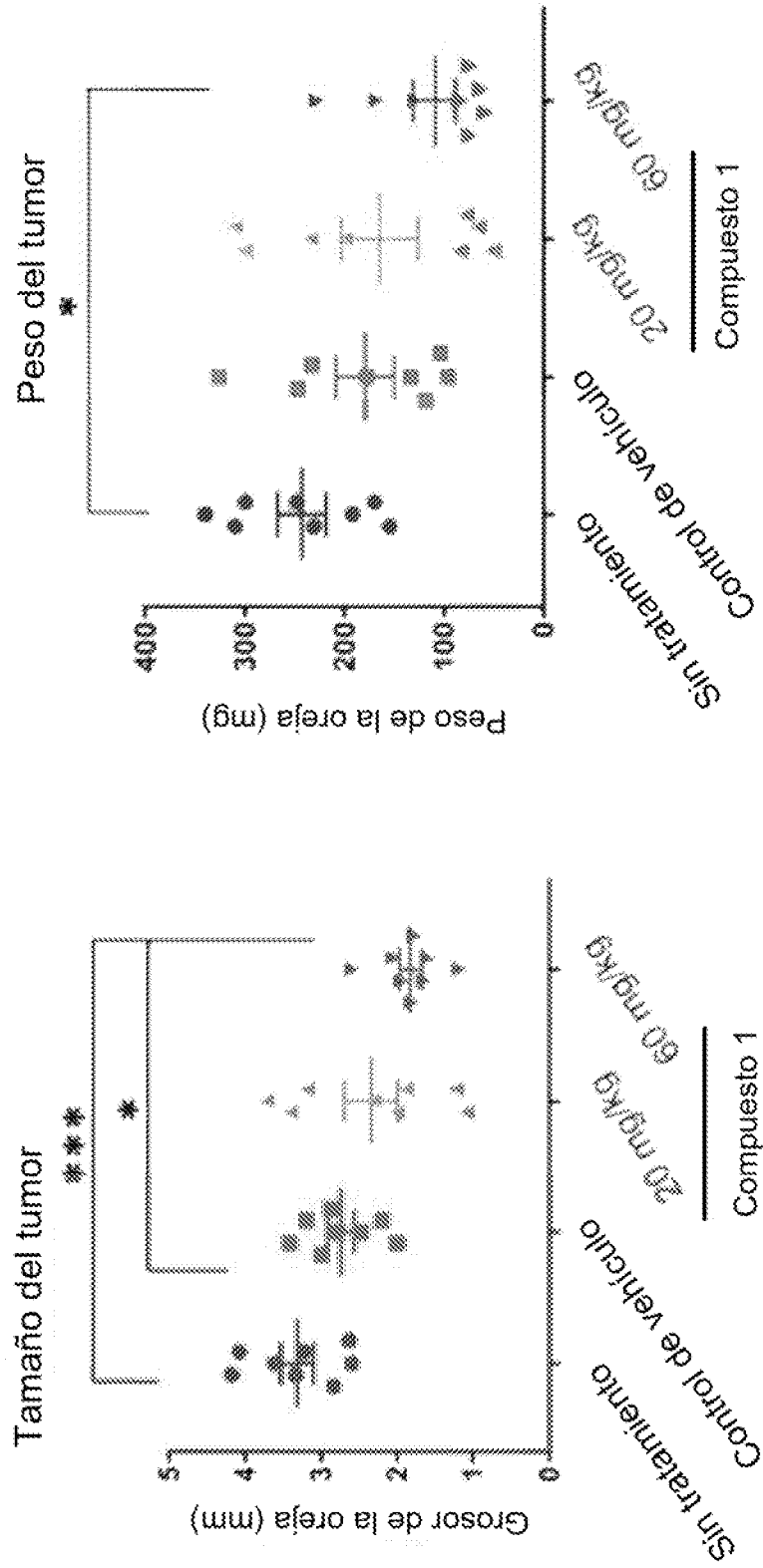


FIG. 1C

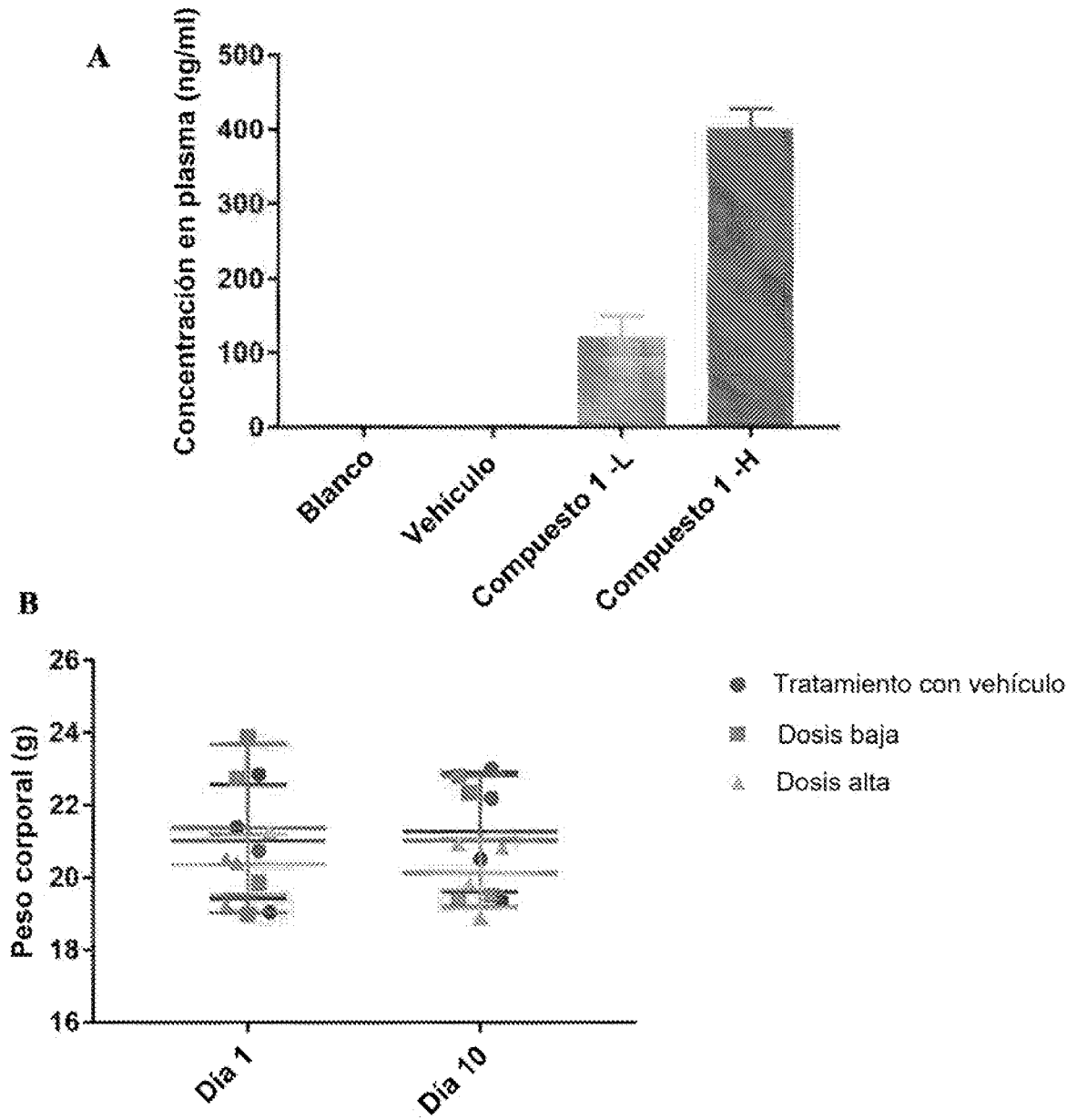


FIG. 2A-B

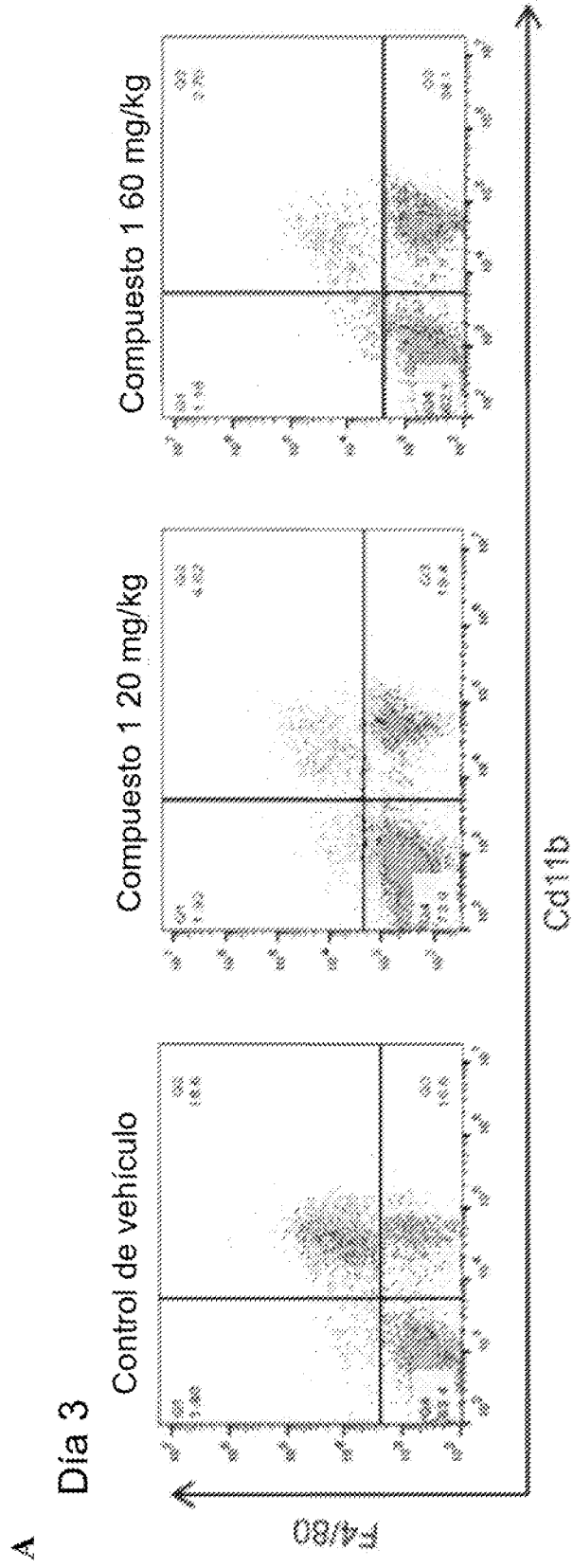


FIG. 3A

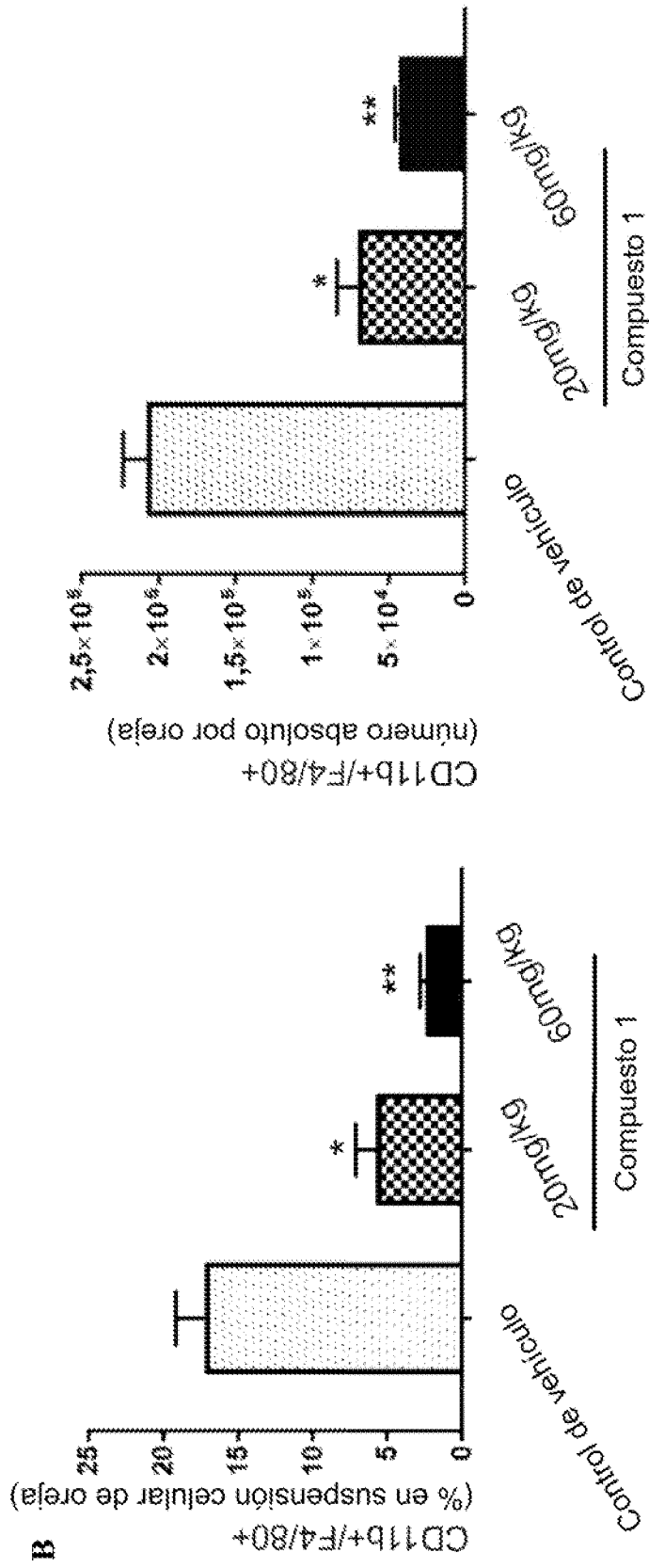


FIG. 3B

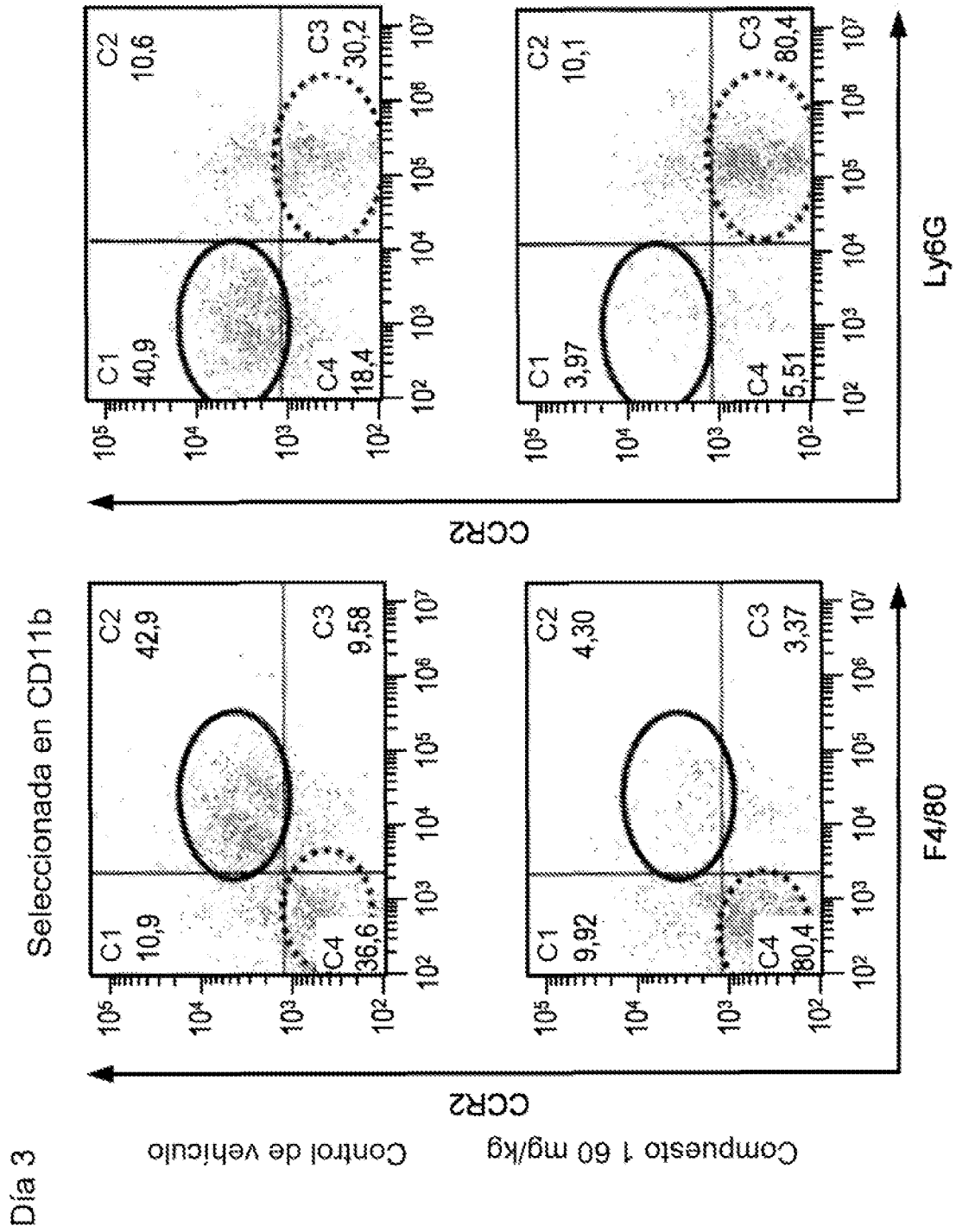


FIG. 3C

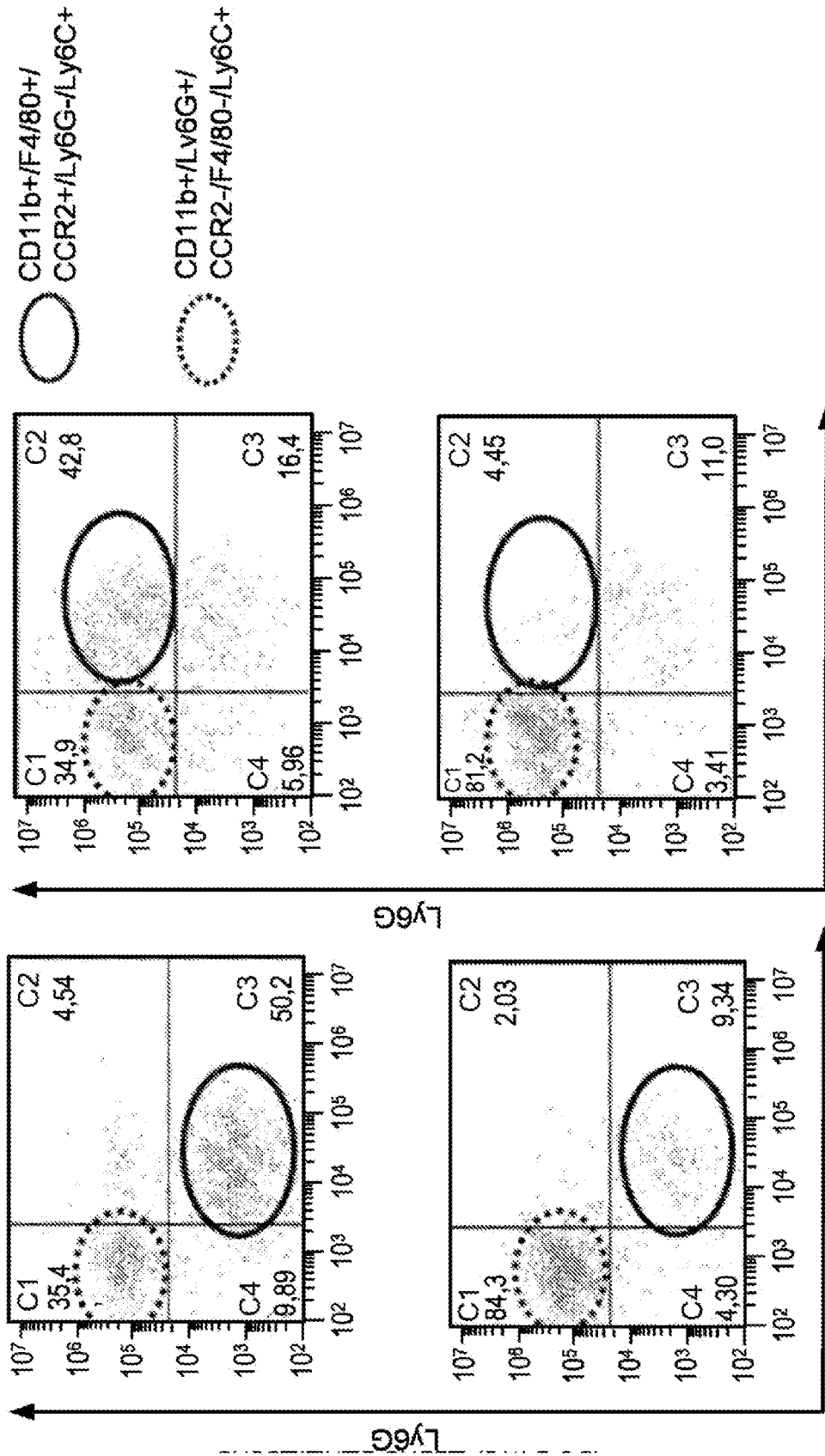


FIG. 3C
(Continuación)

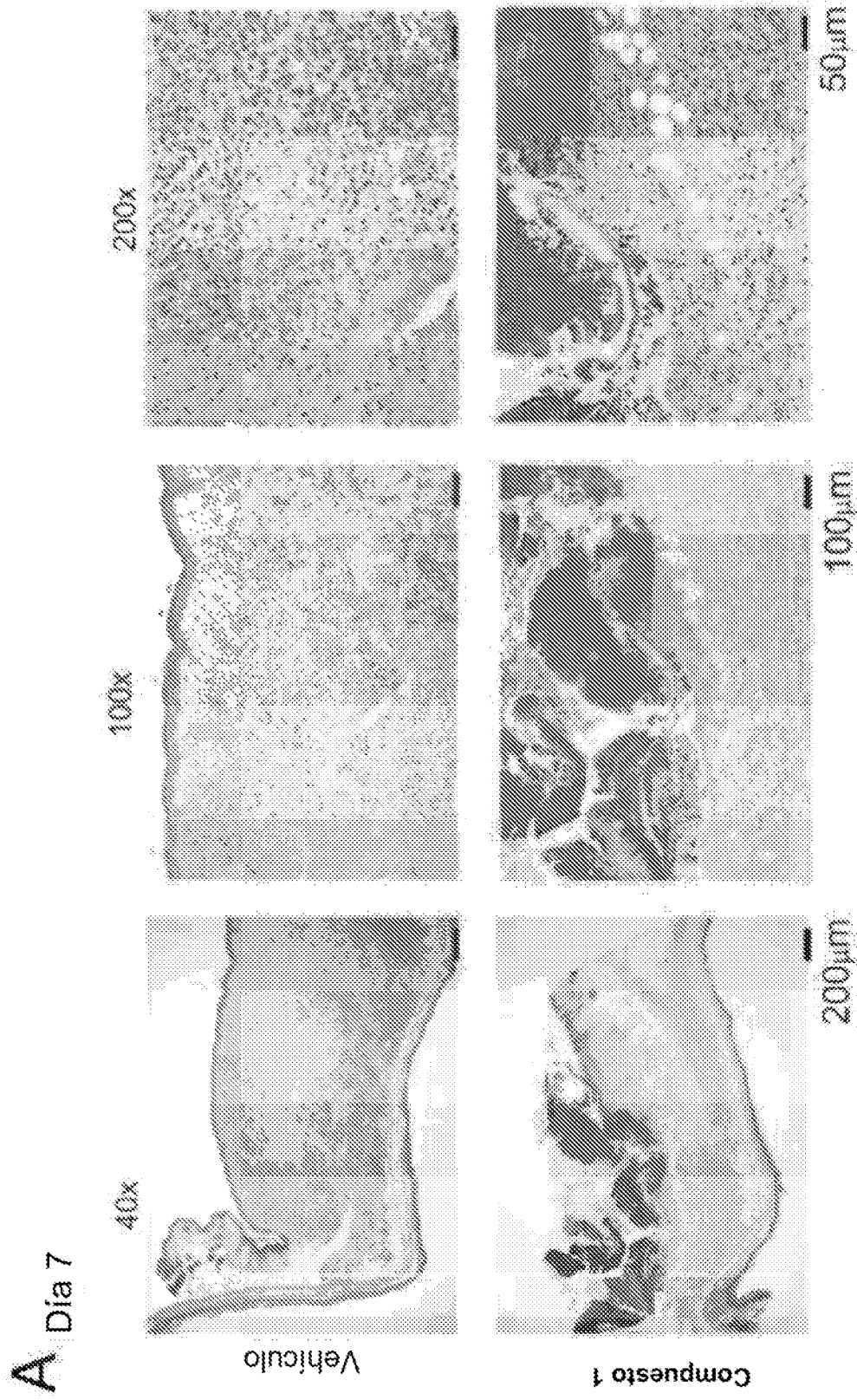
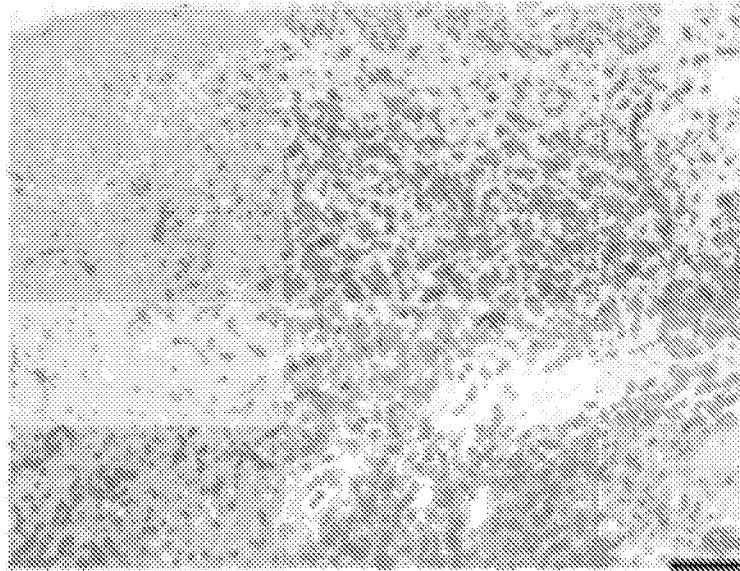


FIG. 4A

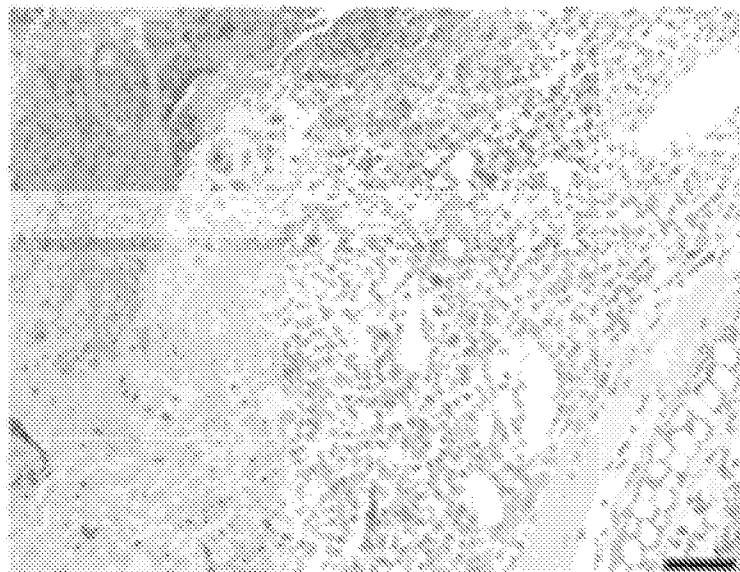
Día 7

IHC: anti F4/80

Vehículo



Compuesto 1



100µm

FIG. 4B

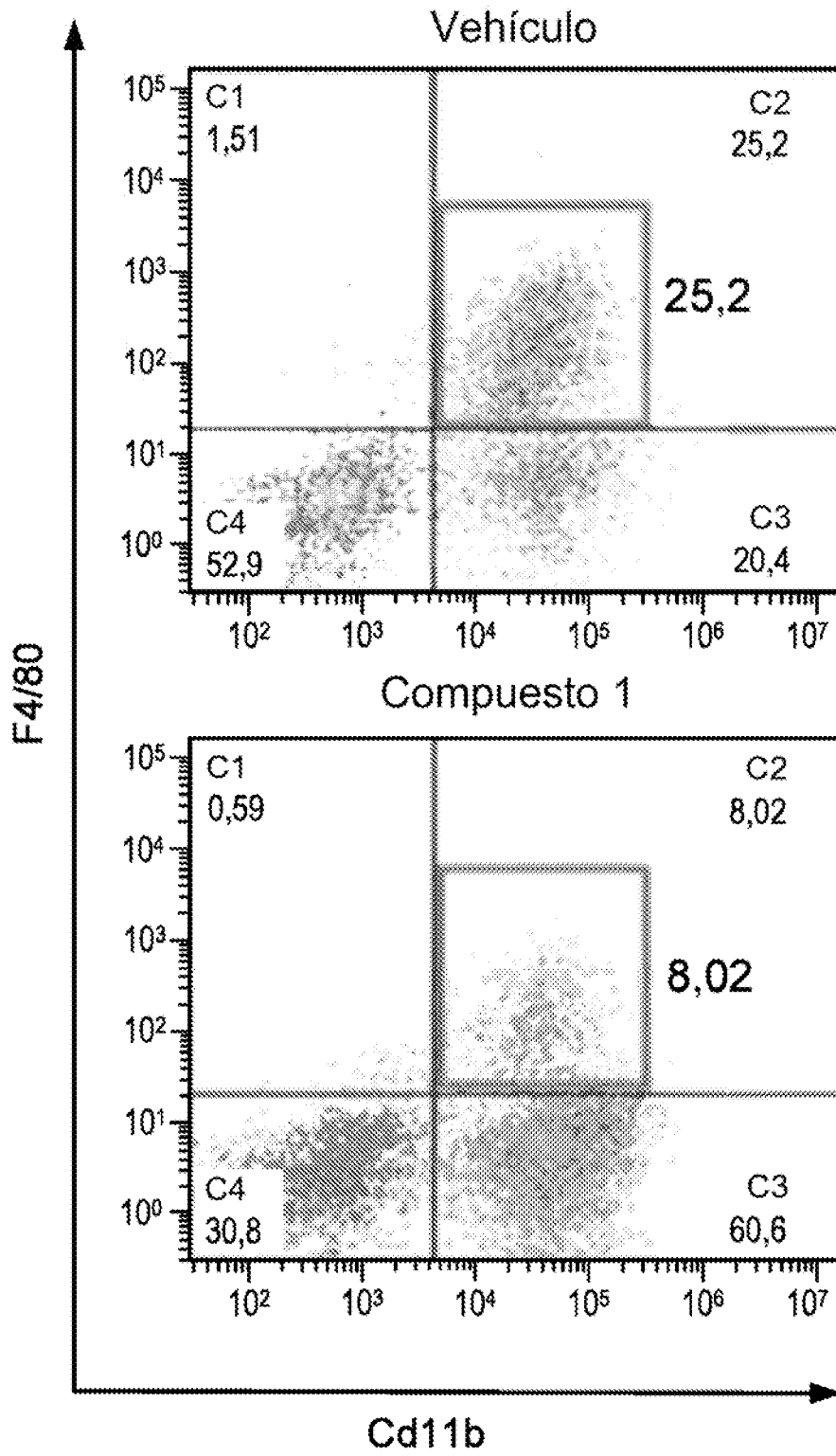


FIG. 4C

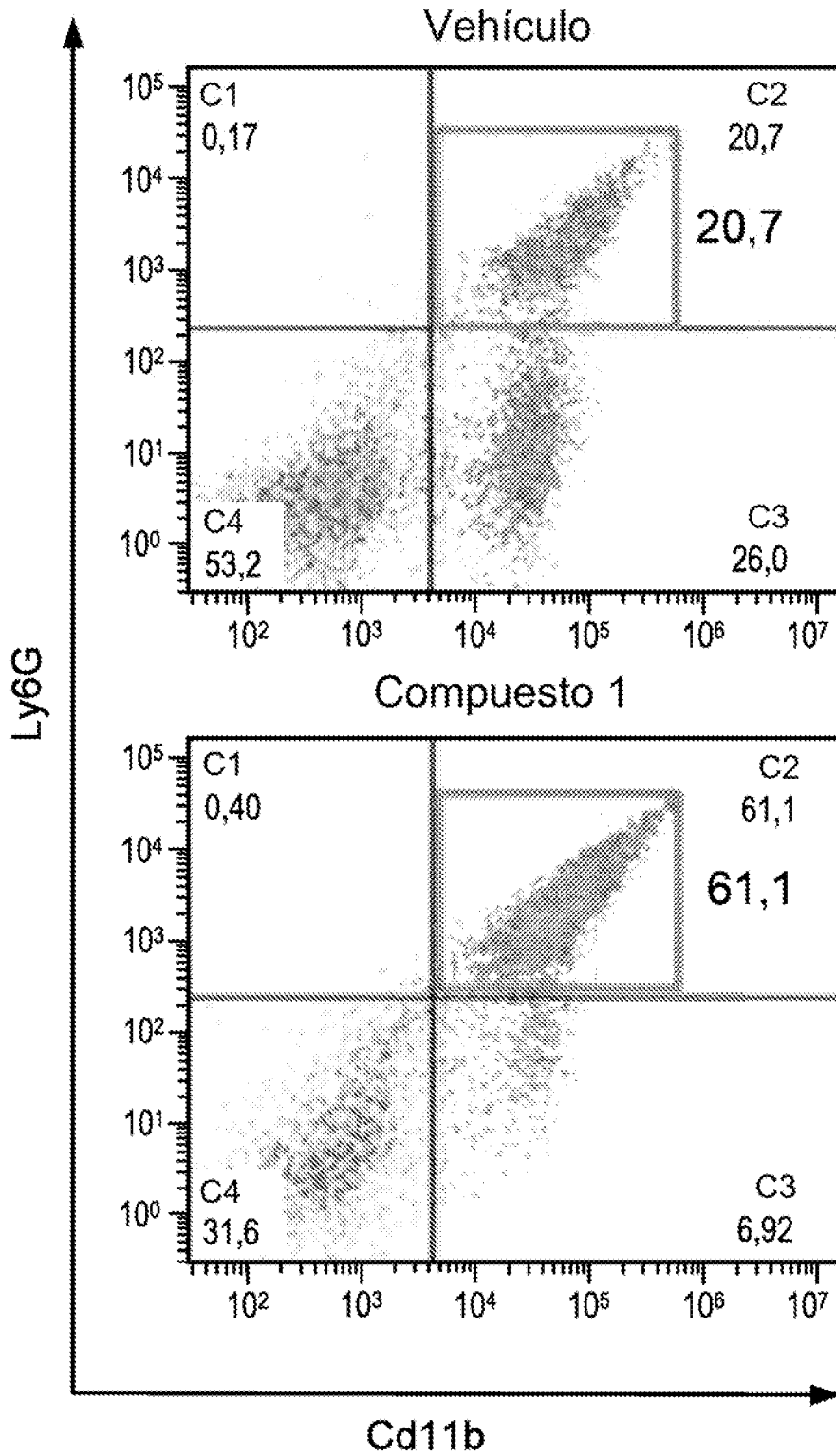
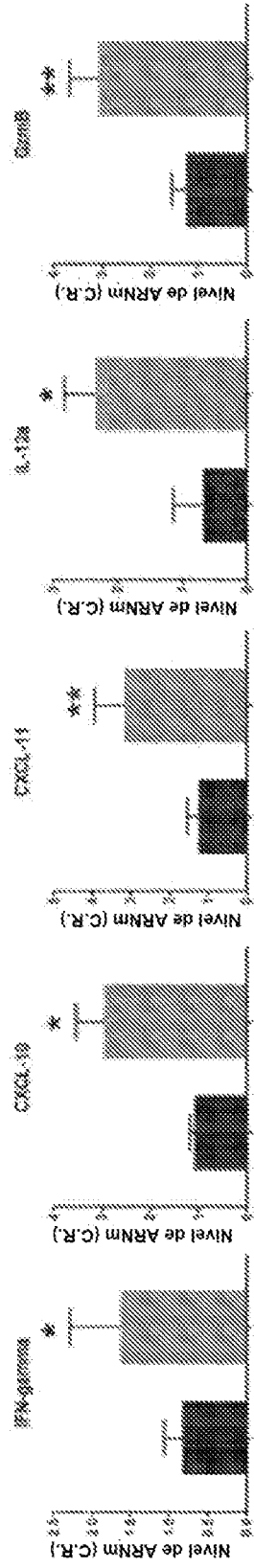


FIG. 4C
(Continuación)

A Citocinas inmunoestimuladoras y marcadores de activación citotóxica



B Citocinas proinflamatorias

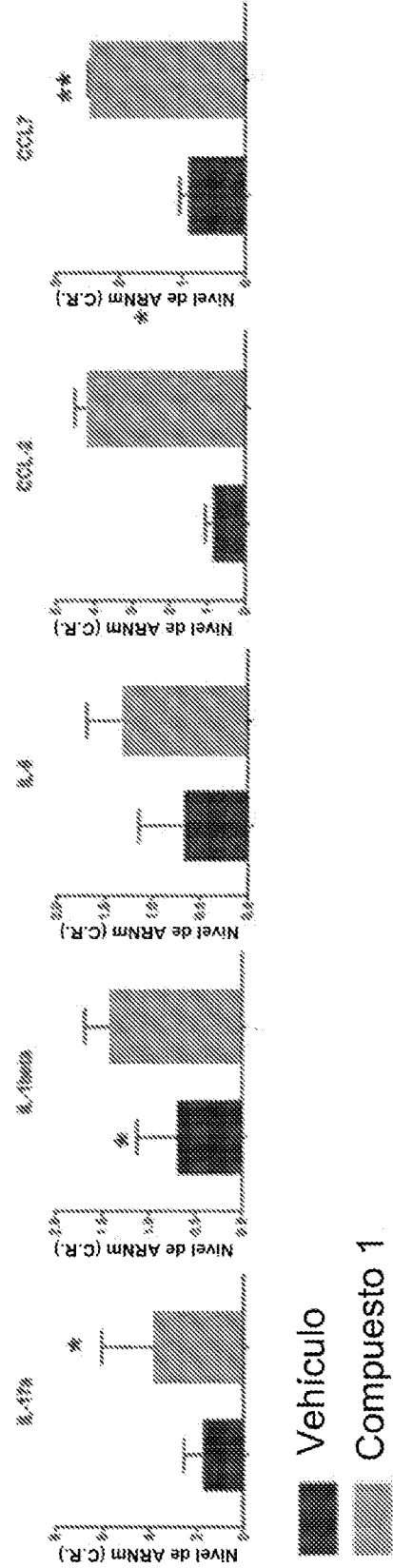


FIG. 5A-B

Quimioatrayentes neutrófilos y biomarcadores

C

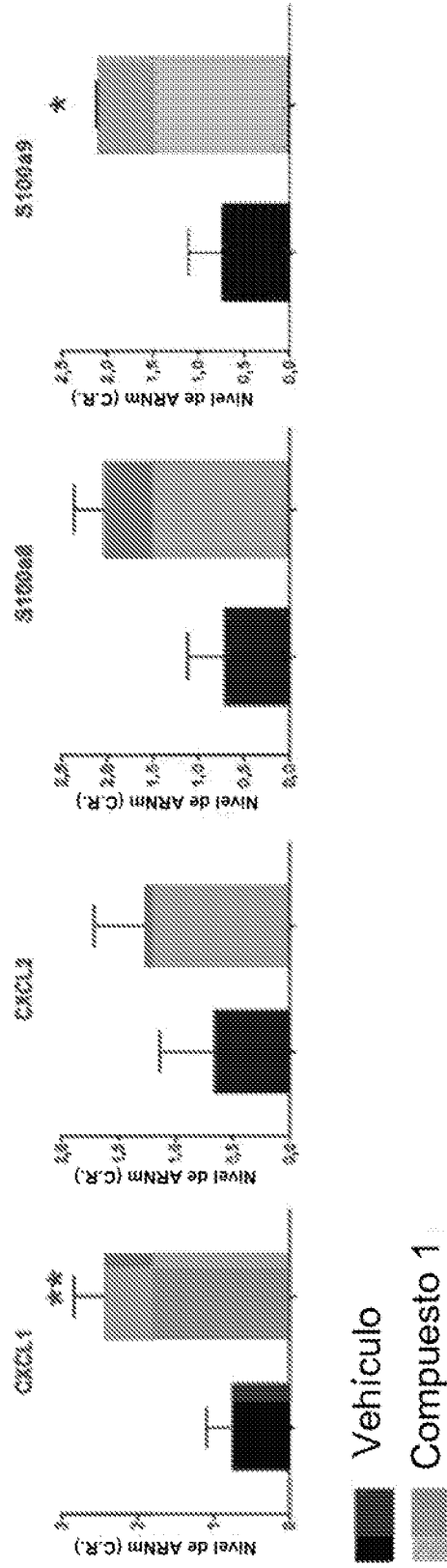


FIG. 5C

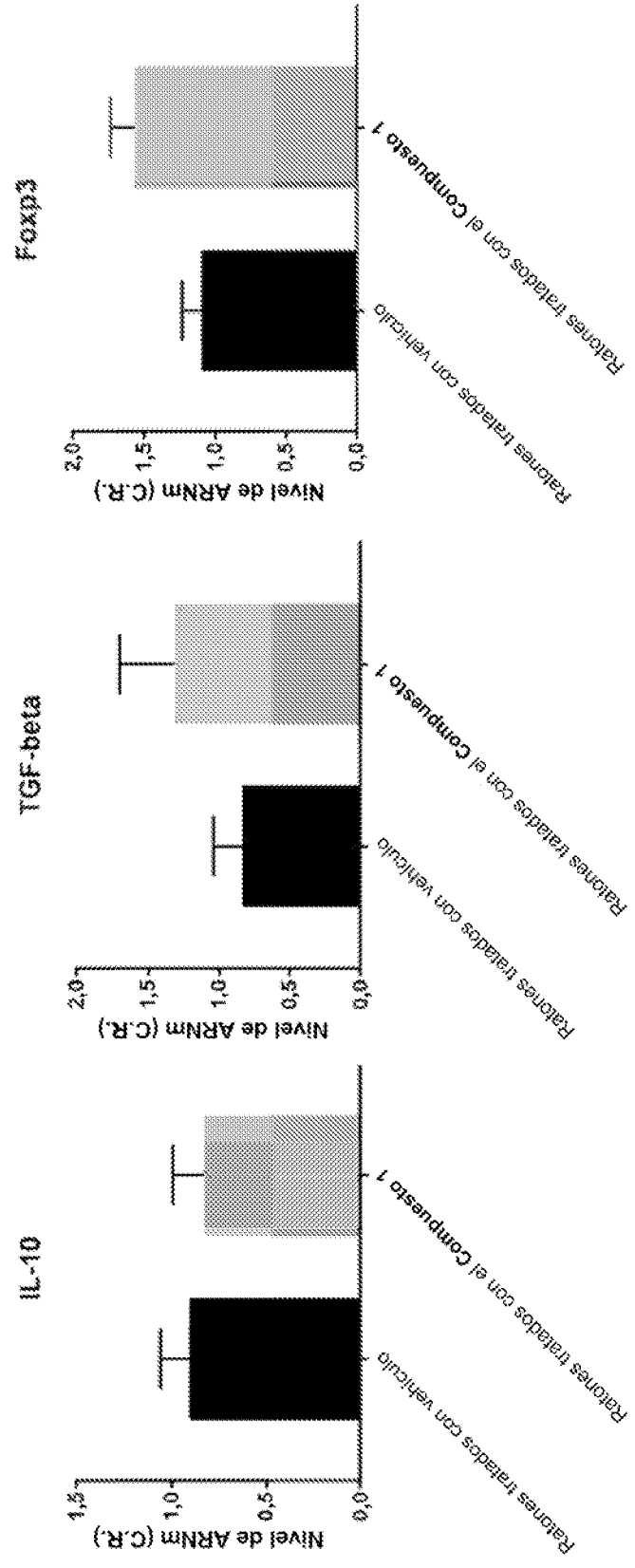


FIG. 6

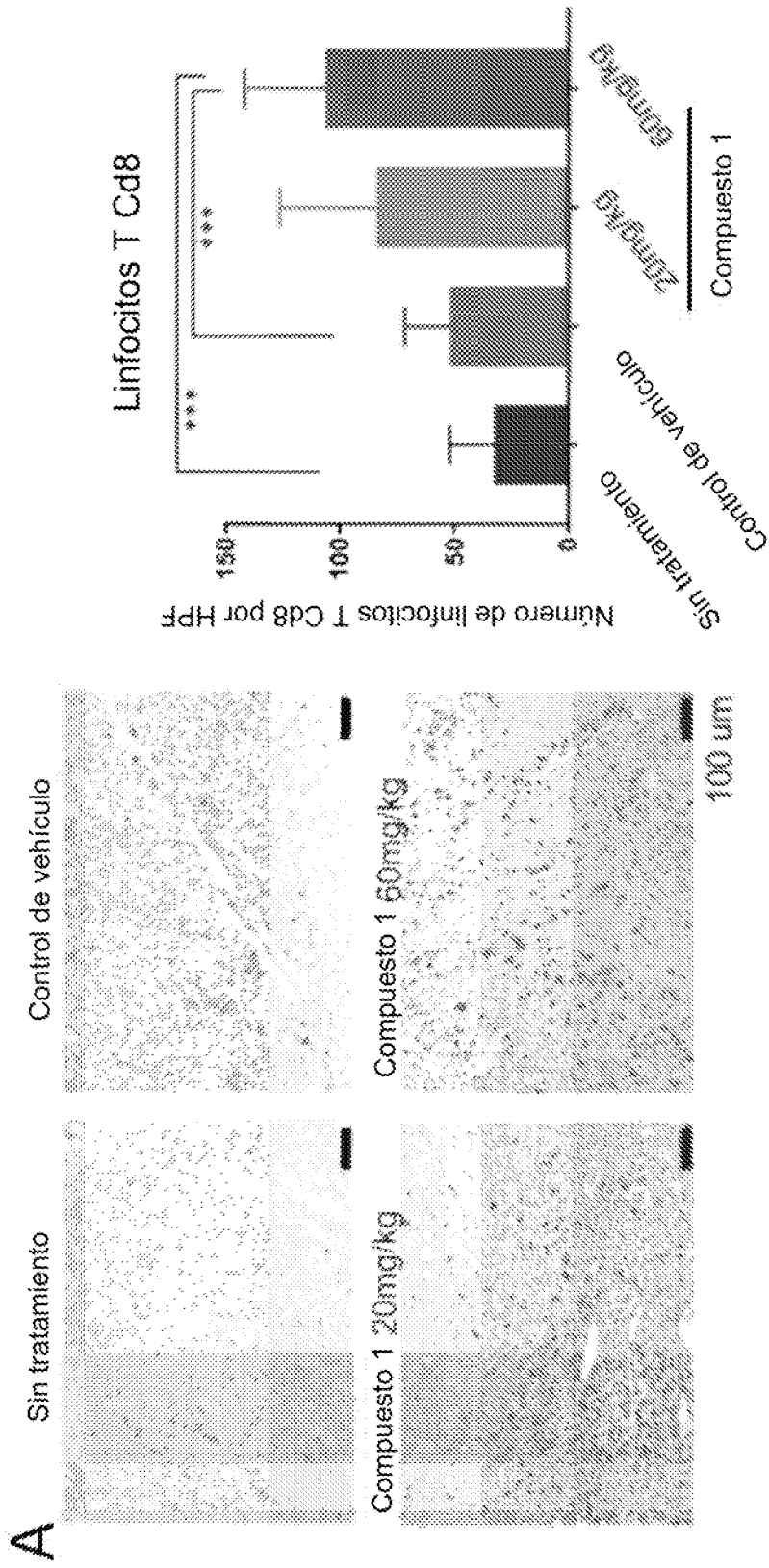


FIG. 7A

B

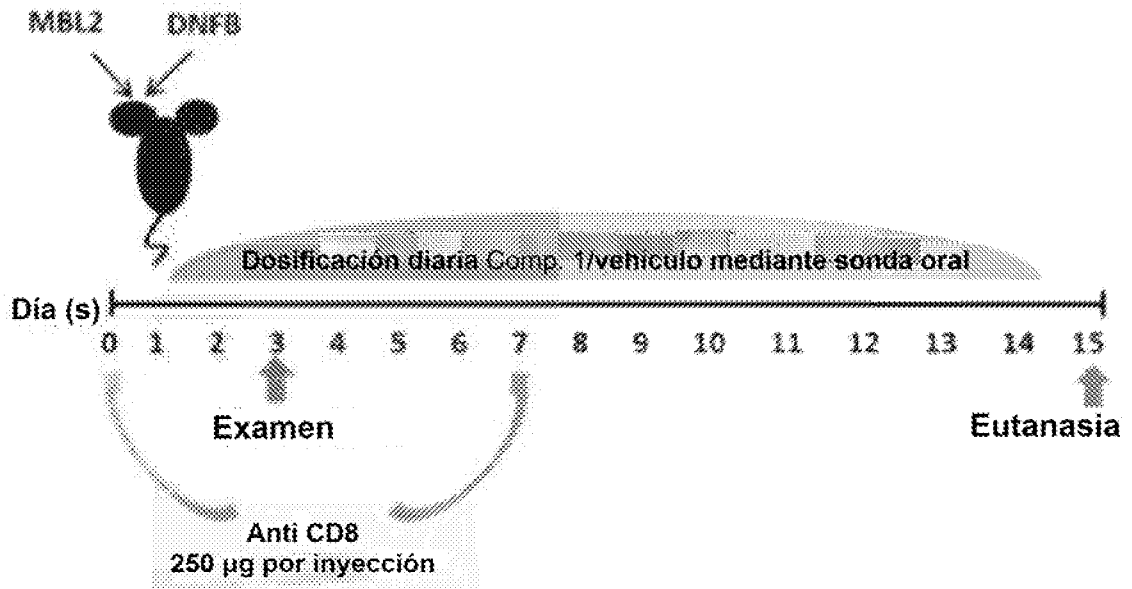


FIG. 7B

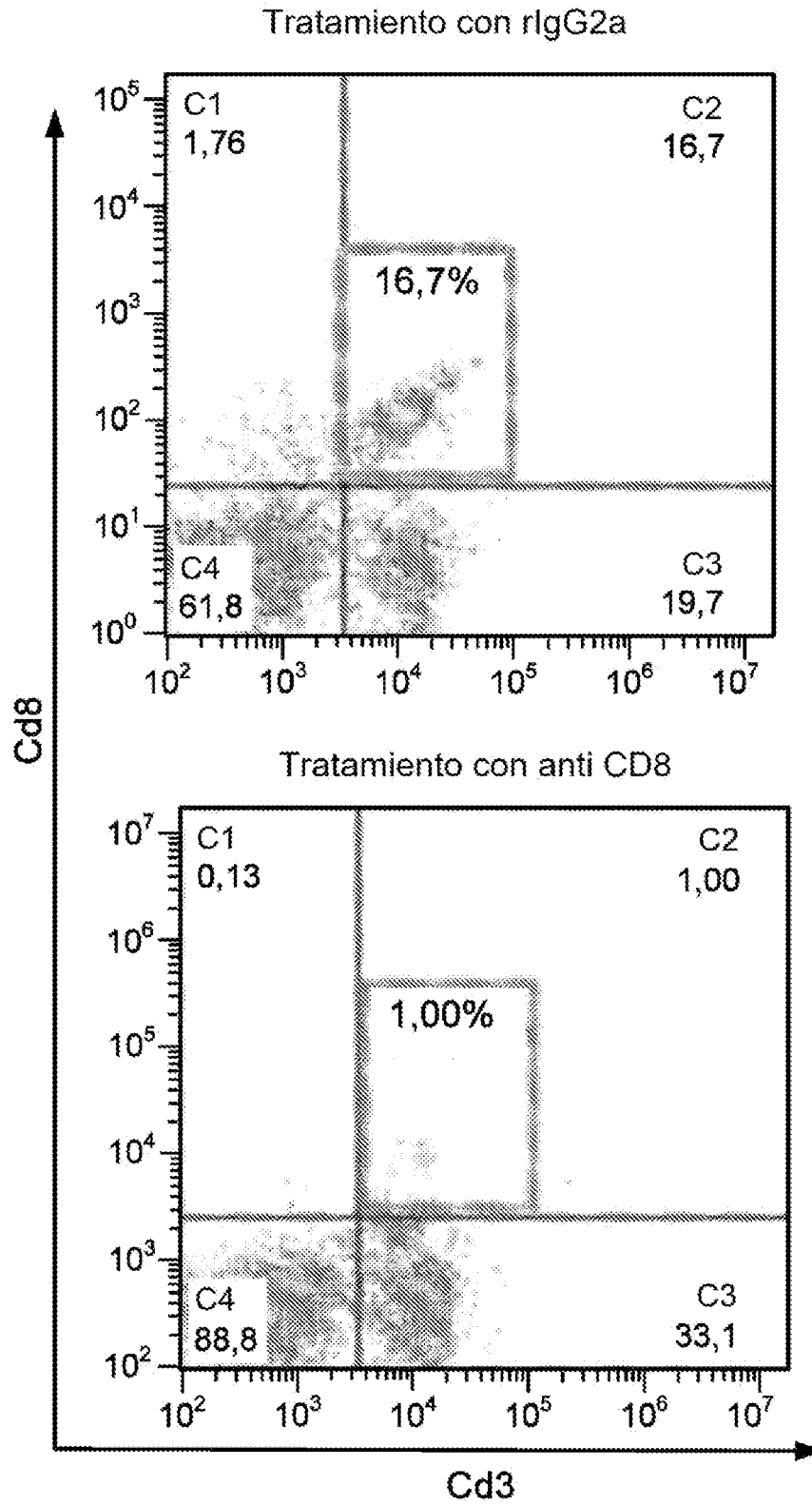


FIG. 7C

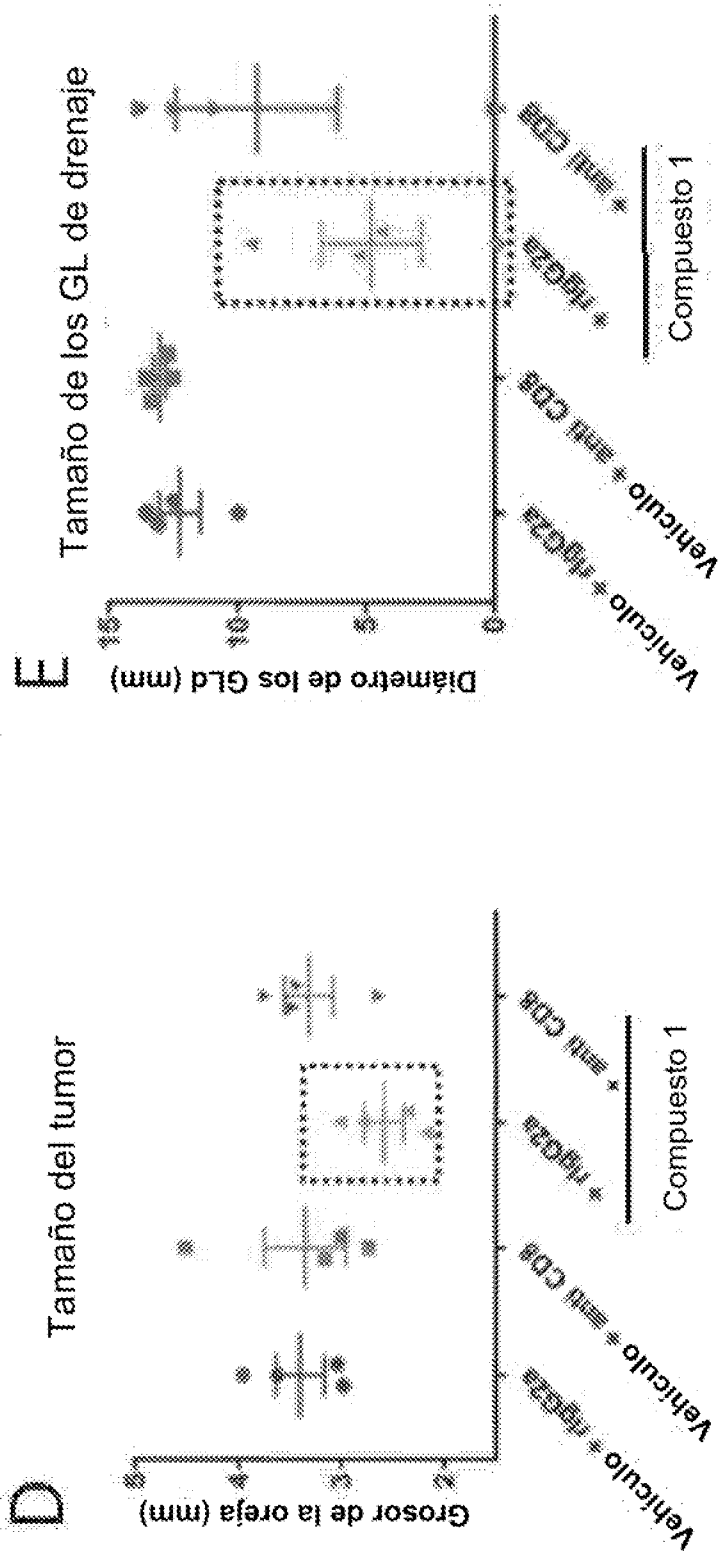


FIG. 7D-E

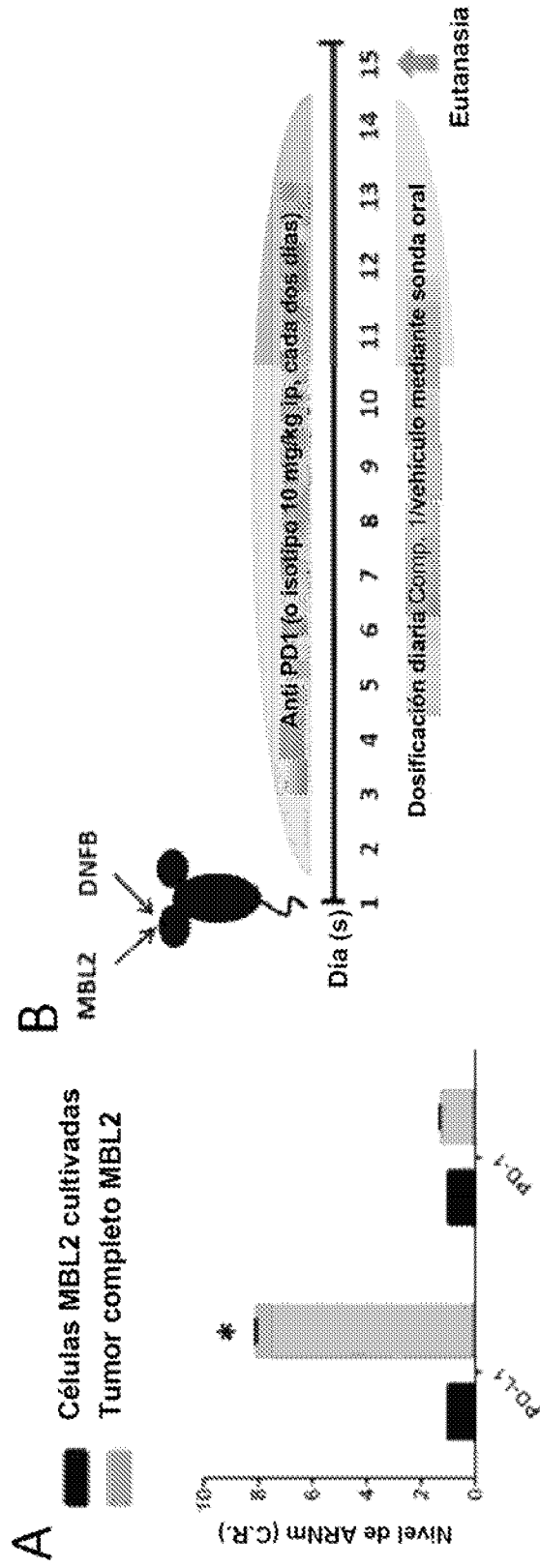


FIG. 8A-B

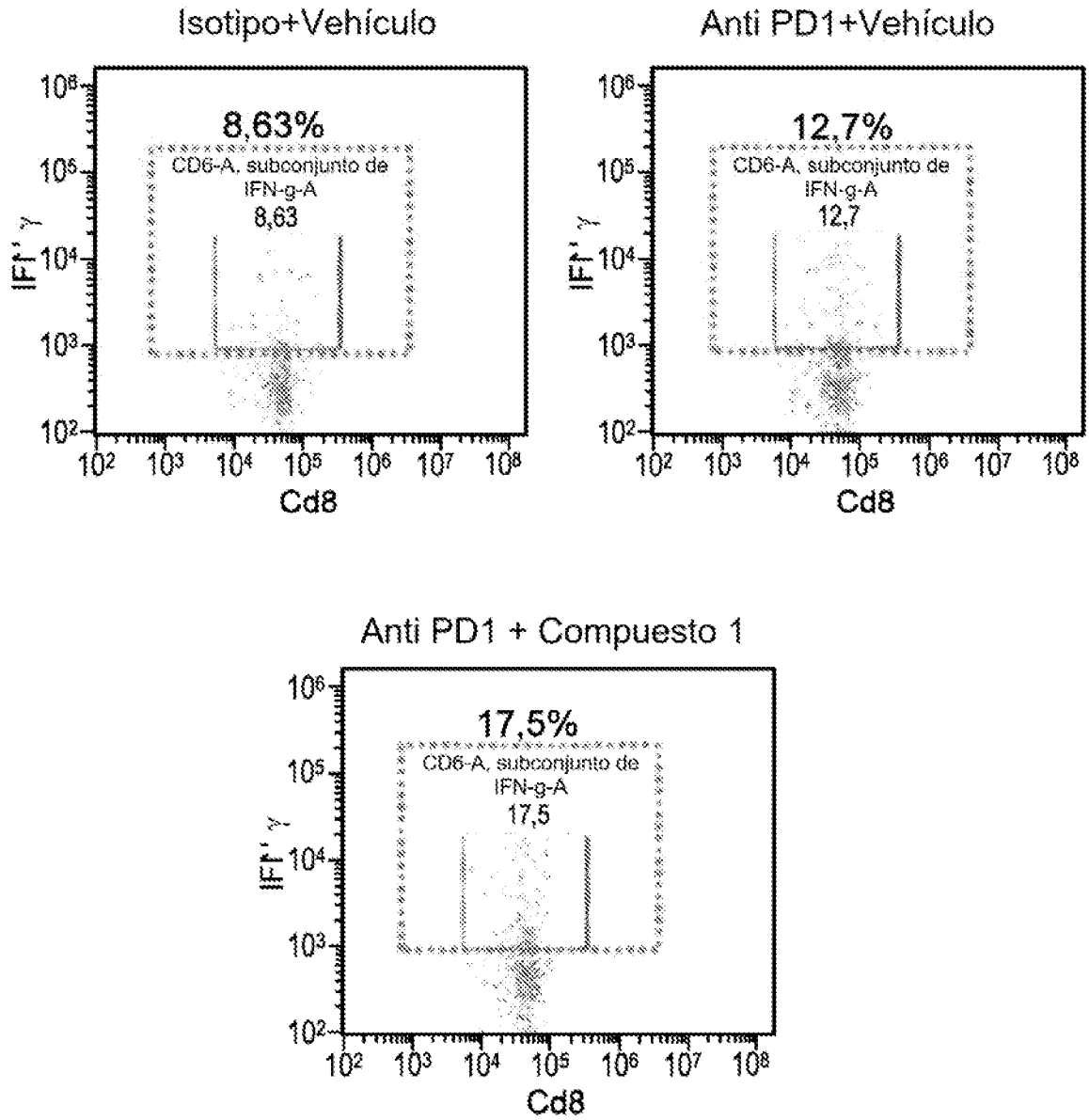


FIG. 8C

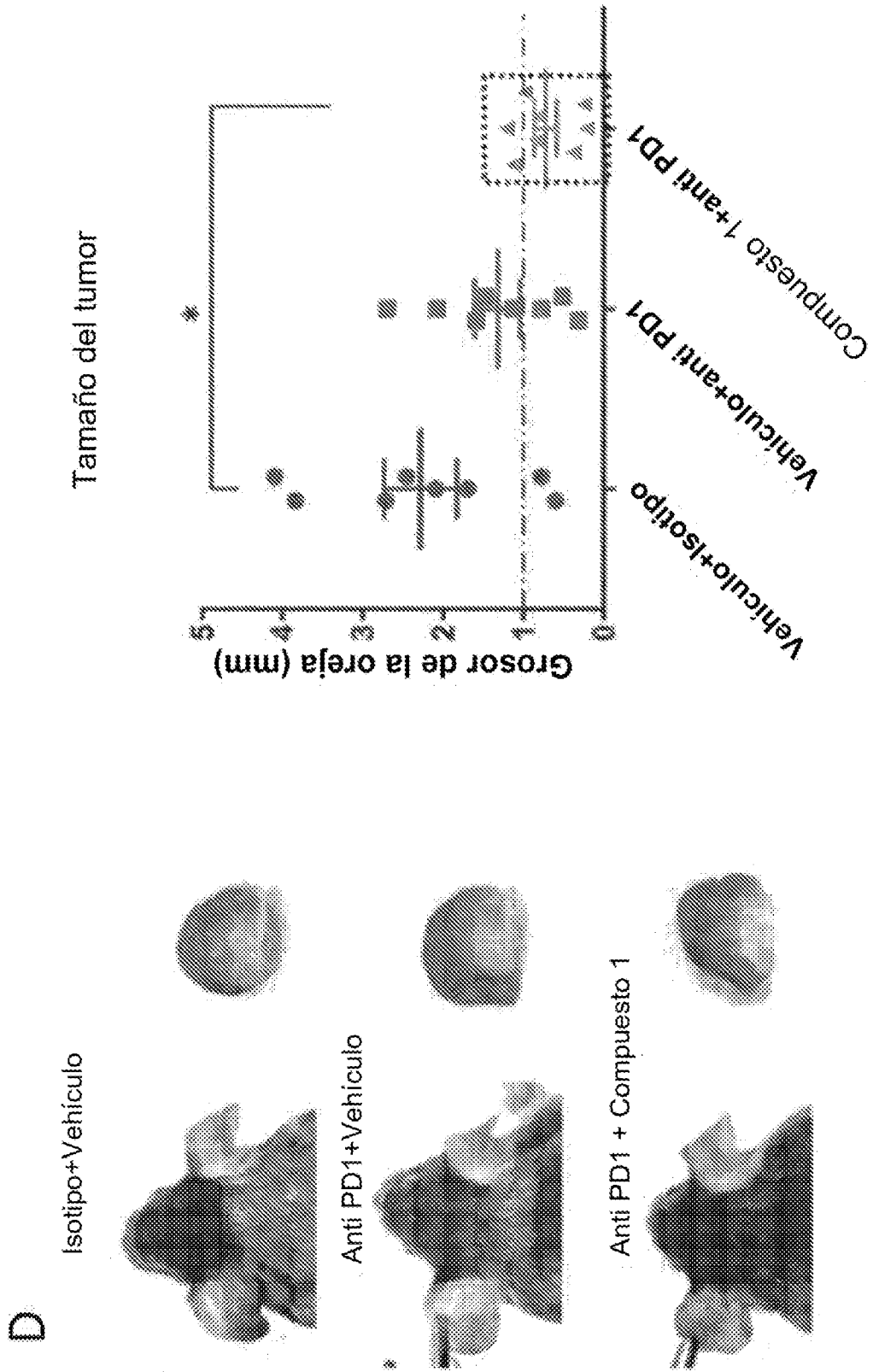


FIG. 8D

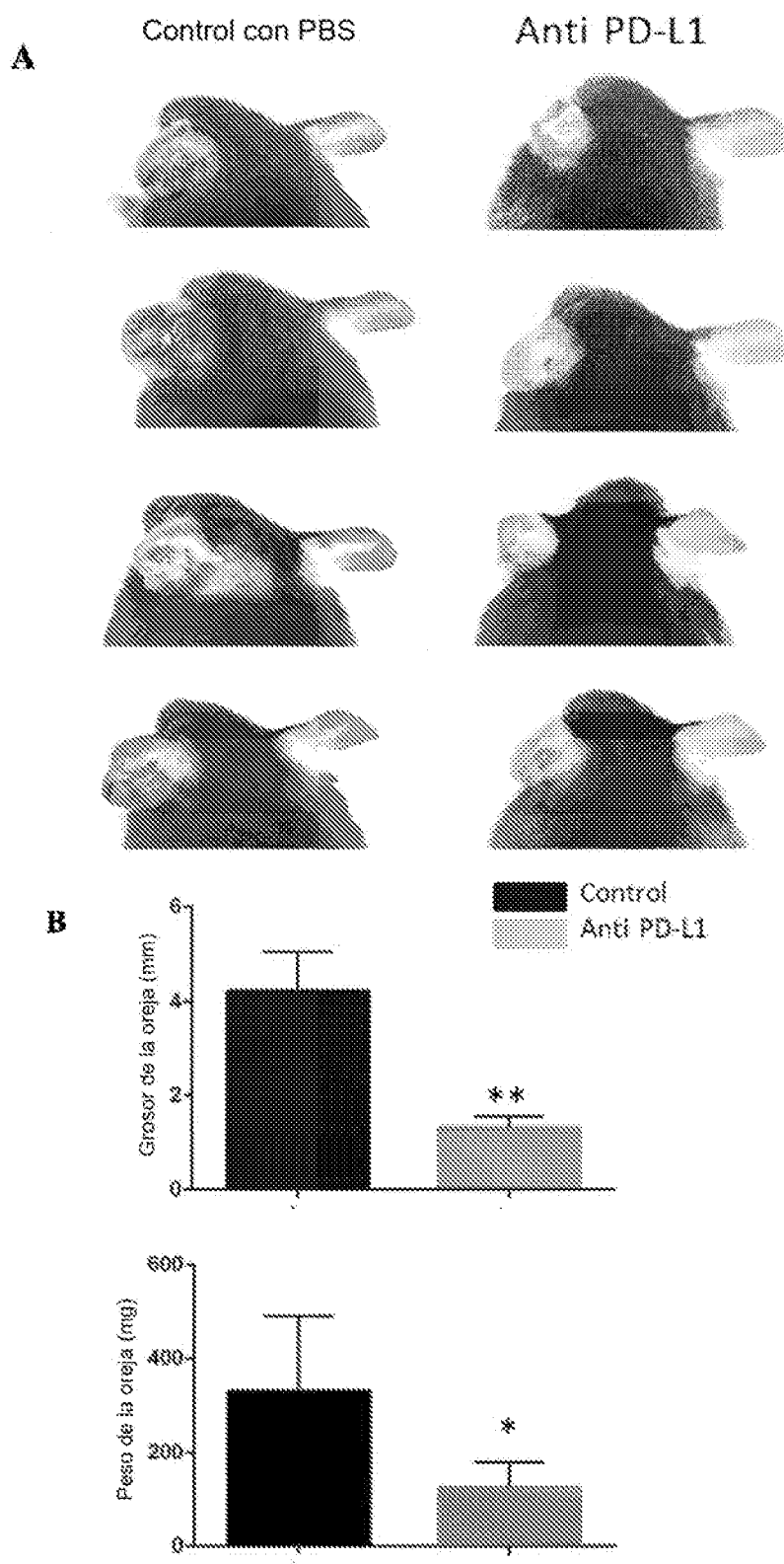


FIG. 9A-B