

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 708 669**

51 Int. Cl.:

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 16/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.08.2012 PCT/US2012/049233**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.02.2013 WO13019906**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.08.2012 E 12748808 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.11.2018 EP 2739358**

54 Título: **Procedimientos de tratamiento del cáncer usando antagonistas de unión al eje de PD-1 e inhibidores de MEK**

30 Prioridad:

01.08.2011 US 201161574406 P

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

10.04.2019

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**MAECKER, HEATHER y
IRVING, BRYAN**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 708 669 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

Procedimientos de tratamiento del cáncer usando antagonistas de unión al eje de PD-1 e inhibidores de MEK

5 Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Antecedentes de la invención

10 La provisión de dos señales distintas a los linfocitos T es un modelo ampliamente aceptado para la activación de los linfocitos T en reposo por parte de células presentadoras de antígenos (APC). Lafferty *et al.*, Aust. J. Exp. Biol. Med. ScL 53: 27-42 (1975). Este modelo proporciona además la discriminación entre la tolerancia autoinmunitaria y no autoinmunitaria. Bretscher *et al.*, Science 169: 1042-1049 (1970); Bretscher, P.A., P.N.A.S. USA 96: 185-190 (1999); Jenkins *et al.*, J. Exp. Med. 165: 302-319 (1987). La señal primaria, o señal específica de antígeno, se transduce a través del receptor de linfocitos T (TCR) después del reconocimiento del péptido del xenoantígeno presentado en el contexto del complejo principal de histocompatibilidad (MHC). La segunda señal o señal coestimuladora se envía a los linfocitos T a través de moléculas coestimuladoras expresadas en células presentadoras de antígenos (APC), e induce a los linfocitos T a promover la expansión clonal, la secreción de citocinas y la función efectora. Lenschow *et al.*, Ann. Rev. Immunol. 14:233 (1996). En ausencia de coestimulación, los linfocitos T se pueden volver resistentes a la estimulación antigénica, no generan una respuesta inmunitaria eficaz y pueden dar como resultado un agotamiento o tolerancia a xenoantígenos.

25 En el modelo de dos señales, los linfocitos T reciben señales coestimuladoras secundarias positivas y negativas. La regulación de dichas señales positivas y negativas es fundamental para maximizar las respuestas inmunitarias protectoras del huésped, mientras se mantiene la tolerancia inmunitaria y se previene la autoinmunidad. Las señales secundarias negativas parecen necesarias para la inducción de la tolerancia de linfocitos T, mientras que las señales positivas promueven la activación de linfocitos T. Si bien el modelo simple de dos señales aún proporciona una explicación válida para los linfocitos indiferenciados, la respuesta inmunitaria de un huésped es un proceso dinámico, y también se pueden proporcionar señales coestimuladoras a linfocitos T expuestos al antígeno. El mecanismo de coestimulación es de interés terapéutico porque la manipulación de las señales coestimuladoras ha demostrado proporcionar un medio para potenciar o terminar la respuesta inmunitaria basada en células. Recientemente se ha descubierto que la disfunción de los linfocitos T o anergia se produce simultáneamente con una expresión inducida y mantenida del receptor inhibitor, el polipéptido de muerte programada 1 (PD-1). Como resultado, las dianas terapéuticas de PD-1 y otras moléculas que envían señales a través de interacciones con PD-1, tales como el ligando de muerte programada 1 (PD-L1) y el ligando de muerte programada 2 (PD-L2), son un área de gran interés.

40 El PD-L1 está sobreexpresado en muchos tipos de cáncer y a menudo se asocia con un mal pronóstico (Okazaki T *et al.*, Intern. Immun. 2007 19(7):813) (Thompson RH *et al.*, Cancer Res 2006, 66(7):3381). Curiosamente, la mayoría de los linfocitos T infiltrantes de tumores expresan predominantemente PD-1, en contraste con los linfocitos T en tejidos normales y los linfocitos T de sangre periférica, lo que indica que la regulación por incremento de PD-1 en linfocitos T reactivos al tumor puede contribuir al deterioro de las respuestas inmunitarias antitumorales (Blood 2009 114 (8): 1537). Esto se puede deber a la explotación de la señalización de PD-L1 mediada por células tumorales que expresan PD-L1 que interactúan con los linfocitos T que expresan PD-1 para dar como resultado la atenuación de la activación de los linfocitos T y la evasión de la vigilancia inmunológica (Sharpe *et al.*, Nat Rev 2002) (Keir ME *et al.*, 2008 Annu. Rev. Immunol. 26:677). Por lo tanto, la inhibición de la interacción PD-L1 / PD-1 puede potenciar la muerte de tumores mediada por linfocitos T CD8+.

50 La inhibición de la señalización del eje de PD-1 a través de sus ligandos directos (por ejemplo, PD-L1, PD-L2) se ha propuesto como un medio para potenciar la inmunidad de los linfocitos T para el tratamiento del cáncer (por ejemplo, la inmunidad tumoral). Además, se han observado mejoras similares en la inmunidad de los linfocitos T al inhibir la unión de PD-L1 al compañero de unión B7-1. Además, la combinación de la inhibición de la señalización de PD-1 con otras vías de señalización (por ejemplo, la vía de MAPK, "MEK") que están desreguladas en las células tumorales puede potenciar aún más la eficacia del tratamiento. Sin embargo, un tratamiento terapéutico óptimo combinaría el bloqueo de la interacción receptor-ligando de PD-1 con un agente que inhibiera directamente el crecimiento tumoral, incluyendo opcionalmente además propiedades únicas de potenciación inmunológica no proporcionadas por el bloqueo de PD-1 solo. Se conoce el uso de antagonistas del eje de PD-1 y un inhibidor de MEK como monoterapia (Wen-Jen Hwu, 2010 HemOncToday; AMM Eggermont, 2011 Eur. J. Cancer 47:2150; documento WO02/17952; documento WO2010/077634). Sigue existiendo la necesidad de un tratamiento óptimo para tratar, estabilizar, prevenir y/o retrasar el desarrollo de diversos cánceres.

60 Breve resumen de la invención

65 La presente invención describe un tratamiento combinado que comprende un inhibidor de MEK (que tiene efectos directos dirigidos al tumor y propiedades de potenciación inmunológica) y un antagonista de unión al eje de PD-1.

En el presente documento se proporcionan aspectos para tratar el cáncer o ralentizar la progresión del cáncer en un

individuo, que comprenden administrar al individuo una cantidad eficaz de un antagonista de unión al eje de PD-1 y un inhibidor de MEK.

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

El cáncer tratado puede contener una mutación V600E de BRAF, un BRAF natural, un KRAS natural o una mutación activadora de KRAS. El cáncer puede ser un melanoma, un cáncer colorrectal, un cáncer de pulmón no microcítico, un cáncer de ovario, un cáncer de mama, un cáncer de próstata, un cáncer de páncreas, una neoplasia hemática o un carcinoma de células renales. El cáncer puede estar en estadio temprano o en estadio tardío. En algunos modos de realización, el individuo tratado es un ser humano.

En algunos aspectos, el tratamiento da como resultado una respuesta mantenida en el individuo después de la interrupción del tratamiento. En algunos aspectos, el tratamiento produce una respuesta completa, una respuesta parcial o enfermedad estable en el individuo.

En el presente documento también se proporcionan aspectos de potenciación de la función inmunitaria de un individuo que tiene cáncer, que comprenden administrar una cantidad eficaz de un antagonista de unión al eje de PD-1 y un inhibidor de MEK. En algunos modos de realización, el individuo es un ser humano.

En el presente documento también se proporciona el uso de un antagonista de unión al eje de PD-1 en la fabricación de un medicamento para potenciar la función inmunitaria de un individuo que tiene cáncer en combinación con un inhibidor de MEK. En el presente documento también se proporciona el uso de un inhibidor de MEK en la fabricación de un medicamento para potenciar la función inmunitaria de un individuo que tiene cáncer en combinación con un antagonista de unión al eje de PD-1. En el presente documento también se proporciona el uso de un antagonista de unión al eje de PD-1 y un inhibidor de MEK en la fabricación de medicamentos para potenciar la función inmunitaria en el individuo que tiene cáncer. En el presente documento también se proporciona un procedimiento de fabricación de medicamentos para potenciar la función inmunitaria en un individuo, caracterizado por el uso de un antagonista de unión al eje de PD-1 y un inhibidor de MEK. En el presente documento también se proporciona un antagonista de unión al eje de PD-1 para su uso en combinación con un inhibidor de MEK para potenciar la función inmunitaria en el individuo que tiene cáncer. En el presente documento también se proporciona un inhibidor de MEK para su uso en combinación con un antagonista de unión al eje de PD-1 para potenciar la función inmunitaria en el individuo que tiene cáncer. En algunos modos de realización, el individuo es un ser humano.

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

En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es un compuesto de fórmula (I), (II), (III), (IV), (V) o (VI) como se describe a continuación en el presente documento, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es un inhibidor competitivo de MEK. En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es más selectivo frente a una mutación activadora de KRAS. En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es un inhibidor alostérico de MEK. En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es más selectivo frente a una mutación activadora de BRAF. En algunos modos de realización, el inhibidor de

MEK se selecciona del grupo que consiste en G02442104, G-38963, G02443714, G00039805 y GDC-0973, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

5 En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK se administra de forma continua o intermitente. En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK se administra antes de la administración del antagonista de unión al eje de PD-1, simultáneamente a la administración del antagonista de unión al eje de PD-1 o después de la administración del antagonista de unión al eje de PD-1. En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK y el antagonista de unión al eje de PD-1 se administran con una frecuencia de dosificación diferente.

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

Breve descripción de los dibujos

25 La **figura 1** muestra la expresión superficial de MHC-I potenciada en líneas celulares de melanoma y de tumor colorrectal tras el tratamiento con inhibidor de MEK. (A) Histograma que muestra una mayor expresión de MHC-I en la superficie de líneas de células tumorales humanas tratadas con inhibidor de MEK. (B) Histograma que muestra una mayor expresión de MHC-I en la superficie de líneas de células tumorales de ratón tratadas con inhibidor de MEK.

30 La **figura 2** es un histograma que muestra que el tratamiento de líneas celulares de melanoma humano (5/8 líneas celulares de las cuales eran de BRAF mutante; las células de BRAF natural se indican con un asterisco) con inhibidor de BRAF no provocó una regulación por incremento de la expresión superficial de MHC-I.

35 La **figura 3** muestra que el tratamiento de células mononucleares de sangre periférica humana con inhibidor de MEK no provocó una regulación por aumento de la expresión superficial de MHC-I. (A-D) Histograma que muestra la expresión superficial de MHC-I inalterada en linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, linfocitos B o monocitos tras el tratamiento con un inhibidor de MEK.

40 La **figura 4** demuestra que las señales coestimuladoras hacen que los linfocitos T respondan a pesar del tratamiento con inhibidor de MEK. (A) El gráfico de los niveles de linfocitos T CD8+ muestra que el tratamiento con inhibidor de MEK redujo la proliferación y activación de linfocitos T inducidos en condiciones normales por la estimulación de CD3. (B) El gráfico de linfocitos T CD8+ muestra que la coestimulación de CD3 y CD28 fue suficiente para superar el efecto inhibitor del tratamiento con inhibidor de MEK.

45 La **figura 5** muestra que el tratamiento con inhibidor de MEK potenció la maduración y activación de células dendríticas estimuladas con anticuerpos anti-CD40. (A-C) Histograma que muestra células dendríticas estimuladas con anticuerpos anti-CD40 y tratadas con inhibidor de MEK o BRAF. El inhibidor de MEK potenció la activación de CD como lo demuestra la regulación por incremento de los marcadores superficiales de activación de CD CD83, MHC-II y CD86. (D-F) Los gráficos de los niveles de células dendríticas activadas demuestran que el inhibidor de MEK potenció la activación de CD de una manera dependiente de la dosis.

50 La **figura 6** es un gráfico que muestra los niveles séricos reducidos de citocinas inmunosupresoras y protumorales en modelos *in vivo* de cáncer. (A y C) La citocina inmunosupresora IL-10 disminuyó 7 días después del tratamiento combinado con anticuerpos anti-PD-L1 e inhibidor de MEK en comparación con el tratamiento con anti-PD-L1 o el tratamiento con inhibidor de MEK solo. (B y D) La quimiocina protumoral KC disminuyó con el tratamiento combinado con anticuerpos anti-PD-L1 e inhibidor de MEK en comparación con el tratamiento con anti-PD-L1 o el tratamiento con inhibidor de MEK solo.

55 La **figura 7** demuestra que el tratamiento con inhibidor de MEK potenció la actividad antitumoral de los anticuerpos anti-PD-L1 en modelos *in vivo* de cáncer colorrectal. (A) El gráfico que representa los cambios en el volumen tumoral con el tratamiento combinado con anticuerpos anti-PD-L1 e inhibidor de MEK demuestra una reducción significativa del crecimiento tumoral en estadio temprano y un efecto antitumoral mantenido en comparación con el tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 o inhibidor de MEK solo. (B) El gráfico que representa los cambios en el volumen tumoral con el tratamiento combinado con anticuerpos anti-PD-L1 e inhibidor de MEK demuestra una inhibición significativa del crecimiento tumoral en estadio tardío en comparación con el tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 o inhibidor de MEK solo.

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

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

La **figura 10** es un gráfico que demuestra que el tratamiento con el inhibidor de MEK G02442104 potenció la actividad antitumoral de los anticuerpos anti-PD-L1 en modelos *in vivo* de cáncer colorrectal. Se observó una reducción potenciada del volumen tumoral con el tratamiento combinado con anticuerpo anti-PD-L1 e inhibidor de MEK en comparación con el tratamiento con anticuerpo anti-PD-L1 o inhibidor de MEK G02442104 solo.

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

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

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

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

La **figura 15** contiene varios gráficos que muestran que el inhibidor de MEK incrementó la activación de células dendríticas independientemente del tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1. (A) Gráfico que demuestra que el tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 incrementó ligeramente la expresión superficial de MHC-I. El tratamiento con inhibidor de MEK potenció significativamente la expresión de MHC-I; sin embargo, el tratamiento combinado con anticuerpos anti-PD-L1 no potenció el efecto del tratamiento con inhibidor de MEK. (B-D) Gráficos que demuestran que el tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 no aumentó la expresión de los marcadores de activación de células dendríticas MHC-II, CD80 y CD86. En contraste, el tratamiento con inhibidor de MEK potenció significativamente la expresión de los marcadores de activación de células dendríticas. El tratamiento combinado con anticuerpos anti-PD-L1 no potenció el efecto del tratamiento con inhibidor de MEK. (E-H) Gráficos que demuestran que la estimulación de células dendríticas con anticuerpos anti-CD40 no alteró el efecto del tratamiento combinado con inhibidor de MEK y anti-PD-L1 en la activación de células dendríticas.

Descripción detallada de la invención

I. Técnicas generales

Las técnicas y los procedimientos descritos o a los que se hace referencia en el presente documento en general se comprenden bien y se emplean comúnmente usando una metodología convencional por los expertos en la técnica, tales como, por ejemplo, las metodologías ampliamente utilizadas descritas en Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3.^a edición (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel, *et al.* eds., (2003)); la serie *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc.); *PCR 2: A Practical Approach* (M.J. MacPherson, B.D. Hames y G.R. Taylor eds. (1995)), Harlow y Lane, eds. (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual, and Animal Cell Culture* (R.I. Freshney, ed. (1987)); *Oligonucleotide Synthesis* (M.J. Gait, ed., 1984); *Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Cell Biology: A Laboratory Notebook* (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney), ed., 1987); *Introduction to Cell and Tissue Culture* (J.P. Mather y P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures* (A. Doyle, J.B. Griffiths y D.G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; *Handbook of Experimental Immunology* (D.M. Weir y C.C. Blackwell, eds.); *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J.M. Miller y M.P. Calos, eds., 1987); *PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis *et al.*, eds., 1994); *Current Protocols in Immunology* (J.E. Coligan *et al.*, eds., 1991); *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley and Sons, 1999); *Immunobiology* (C.A. Janeway y P.

Travers, 1997); *Antibodies* (P. Finch, 1997); *Antibodies: A Practical Approach* (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); *Monoclonal Antibodies: A Practical Approach* (P. Shepherd y C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); *Using Antibodies: A Laboratory Manual* (E. Harlow y D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); *The Antibodies* (M. Zanetti y J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); y *Cancer: Principles and Practice of Oncology* (V.T. DeVita *et al.*, eds., J.B. Lippincott Company, 1993).

II. Definiciones

La expresión "*antagonista de unión al eje de PD-1*" es una molécula que inhibe la interacción de un compañero de unión al eje de PD-1 con uno o más de sus compañeros de unión, para eliminar la disfunción de los linfocitos T que resulta de la señalización en el eje de señalización de PD-1, siendo un resultado la restauración o potenciación de la función de los linfocitos T (por ejemplo, proliferación, producción de citocinas, destrucción de células diana). Como se usa en el presente documento, un antagonista de unión al eje de PD-1 incluye un antagonista de unión a PD-1, un antagonista de unión a PD-L1 y un antagonista de unión a PD-L2.

La expresión "*antagonistas de unión a PD-1*" es una molécula que disminuye, bloquea, inhibe, anula o interfiere en la transducción de señales que resulta de la interacción de PD-1 con uno o más de sus compañeros de unión, tales como PD-L1, PD-L2. En algunos aspectos, el antagonista de unión a PD-1 es una molécula que inhibe la unión de PD-1 a sus compañeros de unión. En un aspecto específico, el antagonista de unión a PD-1 inhibe la unión de PD-1 a PD-L1 y/o PD-L2. Por ejemplo, los antagonistas de unión a PD-1 incluyen anticuerpos anti-PD-1, fragmentos de unión a antígeno de los mismos, inmunoadhesinas, proteínas de fusión, oligopéptidos y otras moléculas que disminuyen, bloquean, inhiben, anulan o interfieren en la transducción de señales resultante de la interacción de PD-1 con PD-L1 y/o PD-L2. En un aspecto, un antagonista de unión a PD-1 reduce la señal coestimuladora negativa mediada por o a través de proteínas de la superficie celular expresadas en la señalización mediada por linfocitos T a través de PD-1, de modo que hace que un linfocito T disfuncional sea menos disfuncional (por ejemplo, potenciando las respuestas efectoras al reconocimiento de antígenos). En algunos aspectos, el antagonista de unión a PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1. En un aspecto específico, un antagonista de unión a PD-1 es MDX-1106 descrito en el presente documento. En otro aspecto específico, un antagonista de unión a PD-1 es Merck 3745 descrito en el presente documento. En otro aspecto específico, un antagonista de unión a PD-1 es CT-011 descrito en el presente documento.

La expresión "*antagonistas de unión a PD-L1*" es una molécula que disminuye, bloquea, inhibe, anula o interfiere en la transducción de señales que resulta de la interacción de PD-L1 con uno o más de sus compañeros de unión, tales como PD-1, B7-1. En algunos modos de realización, un antagonista de unión a PD-L1 es una molécula que inhibe la unión de PD-L1 a sus compañeros de unión. En un aspecto específico, el antagonista de unión a PD-L1 inhibe la unión de PD-L1 a PD-1 y/o B7-1. En algunos modos de realización, los antagonistas de unión a PD-L1 incluyen anticuerpos anti-PD-L1, fragmentos de unión a antígeno de los mismos, inmunoadhesinas, proteínas de fusión, oligopéptidos y otras moléculas que disminuyen, bloquean, inhiben, anulan o interfieren en la transducción de señales resultante de la interacción de PD-L1 con uno o más de sus compañeros de unión, tales como PD-1, B7-1. En un modo de realización, un antagonista de unión a PD-L1 reduce la señal coestimuladora negativa mediada por o a través de proteínas de la superficie celular expresadas en la señalización mediada por linfocitos T a través de PD-1, de modo que hace que un linfocito T disfuncional sea menos disfuncional (por ejemplo, potenciando las respuestas efectoras al reconocimiento de antígenos). En algunos modos de realización, un antagonista de unión a PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1. En un aspecto específico, un anticuerpo anti-PD-L1 es YW243.55.S70 descrito en el presente documento. En otro aspecto específico, un anticuerpo anti-PD-L1 es MDX-1105 descrito en el presente documento. En otro aspecto específico más, un anticuerpo anti-PD-L1 es MPDL3280A descrito en el presente documento.

La expresión "*antagonistas de unión a PD-L2*" es una molécula que disminuye, bloquea, inhibe, anula o interfiere en la transducción de señales que resulta de la interacción de PD-L2 con uno o más de sus compañeros de unión, tal como PD-1. En algunos aspectos, un antagonista de unión a PD-L2 es una molécula que inhibe la unión de PD-L2 a sus compañeros de unión. En un aspecto específico, el antagonista de unión a PD-L2 inhibe la unión de PD-L2 a PD-1. En algunos aspectos, los antagonistas de PD-L2 incluyen anticuerpos anti-PD-L2, fragmentos de unión a antígeno de los mismos, inmunoadhesinas, proteínas de fusión, oligopéptidos y otras moléculas que disminuyen, bloquean, inhiben, anulan o interfieren en la transducción de señales que resulta de la interacción de PD-L2 con uno o más de sus compañeros de unión, tal como PD-1. En un aspecto, un antagonista de unión a PD-L2 reduce la señal coestimuladora negativa mediada por o a través de proteínas de la superficie celular expresadas en la señalización mediada por linfocitos T a través de PD-L2, de modo que hace que un linfocito T disfuncional sea menos disfuncional (por ejemplo, potenciando las respuestas efectoras al reconocimiento de antígenos). En algunos aspectos, un antagonista de unión a PD-L2 es una inmunoadhesina.

El término "*disfunción*", en el contexto de la disfunción inmunitaria, se refiere a un estado de sensibilidad inmunitaria reducida a la estimulación antigénica. El término incluye los elementos comunes de *agotamiento* y/o *anergia* en los que puede ocurrir el reconocimiento de antígenos, pero la respuesta inmunitaria resultante es ineficaz para controlar la infección o el crecimiento tumoral.

El término "*disfuncional*", como se usa en el presente documento, también incluye resistente o insensible al reconocimiento de antígenos, específicamente, con alteración de la capacidad para traducir el reconocimiento de antígenos a funciones efectoras de linfocitos T posteriores, tales como proliferación, producción de citocinas (por ejemplo, IL-2) y/o muerte de células diana.

El término "*anergia*" se refiere al estado de insensibilidad a la estimulación antigénica que resulta de señales incompletas o insuficientes emitidas a través del receptor de linfocitos T (por ejemplo, aumento del Ca^{+2} intracelular en ausencia de activación de ras). La anergia de linfocitos T también puede ser el resultado de la estimulación con antígeno en ausencia de coestimulación, lo que hace que la célula se vuelva resistente a la activación subsiguiente por el antígeno, incluso en el contexto de coestimulación. El estado de insensibilidad se puede anular a menudo por la presencia de interleucina-2. Los linfocitos T anérgicos no experimentan expansión clonal y/o no adquieren funciones efectoras.

El término "*agotamiento*" se refiere al agotamiento de los linfocitos T como un estado de disfunción de los linfocitos T que surge de la señalización mantenida de TCR que se produce durante muchas infecciones crónicas y cáncer. Se distingue de la anergia en que surge no de una señalización incompleta o deficiente, sino de una señalización mantenida. Se define por una función efectora insuficiente, expresión mantenida de receptores inhibidores y un estado transcripcional distinto del de los linfocitos T efectores o de memoria funcionales. El agotamiento evita el control óptimo de infecciones y tumores. El agotamiento puede ser el resultado de las vías reguladoras negativas extrínsecas (por ejemplo, citocinas inmunorreguladoras), así como de las vías reguladoras (coestimuladoras) negativas intrínsecas celulares (PD-1, B7-H3, B7-H4, etc.).

"*Potenciar la función de los linfocitos T*" significa inducir, causar o estimular que un linfocito T tenga una función biológica mantenida o amplificada, o renovar o reactivar linfocitos T agotados o inactivos. Los ejemplos de potenciación de la función de linfocitos T incluyen: aumento de la secreción de interferón y desde los linfocitos T $CD8^{+}$, aumento de la proliferación, aumento de la sensibilidad a antígenos (por ejemplo, eliminación vírica, patógena o tumoral) en relación con dichos niveles antes de la intervención. En un aspecto, el nivel de potenciación es al menos un 50 %, de forma alternativa un 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 %, 120 %, 150 %, 200 %. El experto en la técnica conoce la manera de medir esta potenciación.

Un "*trastorno disfuncional de linfocitos T*" es un trastorno o afección de los linfocitos T que se caracteriza por una sensibilidad reducida a la estimulación antigénica. En un aspecto particular, un trastorno disfuncional de linfocitos T es un trastorno que se asocia específicamente con un aumento inadecuado de la señalización a través de PD-1. En otro aspecto, un trastorno disfuncional de linfocitos T es uno en el que los linfocitos T son anérgicos o tienen una capacidad reducida de secretar citocinas, proliferar o ejecutar actividad citolítica. En un aspecto específico, la disminución de la sensibilidad da como resultado un control ineficaz de un patógeno o tumor que expresa un inmunógeno. Los ejemplos de trastornos disfuncionales de linfocitos T caracterizados por la disfunción de linfocitos T incluyen infección aguda no resuelta, infección crónica e inmunidad tumoral.

"*Inmunidad tumora*" se refiere al proceso en el que los tumores evaden el reconocimiento y la eliminación por parte del sistema inmunitario. Por lo tanto, como concepto terapéutico, la inmunidad tumoral se "trata" cuando se atenúa dicha evasión, y los tumores son reconocidos y atacados por el sistema inmunitario. Los ejemplos de reconocimiento tumoral incluyen unión al tumor, contracción del tumor y eliminación del tumor.

"*Inmunogenicidad*" se refiere a la capacidad de una sustancia particular de provocar una respuesta inmunitaria. Los tumores son inmunogénicos y la potenciación de la inmunogenicidad tumoral ayuda en la eliminación de las células tumorales mediante la respuesta inmunitaria. Los ejemplos de potenciación de la inmunogenicidad tumoral incluyen el tratamiento con anticuerpos anti-PDL y un inhibidor de MEK.

"*Respuesta mantenida*" se refiere al efecto mantenido en la reducción del crecimiento tumoral después de la interrupción de un tratamiento. Por ejemplo, el tamaño del tumor puede permanecer igual o más pequeño en comparación con el tamaño al *comienzo* de la fase de administración. En algunos aspectos, la respuesta mantenida tiene una duración al menos igual a la duración del tratamiento, al menos 1,5, 2,0, 2,5 o 3,0 veces la duración del tratamiento.

El término "*anticuerpo*" incluye anticuerpos monoclonales (incluyendo anticuerpos de longitud completa que tienen una región Fc de inmunoglobulina), composiciones de anticuerpos con especificidad poliepitópica, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos, diacuerpos y moléculas monocatenarias), así como fragmentos de anticuerpo (por ejemplo, Fab, F(ab')₂ y Fv). El término "*inmunoglobulina*" (Ig) se usa de manera intercambiable con "*anticuerpo*" en el presente documento.

La unidad de anticuerpo de 4 cadenas básica es una glucoproteína heterotetramérica compuesta de dos cadenas ligeras (L) idénticas y dos cadenas pesadas (H) idénticas. Un anticuerpo IgM consiste en 5 de las unidades heterotetraméricas básicas junto con un polipéptido adicional denominado cadena J, y contiene 10 sitios de unión a antígeno, mientras que los anticuerpos IgA comprenden de 2 a 5 de las unidades de 4 cadenas básicas que se pueden polimerizar para formar ensamblajes polivalentes en combinación con la cadena J. En el caso de las IgG, la

- unidad de 4 cadenas es, en general, de aproximadamente 150.000 daltons. Cada cadena L se une a una cadena H por un enlace disulfuro covalente, mientras que las dos cadenas H se unen entre sí por uno o más enlaces disulfuro dependiendo del isotipo de la cadena H. Cada cadena H y L también tiene puentes disulfuro intracatenarios regularmente espaciados. Cada cadena H tiene, en el extremo N, un dominio variable (V_H) seguido de tres dominios constantes (C_H) para cada una de las cadenas α y γ , y cuatro dominios C_H para los isotipos μ y ϵ . Cada cadena L tiene, en el extremo N, un dominio variable (V_L) seguido de un dominio constante en su otro extremo. El V_L se alinea con el V_H y el C_L se alinea con el primer dominio constante de la cadena pesada (C_H1). Se cree que residuos aminoacídicos particulares forman una superficie de contacto entre los dominios variables de la cadena ligera y de la cadena pesada. El emparejamiento de un V_H y un V_L conjuntamente forma un sitio de unión a antígeno individual.
- 5 Para la estructura y propiedades de las diferentes clases de anticuerpos, véanse, por ejemplo, *Basic and Clinical Immunology*, 8.^a edición, Daniel P. Stites, Abba I. Terr y Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, página 71 y capítulo 6. La cadena L de cualquier especie de vertebrado se puede asignar a uno de dos tipos claramente distintos, denominados kappa y lambda, basado en las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas (C_H), las
- 10 inmunoglobulinas se pueden asignar a diferentes clases o isotipos. Existen cinco clases de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, que tienen cadenas pesadas nombradas α , δ , ϵ , γ y μ , respectivamente. Las clases γ y α se dividen además en subclases basadas en diferencias relativamente menores en la secuencia y función de C_H , por ejemplo, los seres humanos expresan las siguientes subclases: IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2.
- 15 La "región variable" o "dominio variable" de un anticuerpo se refiere a los dominios aminotermiales de la cadena pesada o ligera del anticuerpo. Los dominios variables de la cadena pesada y la cadena ligera se pueden denominar " VH " y " VL ", respectivamente. Estos dominios son, en general, las partes más variables del anticuerpo (en relación con otros anticuerpos de la misma clase) y contienen los sitios de unión a antígeno.
- 20 El término "variable" se refiere al hecho de que determinados segmentos de los dominios variables difieren ampliamente en las secuencias entre anticuerpos. El dominio V media en la unión a antígeno y define la especificidad de un anticuerpo particular por su antígeno particular. Sin embargo, la variabilidad no se distribuye uniformemente a lo largo del alcance completo de los dominios variables. En cambio, se concentra en tres segmentos denominados regiones hipervariables (HVR), en los dominios variables tanto de la cadena ligera como
- 25 de la cadena pesada. Las porciones más altamente conservadas de los dominios variables se denominan regiones estructurales (FR). Los dominios variables de las cadenas pesada y ligera naturales comprenden cada uno cuatro regiones FR, que adoptan en gran medida una configuración de lámina β , que se conectan mediante tres HVR, que forman bucles que conectan, y en algunos casos forman parte de, la estructura de lámina β . Las HVR de cada cadena se mantienen unidas en estrecha proximidad mediante las regiones FR y, con las HVR de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión a antígeno de los anticuerpos (véase Kabat *et al.*, *Sequences of Immunological Interest*, quinta edición, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Los dominios constantes no están implicados directamente en la unión de un anticuerpo a un antígeno, pero presentan diversas funciones efectoras, tales como la participación del anticuerpo en la toxicidad celular dependiente de anticuerpos.
- 30 La expresión "anticuerpo monoclonal", como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto por posibles mutaciones naturales y/o modificaciones postraduccionales (por ejemplo, isomerizaciones, amidaciones) que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, estando dirigidos contra un solo sitio antigénico. En
- 35 contraste con las preparaciones de anticuerpos policlonales que típicamente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epitopos), cada anticuerpo monoclonal está dirigido contra un único determinante del antígeno. Además de su especificidad, los anticuerpos monoclonales son ventajosos por que se sintetizan mediante el cultivo de hibridoma, no contaminados por otras inmunoglobulinas. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo como obtenido de una población sustancialmente homogénea de anticuerpos, y no se debe interpretar como que requiere la producción del anticuerpo mediante cualquier procedimiento particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que se usarán de acuerdo con la presente
- 40 invención se pueden producir mediante una variedad de técnicas, que incluyen, por ejemplo, el procedimiento del hibridoma (por ejemplo, Kohler y Milstein., *Nature*, 256:495-97 (1975); Hongo *et al.*, *Hybridoma*, 14 (3): 253-260 (1995), Harlow *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2.^a ed. 1988); Hammerling *et al.*, en: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)), procedimientos de ADN recombinante (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 4.816.567), tecnologías de presentación en fagos (véase, por ejemplo, Clackson *et al.*, *Nature*, 352: 624-628 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Sidhu *et al.*, *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee *et al.*, *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); y Lee *et al.*, *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132 (2004), y tecnologías para producir anticuerpos humanos o similares en animales que tienen parte o la
- 45 totalidad de los locus de inmunoglobulina humana o genes que codifican secuencias de inmunoglobulina humana (véanse, por ejemplo, los documentos WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 2551 (1993); Jakobovits *et al.*, *Nature* 362: 255- 258 (1993); Bruggemann *et al.*, *Year in Immunol.* 7:33 (1993); las patentes de EE. UU. n.º 5.545.807; 5.545.806; 5.569.825; 5.625.126; 5.633.425; y 5.661.016; Marks *et al.*, *Bio/Technology* 10: 779-783 (1992); Lonberg *et al.*, *Nature* 368: 856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368: 812-813 (1994); Fishwild *et al.*, *Nature Biotechnol.* 14: 845-851 (1996); Neuberger,
- 50
- 55
- 60
- 65

Nature Biotechnol. 14: 826 (1996); y Lonberg y Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13: 65-93 (1995).

La expresión "*anticuerpo no marcado*" se refiere a un anticuerpo que no está conjugado a un resto citotóxico o radiomarcador.

Las expresiones "*anticuerpo de longitud completa*", "*anticuerpo intacto*" y "*anticuerpo completo*" se usan de forma intercambiable para referirse a un anticuerpo en su forma sustancialmente intacta, en lugar de un fragmento de anticuerpo. Específicamente, los anticuerpos completos incluyen aquellos con cadenas pesadas y ligeras que incluyen una región Fc. Los dominios constantes pueden ser dominios constantes de secuencia natural (por ejemplo, dominios constantes de secuencia natural humana) o variantes de secuencia de aminoácidos de los mismos. En algunos casos, el anticuerpo intacto puede tener una o más funciones efectoras.

Un "*fragmento de anticuerpo*" comprende una porción de un anticuerpo intacto, preferentemente la región de unión a antígeno y/o variable del anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales (véase la patente de EE. UU. n.º 5.641.870, ejemplo 2; Zapata *et al.*, *Protein Eng.* 8(10): 1057-1062 [1995]); moléculas de anticuerpo monocatenarias y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo. La digestión con papaína de los anticuerpos produjo dos fragmentos de unión a antígeno idénticos, denominados fragmentos "Fab", y un fragmento "Fc" residual, una denominación que refleja la capacidad de cristalizar fácilmente. El fragmento Fab consiste en una cadena L entera junto con el dominio de la región variable de la cadena H (V_H) y el primer dominio constante de una cadena pesada (C_{H1}). Cada fragmento Fab es monovalente con respecto a la unión a antígeno, es decir, tiene un único sitio de unión a antígeno. El tratamiento con pepsina de un anticuerpo produce un único fragmento F(ab')₂ grande que corresponde aproximadamente a dos fragmentos Fab unidos por puente disulfuro, que tiene diferente actividad de unión a antígeno y que aún se puede entrecruzar con el antígeno. Los fragmentos Fab' difieren de los fragmentos Fab por tener unos pocos residuos adicionales en el extremo carboxílico del dominio C_{H1}, que incluyen una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo. Fab'-SH es la denominación en el presente documento para un Fab' en el que el o los residuos de cisteína de los dominios constantes portan un grupo tiol libre. Los fragmentos de anticuerpo F(ab')₂ se produjeron originalmente como pares de fragmentos Fab' que tienen cisteínas bisagra entre ellos. También son conocidos otros acoplamientos químicos de fragmentos de anticuerpo.

El fragmento Fc comprende las porciones carboxiterminales de ambas cadenas H mantenidas juntas mediante puentes disulfuro. Las funciones efectoras de los anticuerpos están determinadas por secuencias en la región Fc; la región que también se reconoce por los receptores Fc (FcR) encontrados en determinados tipos de células.

"Fv" es el fragmento de anticuerpo mínimo que contiene un sitio completo de unión a y de reconocimiento de antígeno. Este fragmento consiste en un dímero de un dominio de la región variable de una cadena pesada y una ligera en estrecha asociación no covalente. Del plegamiento de estos dos dominios emanan seis bucles hipervariables (3 bucles de cada una de las cadenas H y L) que aportan los residuos aminoácidos para la unión a antígeno y confieren al anticuerpo especificidad de unión a antígeno. Sin embargo, incluso un único dominio variable (o la mitad de un Fv que comprende solo tres HVR específicas para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unirse al antígeno, aunque con una afinidad menor que el sitio de unión completo.

"Fv monocatenario", también abreviado como "sFv" o "scFv", son fragmentos de anticuerpo que comprenden los dominios de anticuerpo V_H y V_L conectados en una única cadena polipeptídica. Preferentemente, el polipéptido sFv comprende además un conector polipeptídico entre los dominios V_H y V_L, lo que permite que el sFv forme la estructura deseada para la unión a antígeno. Para una revisión de los sFv, véase Pluckthun en *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg y Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, pp. 269-315 (1994).

Los "*fragmentos funcionales*" de los anticuerpos de la invención comprenden una porción de un anticuerpo intacto, que en general incluye la región de unión a antígeno o variable del anticuerpo intacto o la región Fc de un anticuerpo que retiene la capacidad de unión a FcR o la tiene modificada. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpo monocatenarias y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

El término "*diacuerpos*" se refiere a fragmentos de anticuerpo pequeños preparados construyendo fragmentos sFv (véase el párrafo anterior) con conectores cortos (de aproximadamente 5-10 residuos) entre los dominios V_H y V_L, de modo que se logra el emparejamiento intercatenario pero no intracatenario de los dominios V, dando como resultado un fragmento bivalente, es decir, un fragmento que tiene dos sitios de unión a antígeno. Los diacuerpos biespecíficos son heterodímeros de dos fragmentos sFv "cruzados" en los que los dominios V_H y V_L de los dos anticuerpos están presentes en diferentes cadenas polipeptídicas. Los diacuerpos se describen más detalladamente, por ejemplo, en el documento EP 404.097; documento WO 93/11161; y Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993).

Los anticuerpos monoclonales en el presente documento incluyen específicamente anticuerpos (inmunoglobulinas) "*quiméricos*" en los que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen a una clase o subclase de

anticuerpo particular, mientras que el resto de la(s) cadena(s) es idéntico u homólogo a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de otra especie o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpos, así como fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que presenten la actividad biológica deseada (véase la patente de EE. UU. n.º 4.816.567; Morrison *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)). Los anticuerpos quiméricos de interés en el presente documento incluyen anticuerpos PRIMATIZED® en los que la región de unión a antígeno del anticuerpo se deriva de un anticuerpo producido, por ejemplo, por la inmunización de monos macacos con un antígeno de interés. Como se usa en el presente documento, "anticuerpo humanizado" se usa como un subconjunto de "anticuerpos quiméricos".

Las formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) son anticuerpos quiméricos que contienen una secuencia mínima derivada de inmunoglobulina no humana. En un modo de realización, un anticuerpo humanizado es una inmunoglobulina humana (anticuerpo receptor) en la que los residuos de una HVR (definida a continuación en el presente documento) del receptor se reemplazan por residuos de una HVR de una especie no humana (anticuerpo donante), tal como ratón, rata, conejo o primate no humano, que tiene la especificidad, afinidad y/o capacidad de anticuerpo deseadas. En algunos casos, los residuos estructurales ("FR") de la inmunoglobulina humana se reemplazan por los residuos no humanos correspondientes. Además, los anticuerpos humanizados pueden comprender residuos que no se encuentran en el anticuerpo receptor ni en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se pueden realizar para refinar aún más el rendimiento del anticuerpo, tal como la afinidad de unión. En general, un anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente al menos uno, y típicamente dos, dominios variables, en los que todos o sustancialmente todos los bucles hipervariables corresponden a los de una secuencia de inmunoglobulina no humana, y todas o sustancialmente todas las regiones FR son las de una secuencia de inmunoglobulina humana, aunque las regiones FR pueden incluir una o más sustituciones de residuos de FR individuales que mejoran el rendimiento del anticuerpo, tal como la afinidad de unión, la isomerización, la inmunogenicidad, etc. El número de estas sustituciones de aminoácido en la FR es típicamente de no más de 6 en la cadena H y de no más de 3 en la cadena L. El anticuerpo humanizado opcionalmente también comprenderá al menos una porción de una región constante (Fc) de inmunoglobulina, típicamente la de una inmunoglobulina humana. Para más detalles, véase, por ejemplo, Jones *et al.*, *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-329 (1988); y Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992). Véase también, por ejemplo, Vaswani y Hamilton, *Ann. Alergia, Asthma & Immunol.* 1:105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995); Hurle y Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5:428-433 (1994); y las patentes de EE. UU. n.º 6.982.321 y 7.087.409.

Un "anticuerpo humano" es un anticuerpo que posee una secuencia de aminoácidos que se corresponde a la de un anticuerpo producido por un ser humano y/o se ha preparado usando cualquiera de las técnicas para preparar anticuerpos humanos como se divulga en el presente documento. Esta definición de un anticuerpo humano excluye específicamente un anticuerpo humanizado que comprende residuos de unión a antígeno no humanos. Los anticuerpos humanos se pueden producir usando diversas técnicas conocidas en la técnica, incluyendo colecciones de presentación en fagos. Hoogenboom y Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991). También están disponibles para la preparación de anticuerpos monoclonales humanos los procedimientos descritos en Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner *et al.*, *J. Immunol.*, 147(1):86-95 (1991). Véase también van Dijk y van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 5: 368-74 (2001). Los anticuerpos humanos se pueden preparar administrando el antígeno a un animal transgénico que se ha modificado para producir dichos anticuerpos en respuesta a la exposición antigénica, pero cuyos locus endógenos se han desactivado, por ejemplo, xenorratones inmunizados (véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. 6.075.181 y 6.150.584 con respecto a la tecnología XENOMOUSE™). Véase también, por ejemplo, Li *et al.* *Proc. Natl Acad Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006) con respecto a anticuerpos humanos generados a través de una tecnología de hibridoma de linfocitos B humanos.

La expresión "región hipervariable", "HVR" o "HV", cuando se usa en el presente documento, se refiere a las regiones de un dominio variable de anticuerpo que son de secuencia hipervariable y/o forman bucles estructuralmente definidos. En general, los anticuerpos comprenden seis HVR; tres en el VH (H1, H2, H3) y tres en el VL (L1, L2, L3). En anticuerpos naturales, H3 y L3 presentan la mayor diversidad de las seis HVR, y se cree que H3 en particular desempeña un papel exclusivo al conferir una especificidad precisa a los anticuerpos. Véanse, por ejemplo, Xu *et al.*, *Immunity* 13:37-45 (2000); Johnson y Wu, en *Methods in Molecular Biology* 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003). De hecho, los anticuerpos de camélido naturales que consisten en una cadena pesada solamente son funcionales y estables en ausencia de cadena ligera. Véanse, por ejemplo, Hamers-Casterman *et al.*, *Nature* 363:446-448 (1993); Sheriff *et al.*, *Nature Struct. Biol.* 3:733-736 (1996).

Varias delimitaciones de HVR están en uso y se engloban en el presente documento. Las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de Kabat se basan en la variabilidad de secuencia y son las más comúnmente usadas (Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.ª ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). En cambio, Chothia se refiere a la localización de los bucles estructurales (Chothia y Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). Las HVR de AbM representan un término medio entre las HVR de Kabat y los bucles estructurales de Chothia, y se usan en el programa informático de modelado de anticuerpos AbM de Oxford Molecular. Las HVR de "contacto" se basan en un análisis de las estructuras cristalinas complejas disponibles. Los residuos de cada una de estas HVR se indican a continuación.

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

Las HVR pueden comprender "HVR extendidas" como sigue: 24-36 o 24-34 (L1), 46-56 o 50-56 (L2) y 89-97 o 89-96 (L3) en el VL y 26-35 (H1), 50-65 o 49-65 (H2) y 93-102, 94-102, o 95-102 (H3) en el VH. Los residuos del dominio variable se enumeran de acuerdo con Kabat *et al.*, *supra*, para cada una de estas definiciones.

5 La expresión "*numeración de residuos de dominio variable según Kabat*" o "*numeración de posición de aminoácidos según Kabat*", y las variaciones de la misma, se refieren al sistema de numeración usado para dominios variables de cadena pesada o dominios variables de cadena ligera de la compilación de anticuerpos en Kabat *et al.*, *supra*. Usando este sistema de numeración, la secuencia de aminoácidos lineal real puede contener menos aminoácidos o aminoácidos adicionales correspondientes a un acortamiento de o inserción en una FR o HVR del dominio variable. Por ejemplo, un dominio variable de cadena pesada puede incluir un único inserto de aminoácido (residuo 52a de acuerdo con Kabat) después del residuo 52 de H2 y residuos insertados (por ejemplo, residuos 82a, 82b y 82c, etc. de acuerdo con Kabat) después del residuo 82 de FR de cadena pesada. La numeración de residuos de Kabat se puede determinar para un anticuerpo dado por alineación en regiones de homología de la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada según Kabat "estándar".

Los residuos "*estructurales*" o "*FR*" son aquellos residuos del dominio variable diferentes de los residuos de HVR, como se definen en el presente documento.

20 Una "*estructura consenso humana*" o "*estructura humana aceptora*" es una estructura que representa los residuos aminoacídicos que aparecen más comúnmente en una selección de secuencias estructurales de VL o VH de inmunoglobulina humana. En general, la selección de secuencias de VL o VH de inmunoglobulina humana es de un subgrupo de secuencias de dominio variable. En general, el subgrupo de secuencias es un subgrupo como en Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). Los ejemplos incluyen, para el VL, que el subgrupo pueda ser el subgrupo kappa I, kappa II, kappa III o kappa IV como en Kabat *et al.*, *supra*. Adicionalmente, para el VH, el subgrupo puede ser el subgrupo I, subgrupo II o subgrupo III como en Kabat *et al.*, *supra*. De forma alternativa, una estructura consenso humana se puede derivar de lo anterior, en la que se seleccionan residuos particulares, tal como cuando se selecciona un residuo estructural humano, en función de su homología con la estructura de donante alineando la secuencia estructural de donante con una colección de varias secuencias estructurales humanas. Una estructura humana aceptora "derivada de" una estructura de inmunoglobulina humana o una estructura consenso humana puede comprender la misma secuencia de aminoácidos de la misma, o puede contener cambios en la secuencia de aminoácidos preexistentes. En algunos aspectos, el número de cambios de aminoácidos preexistentes es 10 o menos, 9 o menos, 8 o menos, 7 o menos, 6 o menos, 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos o 2 o menos.

35 Una "*estructura consenso del subgrupo III de VH*" comprende la secuencia consenso obtenida de las secuencias de aminoácidos en el subgrupo III de cadena variable pesada de Kabat *et al.*, *supra*. En un aspecto, la secuencia de aminoácidos de la estructura consenso del subgrupo III de VH comprende al menos una parte o la totalidad de cada una de las siguientes secuencias: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (HC-FR1) (SEQ ID NO:4), WVRQAPGKGLEWV (HC-FR2) (SEQ ID NO:5), RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (HC-FR3) (SEQ ID NO:6), WGQGTTLVTVSA (HC-FR4) (SEQ ID NO:7).

45 Una "*estructura consenso de kappa I de VL*" comprende la secuencia consenso obtenida de las secuencias de aminoácidos en el subgrupo kappa I de cadena variable ligera de Kabat *et al.*, *supra*. En un aspecto, la secuencia de aminoácidos de la estructura consenso del subgrupo I de VH comprende al menos una parte o la totalidad de cada una de las siguientes secuencias: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (LC-FR1) (SEQ ID NO:11), WYQKPGKAPKLLIY (LC-FR2) (SEQ ID NO:12), GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (LC-FR3) (SEQ ID NO:13), FGQGTKVEIKR (LC-FR4) (SEQ ID NO:14).

50 Una "*modificación de aminoácido*" en una posición específica, por ejemplo de la región Fc, se refiere a la sustitución o eliminación del residuo especificado, o la inserción de al menos un residuo de aminoácido adyacente al residuo especificado. La inserción "adyacente" a un residuo específico significa la inserción a una distancia de uno o dos residuos del mismo. La inserción puede ser en el extremo N o el extremo C para el residuo especificado. La modificación de aminoácido preferente en el presente documento es una sustitución.

55 Un anticuerpo "*de afinidad madurada*" es uno con una o más alteraciones en una o más HVR del mismo que dan como resultado una mejora de la afinidad del anticuerpo por el antígeno, en comparación con un anticuerpo original que no posee dichas alteraciones. En un aspecto, un anticuerpo de afinidad madurada tiene afinidades nanomolares

o incluso picomolares por el antígeno diana. Los anticuerpos de afinidad madurada se producen mediante procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, Marks *et al.*, *Bio/Technology* 10:779-783 (1992) describe la maduración de la afinidad mediante barajado de los dominios de VH y VL. La mutagénesis aleatoria de HVR y/o residuos de la región estructural se describe, por ejemplo, en: Barbas *et al.*, *Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813 (1994); Schier *et al.*, *Gene* 169:147-155 (1995); Yelton *et al.*, *J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995); Jackson *et al.*, *J. Immunol.* 154 (7): 3310-9 (1995); y Hawkins *et al.*, *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992).

Como se usa en el presente documento, la expresión "se une específicamente a" o "es específico para" se refiere a interacciones medibles y reproducibles, como la unión entre una diana y un anticuerpo, que es determinante de la presencia de la diana en presencia de una población heterogénea de moléculas, incluyendo moléculas biológicas. Por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a una diana (que puede ser un epítipo) es un anticuerpo que se une a esta diana con mayor afinidad, avidez, más fácilmente y/o durante mayor duración que con la que se une a otras dianas. En un aspecto, el grado de unión de un anticuerpo a una diana no relacionada es inferior a aproximadamente un 10 % de la unión del anticuerpo a la diana medida, por ejemplo, mediante un radioinmunoanálisis (RIA). En ciertos aspectos, un anticuerpo que se une específicamente a una diana tiene una constante de disociación (Kd) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$ o $\leq 0,1 \text{ nM}$. En ciertos aspectos, un anticuerpo se une específicamente a un epítipo en una proteína que se conserva entre la proteína de diferentes especies. En otro aspecto, la unión específica puede incluir, pero no requiere, una unión exclusiva.

Como se usa en el presente documento, el término "inmuno adhesina" designa moléculas de tipo anticuerpo que combinan la especificidad de unión de una proteína heteróloga (una "adhesina") con las funciones efectoras de los dominios constantes de inmunoglobulina. Estructuralmente, las inmuno adhesinas comprenden una fusión de una secuencia de aminoácidos con la especificidad de unión deseada, que es distinta de la del sitio de unión y reconocimiento antigénico de un anticuerpo (es decir, es "heteróloga"), y una secuencia de dominio constante de inmunoglobulina. La parte de adhesina de una molécula de inmuno adhesina es típicamente una secuencia de aminoácidos contiguos que comprende al menos el sitio de unión de un receptor o un ligando. La secuencia del dominio constante de inmunoglobulina en la inmuno adhesina se puede obtener a partir de cualquier inmunoglobulina, tal como los subtipos IgG-1, IgG-2 (incluyendo IgG2A e IgG2B), IgG-3 o IgG-4, IgA (incluyendo IgA-1 e IgA-2), IgE, IgD o IgM. Las fusiones de Ig incluyen preferentemente la sustitución de un dominio de un polipéptido o anticuerpo descrito en el presente documento en lugar de al menos una región variable dentro de una molécula de Ig. En un aspecto particularmente preferente, la fusión de inmunoglobulina incluye las regiones bisagra, CH2 y CH3 o las regiones bisagra, CH1, CH2 y CH3 de una molécula de IgG1. Para la producción de fusiones de inmunoglobulina, véase también la patente de EE. UU. n.º 5.428.130 expedida el 27 de junio de 1995. Por ejemplo, las inmuno adhesinas útiles como segundos medicamentos útiles para el tratamiento combinado en el presente documento incluyen polipéptidos que comprenden las porciones de unión a PD-1 o extracelulares de PD-L1 o PD-L2 o las porciones de unión a PD-L1 o PD-L2 o extracelulares de PD-1, fusionadas a un dominio constante de una secuencia de inmunoglobulina, tal como un PD-L1 ECD - Fc, un PD-L2 ECD - Fc y un PD-1 ECD - Fc, respectivamente. Las combinaciones de inmuno adhesinas de Ig Fc y ECD de receptores de superficie celular a veces se denominan receptores solubles.

Una "proteína de fusión" y un "polipéptido de fusión" se refieren a un polipéptido que tiene dos porciones unidas covalentemente, en el que cada una de las porciones es un polipéptido que tiene una propiedad diferente. La propiedad puede ser una propiedad biológica, tal como actividad *in vitro* o *in vivo*. La propiedad también puede ser una propiedad química o física simple, tal como unión a una molécula diana, catálisis de una reacción, etc. Las dos porciones se pueden unir directamente mediante un enlace peptídico único o mediante un conector peptídico, pero están en el marco de lectura entre sí.

Un "oligopéptido PD-1", "oligopéptido PD-L1" u "oligopéptido PD-L2" es un oligopéptido que se une, preferentemente de manera específica, a un polipéptido coestimulador negativo PD-1, PD-L1 o PD-L2, respectivamente, incluyendo un receptor, ligando o componente de señalización, respectivamente, como se describe en el presente documento. Dichos oligopéptidos se pueden sintetizar químicamente usando una metodología de síntesis de oligopéptidos conocida o se pueden preparar y purificar usando tecnología recombinante. Dichos oligopéptidos suelen tener al menos aproximadamente 5 aminoácidos de longitud, de forma alternativa al menos aproximadamente 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 o 100 aminoácidos de longitud o más. Dichos oligopéptidos se pueden identificar usando técnicas bien conocidas. A este respecto, se observa que las técnicas para cribar colecciones de oligopéptidos para seleccionar oligopéptidos que se puedan unir específicamente a una diana polipeptídica son bien conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n.º 5.556.762, 5.750.373, 4.708.871, 4.833.092, 5.223.409, 5.403.484, 5.571.689, 5.663.143; la publicación PCT n.º WO 84/03506 y WO84/03564; Geysen *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 81:3998-4002 (1984); Geysen *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 82:178-182 (1985); Geysen *et al.*, en *Synthetic Peptides as Antigens*, 130-149 (1986); Geysen *et al.*, *J. Immunol. Meth.*, 102:259-274 (1987); Schoofs *et al.*, *J. Immunol.*, 140:611-616 (1988); Cwirla, S.E. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87:6378 (1990); Lowman, H.B. *et al. Biochemistry*, 30:10832 (1991); Clackson, T. *et al. Nature*, 352: 624 (1991); Marks, J. D. *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991); Kang, A.S. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:8363 (1991), y Smith, G. P., *Current Opin.*

Biotechnol., 2:668 (1991).

Un anticuerpo "*de bloqueo*" o un anticuerpo "*antagonista*" es uno que inhibe o reduce la actividad biológica del antígeno al que se une. En algunos modos de realización, los anticuerpos de bloqueo o anticuerpos antagonistas inhiben sustancial o completamente la actividad biológica del antígeno. Los anticuerpos anti-PD-L1 de la invención bloquean la señalización a través de PD-1 para restaurar una respuesta funcional de los linfocitos T (por ejemplo, proliferación, producción de citocinas, destrucción de células diana) desde un estado disfuncional a la estimulación antigénica.

Un anticuerpo "*agonista*" o activador es uno que potencia o inicia la señalización por el antígeno al que se une. En algunos modos de realización, los anticuerpos agonistas causan o activan la señalización sin la presencia del ligando natural.

El término "*región Fc*" en el presente documento se usa para definir una región del extremo C de una cadena pesada de inmunoglobulina, incluyendo regiones Fc de secuencia natural y regiones Fc variantes. Aunque los límites de la región Fc de una cadena pesada de inmunoglobulina pueden variar, la región Fc de la cadena pesada de IgG humana se define normalmente para que se extienda desde un residuo aminoacídico en la posición Cys226, o desde Pro230, hasta el extremo carboxiterminal de la misma. La lisina del extremo C (residuo 447 de acuerdo con el sistema de numeración EU) de la región Fc se puede retirar, por ejemplo, durante la producción o purificación del anticuerpo, o genomanipulando de forma recombinante el ácido nucleico que codifica una cadena pesada del anticuerpo. En consecuencia, una composición de anticuerpos intactos puede comprender poblaciones de anticuerpos con todos los residuos K447 retirados, poblaciones de anticuerpos sin residuos K447 retirados y poblaciones de anticuerpos que tienen una mezcla de anticuerpos con y sin el residuo K447. Las regiones Fc de secuencia natural adecuadas para uso en los anticuerpos de la invención incluyen IgG1, IgG2 (IgG2A, IgG2B), IgG3 e IgG4 humanas.

El "*receptor de Fc*" o "*FcR*" describe un receptor que se une a la región Fc de un anticuerpo. El FcR preferente es un FcR humano de secuencia natural. Asimismo, un FcR preferente es aquel que se une a un anticuerpo IgG (un receptor gamma) e incluye receptores de las subclases FcγRI, FcγRII y FcγRIII, incluyendo variantes alélicas y formas con corte y empalme alternativo de estos receptores, los receptores FcγRII incluyen FcγRIIA (un "receptor activador") y FcγRIIB (un "receptor inhibidor"), que tienen secuencias de aminoácidos similares que difieren principalmente en los dominios citoplásmicos de los mismos. El receptor activador FcγRIIA contiene un motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM) en su dominio citoplásmico. El receptor inhibidor FcγRIIB contiene un motivo de inhibición de inmunorreceptor basado en tirosina (ITIM) en su dominio citoplásmico (véase M. Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997). Los FcR se revisan en Ravetch y Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9: 457-92 (1991); Capel *et al.*, *Immunomethods* 4: 25-34 (1994); y de Haas *et al.*, *J. Lab. Clin. Med.* 126: 330-41 (1995). Otros FcR, incluyendo los que se identifiquen en el futuro, se abarcan por el término "FcR" en el presente documento.

El término "*receptor de Fc*" o "*FcR*" también incluye el receptor neonatal, FcRn, que es responsable de la transferencia de las IgG maternas al feto. Guyer *et al.*, *J. Immunol.* 117: 587 (1976) y Kim *et al.*, *J. Immunol.* 24: 249 (1994). Se conocen procedimientos de medición de la unión a FcRn (véase, por ejemplo, Ghetie y Ward, *Immunol. Today* 18: (12): 592-8 (1997); Ghetie *et al.*, *Nature Biotechnology* 15 (7): 637-40 (1997); Hinton *et al.*, *J. Biol. Chem.* 279 (8): 6213-6 (2004); el documento WO 2004/92219 (Hinton *et al.*). Se pueden someter a ensayo la unión al FcRn *in vivo* y la semivida en suero de polipéptidos de unión de alta afinidad a FcRn humanos, por ejemplo, en líneas celulares humanas transfectadas o ratones transgénicos que expresan el FcRn humano, o en primates a los que se administran los polipéptidos que tienen una región Fc variante. El documento WO 2004/42072 (Presta) describe variantes de anticuerpo con unión mejorada o reducida a los FcR. Véase también, por ejemplo, Shields *et al.*, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001).

La frase "*sustancialmente reducida*" o "*sustancialmente diferente*", como se usa en el presente documento, indica un grado suficientemente alto de diferencia entre dos valores numéricos (en general, uno asociado con una molécula y el otro asociado con una molécula de referencia/comparadora), de modo que un experto en la técnica consideraría que la diferencia entre los dos valores tiene significación estadística dentro del contexto de la característica biológica medida por dichos valores (por ejemplo, valores de Kd). La diferencia entre dichos dos valores es, por ejemplo, superior a aproximadamente un 10 %, superior a aproximadamente un 20 %, superior a aproximadamente un 30 %, superior a aproximadamente un 40 % y/o superior a aproximadamente un 50 % como una función del valor de la molécula de referencia/comparadora.

La expresión "*sustancialmente similar*" o "*sustancialmente igual*", como se usa en el presente documento, indica un grado suficientemente alto de similitud entre dos valores numéricos (por ejemplo, uno asociado con un anticuerpo de la invención y el otro asociado con un anticuerpo de referencia/comparador), de modo que un experto en la técnica consideraría que la diferencia entre los dos valores es de poca o ninguna significación biológica y/o estadística dentro del contexto de la característica biológica medida por dichos valores (por ejemplo, valores de Kd). La diferencia entre dichos dos valores es, por ejemplo, inferior a aproximadamente un 50 %, inferior a aproximadamente un 40 %, inferior a aproximadamente un 30 %, inferior a aproximadamente un 20 % y/o inferior a aproximadamente

un 10 % como una función del valor del anticuerpo de referencia/comparador.

Los "vehículos", como se usan en el presente documento, incluyen vehículos, excipientes o estabilizantes farmacéuticamente aceptables que no son tóxicos para la célula o mamífero que está expuesto a los mismos en las dosificaciones y concentraciones empleadas. A menudo, el vehículo fisiológicamente aceptable es una solución acuosa de pH tamponado. Los ejemplos de vehículos fisiológicamente aceptables incluyen tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes incluyendo ácido ascórbico; polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos), gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos incluyendo glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; alcoholes de azúcar tales como manitol o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN™, polietilenglicol (PEG) y PLURONICS™.

Un "prospecto" se refiere a las instrucciones habitualmente incluidas en los envases comerciales de medicamentos que contienen información sobre las indicaciones habitualmente incluidas en los envases comerciales de medicamentos que contienen información sobre indicaciones, uso, dosificación, administración, contraindicaciones, otros medicamentos que se van a combinar con el producto envasado, y/o advertencias sobre el uso de dichos medicamentos, etc.

Como se usa en el presente documento, el término "tratamiento" se refiere a la intervención clínica diseñada para alterar la evolución natural del individuo o la célula que se está tratando durante la evolución de la patología clínica. Los efectos deseables del tratamiento incluyen disminuir la tasa de progresión de la enfermedad, mejorar o paliar el estado de enfermedad, y la remisión o mejora del pronóstico. Por ejemplo, un individuo se "trata" con éxito si uno o más síntomas asociados con el cáncer se mitigan o eliminan, lo que incluye, pero no se limita a, reducir la proliferación de (o destruir) las células cancerosas, disminuir los síntomas resultantes de la enfermedad, aumentar la calidad de vida de quienes padecen la enfermedad, disminuir la dosis de otros medicamentos necesarios para tratar la enfermedad, retrasar la progresión de la enfermedad y/o prolongar la supervivencia de los individuos.

Como se usa en el presente documento, "retrasar la progresión de una enfermedad" significa diferir, dificultar, ralentizar, retardar, estabilizar y/o posponer el desarrollo de la enfermedad (tal como el cáncer). Este retraso puede tener diferentes duraciones, dependiendo del historial de la enfermedad y/o del individuo tratado. Como es evidente para un experto en la técnica, un retraso suficiente o significativo puede, en efecto, abarcar la prevención, ya que el individuo no desarrolla la enfermedad. Por ejemplo, se puede retrasar un cáncer en estadio tardío, como el desarrollo de metástasis.

Una "cantidad eficaz" es al menos la concentración mínima requerida para conseguir una mejora o prevención medible de un trastorno particular. En el presente documento, una cantidad eficaz puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del paciente, y la capacidad del anticuerpo de provocar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad eficaz es también una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial del tratamiento se ve compensado por los efectos terapéuticamente beneficiosos. Para uso profiláctico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados tales como eliminar o reducir el riesgo, disminuir la gravedad o retrasar la aparición de la enfermedad, incluidos los síntomas bioquímicos, histológicos y/o conductuales de la enfermedad, sus complicaciones y los fenotipos patológicos intermedios que se presentan durante el desarrollo de la enfermedad. Para uso terapéutico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados clínicos tales como la disminución de uno o más síntomas que resultan de la enfermedad, el aumento de la calidad de vida de aquellos que padecen la enfermedad, la disminución de la dosis de otros medicamentos necesarios para tratar la enfermedad, la potenciación del efecto de otro medicamento, tal como mediante direccionamiento, el retraso de la progresión de la enfermedad y/o la prolongación de la supervivencia. En el caso de cáncer o tumor, una cantidad eficaz del fármaco puede reducir el número de células cancerosas; reducir el tamaño del tumor primario; inhibir (es decir, ralentizar en cierta medida y de forma deseable detener) la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; inhibir (es decir, ralentizar en cierta medida y de forma deseable detener) la metástasis tumoral; inhibir en cierta medida el crecimiento tumoral; y/o aliviar en cierta medida uno o más de los síntomas asociados con el trastorno. Se puede administrar una cantidad eficaz en una o más administraciones. Para los fines de la presente invención, una cantidad eficaz de fármaco, compuesto o composición farmacéutica es una cantidad suficiente para llevar a cabo un tratamiento profiláctico o terapéutico directa o indirectamente. Como se entiende en el contexto clínico, una cantidad eficaz de un fármaco, compuesto o composición farmacéutica se puede lograr o no junto con otro fármaco, compuesto o composición farmacéutica. Por lo tanto, una "cantidad eficaz" se puede considerar en el contexto de la administración de uno o más agentes terapéuticos, y se puede considerar que un solo agente se administra en una cantidad eficaz si, junto con uno o más agentes adicionales, se puede lograr o se logra un resultado deseable.

Como se usa en el presente documento, "junto con" se refiere a la administración de una modalidad de tratamiento además de otra modalidad de tratamiento. Como tal, "junto con" se refiere a la administración de una modalidad de tratamiento antes, durante o después de la administración de la otra modalidad de tratamiento al individuo.

Como se usa en el presente documento, "respuesta completa" o "RC" se refiere a la desaparición de todas las

lesiones diana; "respuesta parcial" o "RP" se refiere a al menos una disminución de un 30 % en la suma de los diámetros más largos (SDML) de las lesiones diana, tomando como referencia la SDML de referencia; y "enfermedad estable" o "ES" se refiere a una reducción no suficiente de las lesiones diana para calificarla como RP o a un aumento no suficiente para calificarla como EP, tomando como referencia la SDML más pequeña desde que comenzó el tratamiento.

Como se usa en el presente documento, "enfermedad progresiva" o "EP" se refiere a al menos un aumento de un 20 % en la SDML de las lesiones diana, tomando como referencia la SDML más pequeña registrada desde que comenzó el tratamiento o la presencia de una o más lesiones nuevas.

Como se usa en el presente documento, "supervivencia sin progresión" (SSP) se refiere a la cantidad de tiempo durante y después del tratamiento durante el que la enfermedad que se está tratando (por ejemplo, cáncer) no empeora. La supervivencia sin progresión puede incluir la cantidad de tiempo en la que los pacientes han experimentado una respuesta completa o una respuesta parcial, así como la cantidad de tiempo en la que los pacientes han experimentado una enfermedad estable.

Como se usa en el presente documento, "tasa de respuesta global" (TRG) se refiere a la suma de la tasa de respuesta completa (RC) y la tasa de respuesta parcial (RP).

Como se usa en el presente documento, "supervivencia global" se refiere al porcentaje de individuos de un grupo que probablemente estén vivos después de un período de tiempo particular.

Un "*agente quimioterápico*" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Los ejemplos de agentes quimioterápicos incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclosfosfamida (CYTOXAN®); sulfonatos de alquilo tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carboquona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilmelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolmelamina; acetogeninas (en especial, bullatacina y bullatacinona); delta-9-tetrahidrocannabinol (dronabinol, MARINOL®); beta-lapachona; lapachol; colchicinas; ácido betulínico; una camptotecina (incluido el análogo sintético topotecán (HYCAMTIN®), CPT-11 (irinotecán, CAMPTOSAR®), acetilcamptotecina, escopolectina y 9-aminocamptotecina); briostatina; pemetrexed; callistatina; CC-1065 (incluidos sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); podofilotoxina; ácido podofilínico; tenipósido; criptoficinas (particularmente, criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluidos sus análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; TLK-286; CDP323, un inhibidor oral de alfa-4 integrina; una sarcodictina; espongistatina; mostazas nitrogenadas tales como clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enediina (por ejemplo, caliqueamicina, en especial, caliqueamicina gamma11 y caliqueamicina omega11 (véase, por ejemplo, Nicolaou *et al.*, *Angew. Chem Intl. Ed. Engl.*, 33: 183-186 (1994)); dinemina, incluyendo dinemina A; una esperamicina; así como cromóforo de neocarzinostatina y cromóforos antibióticos de cromoproteína enediina relacionados, aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azerasina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina (incluyendo ADRIAMYCIN®, morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina, inyección de doxorubicina HCl en liposomas (DOXIL®) y desoxidoxorrubicina), epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; antimetabolitos tales como metotrexato, gemcitabina (GEMZAR®), tegafur (UFTORAL®), capecitabina (XELODA®), una eptilona y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina e imatinib (un derivado de 2-fenilaminopirimidina), así como otros inhibidores de c-kit; antipararrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; refuerzo de ácido fólico tal como ácido frolínico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina diaziqona; elfornitina; acetato de eliptinio; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxurea; lentinano; lonidainina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguanina; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; losoxantrona; 2-etilhidracida; procarbazona; complejo de polisacáridos PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxano; rizoxina; sizofirano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triaziqona; 2,2',2"-trichlorotrietilamina; tricotecenos (en especial, toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina (ELDISINE®, FILDESIN®); dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); tiotepa; taxoides, por ejemplo, paclitaxel (TAXOL®), formulación en nanopartículas de paclitaxel unido a albúmina (ABRAXANE™) y doxetaxel (TAXOTERE®), clorambucilo; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina (VELBAN®); platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina (ONCOVIN®); oxaliplatino; leucovovina; vinorelbina (NAVELBINE®); novantrona; edatrexato; daunomicina; aminopterina; ibandronato; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; sales, ácidos o derivados farmacéuticamente

aceptables de cualquiera de los anteriores, así como combinaciones de dos o más de los anteriores tales como el CHOP, una abreviatura de un tratamiento combinado de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisolona, y FOLFOX, una abreviatura para un régimen de tratamiento con oxaliplatino (ELOXATIN™) combinado con 5-FU y leucovovina.

5 Ejemplos adicionales de agentes quimioterápicos incluyen agentes antihormonales que actúan para regular, reducir, bloquear o inhibir los efectos de hormonas que pueden promover el crecimiento del cáncer, y que están a menudo en forma de tratamiento sistémico o de todo el organismo. Pueden ser las propias hormonas. Los ejemplos incluyen antiestrógenos y moduladores selectivos de receptores de estrógenos (SERM), incluyendo, por ejemplo, tamoxifeno (incluyendo tamoxifeno NOLVADEX®), raloxifeno (EVISTA®), droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y toremifeno (FARESTON®); antiprogesteronas; reguladores por disminución de receptores de estrógenos (ERD); antagonistas de receptores de estrógenos tales como fulvestrant (FASLODEX®); agentes que funcionan suprimiendo o paralizando los ovarios, por ejemplo, agonistas de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) tales como acetato de leuprolida (LUPRON® y ELIGARD®), acetato de goserelina, acetato de buserelina y triptorelina; antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida y bicalutamida; e inhibidores de la aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógenos en las glándulas suprarrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, acetato de megestrol (MEGASE®), exemestano (AROMASIN®), formestano, fadrozol, vorozol (RIVISOR®), letrozol (FEMARA®) y anastrozol (ARIMIDEX®). Además, dicha definición de agentes quimioterápicos incluye bifosfonatos tales como clodronato (por ejemplo, BONEFOS® u OSTAC®), etidronato (DIDROCAL®), NE-58095, ácido zoledrónico / zoledronato (ZOMETA®), alendronato (FOSAMAX®), pamidronato (ARELIA®), tiludronato (SKELID®) o risedronato (ACTONEL®); así como troxacitabina (un análogo 1,3-dioxolano de nucleósido citosina); oligonucleótidos de antisentido, particularmente aquellos que inhiben la expresión de genes en vías de señalización implicadas en una proliferación celular aberrante, tales como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf, H-Ras y el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF-R); vacunas tales como la vacuna THERATOPE® y vacunas de genoterapia, por ejemplo, la vacuna ALLOVECTIN®, la vacuna LEUVECTIN® y la vacuna VAXID®; inhibidor de topoisomerasa 1 (por ejemplo, LURTOTECAN®); un antiestrógeno tal como fulvestrant; un inhibidor de Kit tal como imatinib o EXEL-0862 (un inhibidor de la tirosina cinasa); inhibidor de EGFR tal como erlotinib o cetuximab; un inhibidor anti-VEGF tal como bevacizumab; arinotecán; rrmRH (por ejemplo, ABARELIX®); lapatinib y lapatinib ditosilato (un inhibidor doble de molécula pequeña de erbB-2 y EGFR de tirosina cinasa también conocido como GW572016); 17AAG (derivado de geldanamicina que es un veneno de la proteína de choque térmico (Hsp) 90) y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

35 Como se usa en el presente documento, el término "*citocina*" se refiere genéricamente a proteínas liberadas por una población celular, que actúan sobre otra célula como mediadores intercelulares o tienen un efecto autocrino sobre las células que producen las proteínas. Los ejemplos de tales citocinas incluyen linfocinas, monocinas, interleucinas ("IL") tales como IL-1, IL-1 α , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17A-F, IL-18 a IL-29 (por ejemplo, IL-23), IL-31, incluyendo rIL-2 PROLEUKIN®; un factor de necrosis tumoral tal como TNF- α o TNF- β , TGF- β 1-3; y otros factores polipeptídicos que incluyen el factor inhibidor de la leucemia ("LIF"), el factor neurotrófico ciliar ("CNTF"), la citocina de tipo CNTF ("CLC"), la cardiotrofina ("CT") y el ligando de Kit ("KL").

45 Como se usa en el presente documento, el término "quimiocina" se refiere a factores solubles (por ejemplo, citocinas) que tienen la capacidad de inducir selectivamente la quimiotaxia y la activación de leucocitos. También desencadenan procesos de angiogénesis, inflamación, cicatrización de heridas y tumorigénesis. Los ejemplos de quimiocinas incluyen IL-8, un homólogo humano de factor quimiotáctico de queratinocitos (KC) murino.

Como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un/a", "o" y "el/la" incluyen las referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

50 La referencia a "aproximadamente" un valor o parámetro en el presente documento incluye (y describe) variaciones que están dirigidas a ese valor o parámetro *per se*. Por ejemplo, la descripción que hace referencia a "aproximadamente X" incluye la descripción de "X".

55 El término "alquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un radical hidrocarbonado monovalente de cadena lineal o ramificada saturada de uno a doce átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo (Me, -CH₃), etilo (Et, -CH₂CH₃), 1-propilo (n-Pr, n-propilo, -CH₂CH₂CH₃), 2-propilo (i-Pr, i-propilo, -CH(CH₃)₂), 1-butilo (n-Bu, n-butilo, -CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-metil-1-propilo (i-Bu, i-butilo, -CH₂CH(CH₃)₂), 2-butilo (s-Bu, s-butilo, -CH(CH₃)CH₂CH₃), 2-metil-2-propilo (t-Bu, t-butilo, -C(CH₃)₃), 1-pentilo (n-pentilo, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-pentilo (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃), 3-pentilo (-CH(CH₂CH₃)₂), 2-metil-2-butilo (-C(CH₃)₂CH₂CH₃), 3-metil-2-butilo (-CH(CH₃)CH(CH₃)₂), 3-metil-1-butilo (-CH₂CH₂CH(CH₃)₂), 2-metil-1-butilo (-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃), 1-hexilo (-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-hexilo (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₃), 3-hexilo (-CH(CH₂CH₃)(CH₂CH₂CH₃)), 2-metil-2-pentilo (-C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₃), 3-metil-2-pentilo (-CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₃), 4-metil-2-pentilo (-CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)₂), 3-metil-3-pentilo (-C(CH₃)(CH₂CH₃)₂), 2-metil-3-pentilo (-CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)₂), 2,3-dimetil-2-butilo (-C(CH₃)₂CH(CH₃)₂), 3,3-dimetil-2-butilo (-CH(CH₃)C(CH₃)₃), 1-heptilo, 1-octilo y similares.

El término "alqueno" se refiere a un radical hidrocarbonado monovalente de cadena lineal o ramificada de dos a doce átomos de carbono con al menos un sitio de insaturación, es decir, un doble enlace carbono-carbono sp^2 , en el que el radical alqueno incluye radicales que tienen orientaciones "cis" y "trans" o, de forma alternativa, orientaciones "E" y "Z". Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, etileno o vinilo ($-CH=CH_2$), alilo ($-CH_2CH=CH_2$) y similares.

El término "alquino" se refiere a un radical hidrocarbonado monovalente lineal o ramificado de dos a doce átomos de carbono con al menos un sitio de insaturación, es decir, un triple enlace carbono-carbono sp . Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, etino ($-C\equiv CH$), propino (propargilo, $-CH_2C\equiv CH$) y similares.

Los términos "carbociclo", "carbociclilo", "anillo carbocíclico" y "cicloalquilo" se refieren a un anillo monovalente no aromático, saturado o parcialmente insaturado que tiene de 3 a 12 átomos de carbono como un anillo monocíclico o de 7 a 12 átomos de carbono como anillo bicíclico. Los carbociclos bicíclicos que tienen de 7 a 12 átomos se pueden disponer, por ejemplo, como un sistema biciclo [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6], y los carbociclos bicíclicos que tienen 9 o 10 átomos en el anillo se pueden disponer como un sistema biciclo [5,6] o [6,6], o como sistemas conectados tales como biciclo[2.2.1]heptano, biciclo[2.2.2]octano y biciclo[3.2.2]nonano. Los ejemplos de carbociclos monocíclicos incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, 1-ciclopent-1-enilo, 1-ciclopent-2-enilo, 1-ciclopent-3-enilo, ciclohexilo, 1-ciclohex-1-enilo, 1-ciclohex-2-enilo, 1-ciclohex-3-enilo, ciclohexadienilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclonoilo, ciclodecilo, cicloundecilo, ciclo-dodecilo y similares.

"Arilo" significa un radical hidrocarbonado aromático monovalente de 6 a 18 átomos de carbono derivado de la eliminación de un átomo de hidrógeno de un solo átomo de carbono de un sistema de anillo aromático original. Algunos grupos arilo se representan en las estructuras ejemplares como "Ar". Arilo incluye radicales bicíclicos que comprenden un anillo aromático condensado con un anillo saturado, parcialmente insaturado o un anillo carbocíclico o heterocíclico aromático. Los grupos arilo típicos incluyen, pero no se limitan a, radicales derivados de benceno (fenilo), bencenos sustituidos, naftaleno, antraceno, indenilo, indanilo, 1,2-dihidronaftaleno, 1,2,3,4-tetrahidronaftilo y similares.

Los términos "heterociclo", "heterociclilo" y "anillo heterocíclico" se usan de manera intercambiable en el presente documento y se refieren a un radical carbocíclico saturado o parcialmente insaturado (es decir, que tiene uno o más enlaces dobles y/o triples dentro del anillo) de 3 a 18 átomos en el anillo en el que al menos un átomo del anillo es un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre, siendo C los átomos restantes del anillo, en el que uno o más átomos del anillo están opcionalmente sustituidos de manera independiente por uno o más sustituyentes descritos a continuación. Un heterociclo puede ser un monociclo que tiene de 3 a 7 miembros en el anillo (de 2 a 6 átomos de carbono y de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de N, O, P y S) o un biciclo que tiene de 7 a 10 miembros en el anillo (de 4 a 9 átomos de carbono y de 1 a 6 heteroátomos seleccionados de N, O, P y S), por ejemplo, un sistema biciclo [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6]. Los heterociclos se describen en Paquette, Leo A.; "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A. Benjamin, Nueva York, 1968), particularmente los capítulos 1, 3, 4, 6, 7 y 9; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, Nueva York, 1950 hasta el presente), en particular, los volúmenes 13, 14, 16, 19 y 28; y J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566. "Heterociclilo" también incluye radicales en los que los radicales heterocíclicos están condensados con un anillo saturado, parcialmente insaturado o un anillo aromático carbocíclico o heterocíclico. Los ejemplos de anillos heterocíclicos incluyen, pero no se limitan a, pirrolidinilo, tetrahidrofurano, dihidrofurano, tetrahidrotienilo, tetrahidropirano, dihidropirano, tetrahidropirano, piperidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, tioxanilo, piperazinilo, homopiperazinilo, azetidino, oxetanilo, tietanilo, homopiperidinilo, oxepanilo, tiepanilo, oxazepinilo, diazepinilo, tiazepinilo, 2-pirrolinilo, 3-pirrolinilo, indolinilo, 2H-pirano, 4H-pirano, dioxanilo, 1,3-dioxanilo, pirazolinilo, ditanilo, ditiolanilo, dihidropirano, dihidrotienilo, dihidrofurano, pirazolidinimidazolinilo, imidazolidinilo, 3-azabicyclo[3.1.0]hexano, 3-azabicyclo[4.1.0]heptano y azabicyclo[2.2.2]hexano. Los restos espiro también se incluyen dentro del alcance de esta definición. Ejemplos de un grupo heterocíclico en el que los átomos del anillo están sustituidos por restos oxo ($=O$) son pirimidinilo y 1,1-dioxo-tiomorfolinilo.

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

Los grupos heterociclo o heteroarilo pueden estar acoplados por carbono (unido por carbono) o nitrógeno (unido por nitrógeno) cuando sea posible. A modo de ejemplo y no de limitación, los heterociclos o heteroarilos unidos por carbono están unidos en la posición 2, 3, 4, 5 o 6 de una piridina, la posición 3, 4, 5 o 6 de una pirazina, la posición 2, 4, 5 o 6 de una pirimidina, la posición 2, 3, 5 o 6 de una pirazina, la posición 2, 3, 4 o 5 de un furano, tetrahidrofurano, tiofurano, tiofeno, pirrol o tetrahidropirrol, la posición 2, 4 o 5 de un oxazol, imidazol o tiazol, la

posición 3, 4 o 5 de un isoxazol, pirazol o isotiazol, la posición 2 o 3 de una aziridina, la posición 2, 3 o 4 de una azetidina, la posición 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 de una quinolina o la posición 1, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 de una isoquinolina.

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

Los heteroátomos presentes en heteroarilo o heterociclilo incluyen las formas oxidadas tales como $N^+ \rightarrow O^-$, S(O) y S(O)₂.

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

La frase "sal farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a sales orgánicas o inorgánicas farmacéuticamente aceptables de un compuesto de la invención. Las sales ejemplares incluyen, pero no se limitan a, sales de sulfato, citrato, acetato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, lactato, salicilato, citrato ácido, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucuronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato "mesilato", etanosulfonato, benzenosulfonato, *p*-toluenosulfonato, pamoato (es decir, 1,1'-metileno-bis-(2-hidroxi-3-naftoato), sales de metales alcalinos (por ejemplo, sodio y potasio), sales de metales alcalinotérreos (por ejemplo, magnesio) y sales de amonio. Una sal farmacéuticamente aceptable puede implicar la inclusión de otra molécula tal como un ion acetato, un ion succinato u otro contraión. El contraión puede ser cualquier resto orgánico o inorgánico que estabilice la carga en el compuesto original. Además, una sal farmacéuticamente aceptable puede tener más de un átomo cargado en su estructura. Los casos en los que múltiples átomos cargados forman parte de la sal farmacéuticamente aceptable pueden tener múltiples contraiones. Por lo tanto, una sal farmacéuticamente aceptable puede tener uno o más átomos cargados y/o uno o más contraiones.

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

Si el compuesto de la invención es un ácido, la sal farmacéuticamente aceptable deseada se puede preparar mediante cualquier procedimiento adecuado, por ejemplo, el tratamiento del ácido libre con una base inorgánica u orgánica, tal como una amina (primaria, secundaria o terciaria), un hidróxido de metal alcalino o hidróxido de metal alcalinotérreo o similares. Los ejemplos ilustrativos de sales adecuadas incluyen, pero no se limitan a, sales orgánicas derivadas de aminoácidos tales como glicina y arginina, amoniaco, aminas primarias, secundarias y terciarias y aminas cíclicas tales como piperidina, morfolina y piperazina y sales inorgánicas derivadas de sodio, calcio, potasio, magnesio, manganeso, hierro, cobre, cinc, aluminio y litio.

La frase "farmacéuticamente aceptable" indica que la sustancia o composición debe ser química y/o toxicológicamente compatible con los otros ingredientes que comprende una formulación y/o con el mamífero al que se está tratando con la misma.

Un "solvato" se refiere a una asociación o complejo de una o más moléculas de disolvente y un compuesto de la invención. Los ejemplos de disolventes que forman solvatos incluyen, pero no se limitan a, agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético y etanolamina. El término "hidrato" se refiere al complejo en el que la molécula de disolvente es agua.

Se entiende que los aspectos y variaciones de la invención descritos en el presente documento incluyen los aspectos y variaciones de "que consisten en" y/o "que consisten esencialmente en".

III. Procedimientos

En un aspecto, en el presente documento se proporciona un aspecto para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de un antagonista de unión al eje de PD-1 y un inhibidor de MEK. En algunos aspectos, el tratamiento da como resultado una respuesta mantenida en el individuo después de la interrupción del tratamiento.

Los aspectos de la presente invención pueden encontrar uso en el tratamiento de afecciones en las que se desea una inmunogenicidad potenciada, tal como una inmunogenicidad tumoral creciente para el tratamiento del cáncer.

Se puede tratar una variedad de cánceres, o su progresión se puede retrasar, incluyendo, pero sin limitarse a, un cáncer que puede contener una mutación V600E de BRAF, un cáncer que puede contener un BRAF natural, un cáncer que puede contener un KRAS natural o un cáncer que puede contener una mutación activadora de KRAS.

5 En algunos modos de realización, el individuo tiene melanoma. El melanoma puede estar en estadio temprano o en estadio tardío. En algunos modos de realización, el individuo tiene cáncer colorrectal. El cáncer colorrectal puede estar en estadio temprano o en estadio tardío. En algunos modos de realización, el individuo tiene cáncer de pulmón no microcítico. El cáncer de pulmón no microcítico puede estar en estadio temprano o en estadio tardío. En algunos modos de realización, el individuo tiene cáncer de páncreas. El cáncer de páncreas puede estar en estadio temprano o en estadio tardío. En algunos modos de realización, el individuo tiene una neoplasia hemática. La neoplasia hemática puede estar en estadio temprano o en estadio tardío. En algunos modos de realización, el individuo tiene cáncer de ovario. El cáncer de ovario puede estar en estadio temprano o en estadio tardío. En algunos modos de realización, el individuo tiene cáncer de mama. El cáncer de mama puede estar en estadio temprano o en estadio tardío. En algunos modos de realización, el individuo tiene carcinoma de células renales. El carcinoma de células renales puede estar en estadio temprano o en estadio tardío.

En algunos modos de realización, el individuo es un mamífero, tal como animales domesticados (por ejemplo, vacas, ovejas, gatos, perros y caballos), primates (por ejemplo, seres humanos y primates no humanos tales como monos), conejos y roedores (por ejemplo, ratones y ratas). En algunos modos de realización, el individuo tratado es un ser humano.

En otro aspecto, en el presente documento se proporciona un aspecto de potenciación de la función inmunitaria de un individuo que tiene cáncer, que comprende administrar una cantidad eficaz de un antagonista de unión al eje de PD-1 y un inhibidor de MEK.

En algunos aspectos, los linfocitos T CD8 en el individuo tienen una actividad de sensibilización, activación, proliferación y/o citolítica potenciada con respecto a la situación previa a la administración del antagonista de la vía de PD-1 y el inhibidor de MEK. En algunos aspectos, la sensibilización de linfocitos T CD8 se caracteriza por una expresión elevada de CD44 y/o una actividad citolítica potenciada en linfocitos T CD8. En algunos aspectos, la activación de linfocitos T CD8 se caracteriza por una frecuencia elevada de linfocitos T CD8 γ -IFN⁺. En algunos aspectos, el linfocito T CD8 es un linfocito T específico de antígeno. En algunos modos de realización se inhibe la inmuno-evasión mediante señalización a través de la expresión superficial de PD-L1.

En algunos aspectos, las células cancerosas en el individuo tienen una expresión elevada de la expresión del antígeno MHC de clase I con respecto a la situación previa a la administración del antagonista de la vía de PD-1 y el inhibidor de MEK.

En algunos aspectos, las células presentadoras de antígenos en el individuo tienen una maduración y activación potencias con respecto a la situación previa a la administración del antagonista de la vía de PD-1 y el inhibidor de MEK. En algunos aspectos, las células presentadoras de antígenos son células dendríticas. En algunos aspectos, la maduración de las células presentadoras de antígenos se caracteriza por una mayor frecuencia de células dendríticas CD83⁺. En algunos aspectos, la activación de las células presentadoras de antígenos se caracteriza por la expresión elevada de CD80 y CD86 en células dendríticas.

En algunos aspectos, los niveles séricos de citocina IL-10 y/o quimiocina IL-8, un homólogo humano de KC murino, en el individuo se reducen con respecto a la situación previa a la administración del anticuerpo anti-PD-L1 y el inhibidor de MEK.

En algunos aspectos, el cáncer tiene niveles elevados de infiltración de linfocitos T.

En algunos aspectos, el tratamiento combinado de la invención comprende la administración de un antagonista de unión al eje de PD-1 y un inhibidor de MEK. El antagonista de unión al eje de PD-1 y el inhibidor de MEK se pueden administrar de cualquier manera adecuada conocida en la técnica. Por ejemplo, el antagonista de unión al eje de PD-1 y el inhibidor de MEK se pueden administrar secuencialmente (en diferentes momentos) o conjuntamente (al mismo tiempo).

En algunos aspectos, el inhibidor de MEK se administra de forma continua. En algunos aspectos, el inhibidor de MEK se administra de manera intermitente. En algunos aspectos, el inhibidor de MEK se administra antes de la administración del antagonista de unión al eje de PD-1. En algunos aspectos, el inhibidor de MEK se administra simultáneamente a la administración del antagonista de unión al eje de PD-1. En algunos aspectos, el inhibidor de MEK se administra después de la administración del antagonista de unión al eje de PD-1.

En algunos aspectos se proporciona un aspecto para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de un antagonista de unión al eje de PD-1 y un inhibidor de MEK, que comprende además administrar un tratamiento adicional. El tratamiento adicional puede ser radioterapia, cirugía (por ejemplo, lumpectomía y mastectomía), quimioterapia, genoterapia, terapia de ADN, terapia antivírica,

terapia de ARN, inmunoterapia, trasplante de médula ósea, nanoterapia, terapia con anticuerpos monoclonales o una combinación de lo anterior. El tratamiento adicional puede ser en forma de tratamiento adyuvante o neoadyuvante. En algunos aspectos, el tratamiento adicional es la administración de inhibidor enzimático de molécula pequeña o agente antimetastásico. En algunos aspectos, el tratamiento adicional es la administración de agentes limitantes de efectos secundarios (por ejemplo, agentes destinados a disminuir la aparición y/o la gravedad de los efectos secundarios del tratamiento, tales como los agentes antieméticos, etc.). En algunos aspectos, el tratamiento adicional es radioterapia. En algunos aspectos, el tratamiento adicional es cirugía. En algunos aspectos, el tratamiento adicional es una combinación de radioterapia y cirugía. En algunos aspectos, el tratamiento adicional es irradiación gamma. En algunos aspectos, el tratamiento adicional es un tratamiento dirigido a la vía de PI3K/AKT/mTOR, inhibidor de HSP90, inhibidor de tubulina, inhibidor de apoptosis y/o agente quimioprolifáctico. El tratamiento adicional puede ser uno o más de los agentes quimioterápicos descritos anteriormente en el presente documento.

El antagonista de unión al eje de PD-1 y el inhibidor de MEK se pueden administrar por la misma vía de administración o por diferentes vías de administración. En algunos aspectos, el antagonista de unión al eje de PD-1 se administra por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, tópica, oral, transdérmica, intraperitoneal, intraorbital, por implantación, por inhalación, por vía intratecal, intraventricular o intranasal. En algunos aspectos, el inhibidor de MEK se administra por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, tópica, oral, transdérmica, intraperitoneal, intraorbital, por implantación, por inhalación, por vía intratecal, intraventricular o intranasal. Se puede administrar una cantidad eficaz del antagonista de unión al eje de PD-1 y el inhibidor de MEK para la prevención o el tratamiento de la enfermedad. La dosis apropiada del antagonista de unión al eje de PD-1 y/o el inhibidor de MEK se puede determinar en función del tipo de enfermedad que se va a tratar, el tipo de antagonista de unión del eje de PD-1 e inhibidor de MEK, la gravedad y la evolución de la enfermedad, el estado clínico del individuo, la anamnesis del individuo y la respuesta al tratamiento, y el criterio del médico responsable del tratamiento.

Cualquiera de los antagonistas de unión al eje de PD-1 y los inhibidores de MEK conocidos en la técnica o descritos a continuación se pueden usar en los procedimientos.

Antagonistas de unión al eje de PD-1

En el presente documento se proporciona un aspecto para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de un antagonista de unión al eje de PD-1 y un inhibidor de MEK. Por ejemplo, un antagonista de unión al eje de PD-1 incluye un antagonista de unión a PD-1, un antagonista de unión a PD-L1 y un antagonista de unión a PD-L2. Los nombres alternativos para "PD-1" incluyen CD279 y SLEB2. Los nombres alternativos para "PD-L1" incluyen B7-H1, B7-4, CD274 y B7-H. Los nombres alternativos para "PD-L2" incluyen B7-DC, Btdc y CD273. En algunos modos de realización, PD-1, PD-L1 y PD-L2 son PD-1, PD-L1 y PD-L2 humanos.

En algunos aspectos, el antagonista de unión a PD-1 es una molécula que inhibe la unión de PD-1 a sus compañeros de unión de ligando. En un aspecto específico, los compañeros de unión de ligando de PD-1 son PD-L1 y/o PD-L2. En otro modo de realización, un antagonista de unión a PD-L1 es una molécula que inhibe la unión de PD-L1 a sus compañeros de unión. En un aspecto específico, los compañeros de unión de PD-L1 son PD-1 y/o B7-1. En otro aspecto, el antagonista de unión a PD-L2 es una molécula que inhibe la unión de PD-L2 a sus compañeros de unión. En un aspecto específico, un compañero de unión de PD-L2 es PD-1. El antagonista puede ser un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo, una inmunoadhesina, una proteína de fusión u oligopéptido.

En algún aspecto, el antagonista de unión a PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo quimérico). En algunos aspectos, el anticuerpo anti-PD-1 se selecciona del grupo que consiste en MDX-1106, Merck 3475 y CT-011. En algunos aspectos, el antagonista de unión a PD-1 es una inmunoadhesina (por ejemplo, una inmunoadhesina que comprende una porción extracelular o de unión a PD-1 de PD-L1 o PD-L2 fusionada a una región constante (por ejemplo, una región Fc de una secuencia de inmunoglobulina)). En algunos aspectos, el antagonista de unión a PD-1 es AMP-224. En algunos modos de realización, el antagonista de unión a PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1. En algunos modos de realización, el antagonista de unión anti-PD-L1 se selecciona del grupo que consiste en YW243.55.S70, MPDL3280A y MDX-1105. MDX-1105, también conocido como BMS-936559, es un anticuerpo anti-PD-L1 descrito en el documento WO2007/005874. El anticuerpo YW243.55.S70 (secuencias de región variable de cadena pesada y ligera mostradas en las SEQ ID NO:20 y 21, respectivamente) es un anti-PD-L1 descrito en el documento WO 2010/077634 A1. MDX-1106, también conocido como MDX-1106-04, ONO-4538 o BMS-936558, es un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el documento WO2006/121168. Merck 3745, también conocido como MK-3475 o SCH-900475, es un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el documento WO2009/114335. CT-011, también conocido como hBAT o hBAT-1, es un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el documento WO2009/101611. AMP-224, también conocido como B7-DCIg, es un receptor soluble de fusión de PD-L2-Fc descrito en los documentos WO2010/027827 y WO2011/066342.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-PD-1 es MDX-1106. Los nombres alternativos para "MDX-1106" incluyen MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558 o Nivolumab. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-PD-1 es Nivolumab

(número de registro CAS: 946414-94-4). En otro aspecto más se proporciona un anticuerpo anti-PD-1 aislado que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:22 y/o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:23. En otro aspecto más se proporciona un anticuerpo anti-PD-1 aislado que comprende una secuencia de cadena pesada y/o cadena ligera, en el que:

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

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWIY
 DGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLVT
 VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
 QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKRVE SKYGPCCPPCPAPEFLGG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
 NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ
 EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDK
 SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO:22), o

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

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAT
 GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI
 FPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSL
 SSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:23).

En la solicitud de patente PCT WO 2010/077634 A1 se describen ejemplos de anticuerpos anti-PD-L1 útiles para los aspectos de la presente invención y procedimientos para llevar a cabo los mismos.

En algunos modos de realización, el antagonista de unión al eje de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-L1. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-PD-L1 puede inhibir la unión entre PD-L1 y PD-1 y/o entre PD-L1 y B7-1. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-PD-L1 es un anticuerpo monoclonal. En un modo de realización, el anticuerpo anti-PD-L1 es un fragmento de anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en fragmentos Fab, Fab'-SH, Fv, scFv o (Fab')₂. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-PD-L1 es un anticuerpo humanizado. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-PD-L1 es un anticuerpo humano.

Los anticuerpos anti-PD-L1 útiles en la presente invención, incluyendo composiciones que contienen dichos anticuerpos, tales como las descritos en el documento WO 2010/077634 A1, se pueden usar en combinación con un inhibidor de MEK para tratar el cáncer. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-PD-L1 comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20 y la región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

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

- (a) la secuencia de HVR-H1 es GFTFSX₁SWIH (SEQ ID NO:1);
- (b) la secuencia de HVR-H2 es AWIX₂PYGG SX₃YYADSVKG (SEQ ID NO:2);
- (c) la secuencia de HVR-H3 es RHWPGGFDY (SEQ ID NO:3);

en la que además: X₁ es D o G; X₂ es S o L; X₃ es T o S.

En un aspecto específico, X₁ es D; X₂ es S y X₃ es T. En otro aspecto, el polipéptido comprende además secuencias estructurales de cadena pesada de región variable yuxtapuestas entre las HVR de acuerdo con la fórmula: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4). En otro aspecto más, las secuencias estructurales se derivan de secuencias estructurales consenso humanas. En otro aspecto, las secuencias estructurales son la estructura consenso de subgrupo III de VH. En otro aspecto más, al menos una de las

secuencias estructurales es la siguiente:

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

5 En otro aspecto más, el polipéptido de cadena pesada se combina además con una cadena ligera de región variable que comprende un HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3, en la que:

(a) la secuencia de HVR-L1 es RASQX₄X₅X₆TX₇X₈A (SEQ ID NO:8);
 (b) la secuencia de HVR-L2 es SASX₉LX₁₀S (SEQ ID NO:9);
 (c) la secuencia de HVR-L3 es QQX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄PX₁₅T (SEQ ID NO:10);

10 en la que además: X₄ es D o V; X₅ es V o I; X₆ es S o N; X₇ es A o F; X₈ es V o L; X₉ es F o T; X₁₀ es Y o A; X₁₁ es Y, G, F o S; X₁₂ es L, Y, F o W; X₁₃ es Y, N, A, T, G, F o I; X₁₄ es H, V, P, T o I; X₁₅ es A, W, R, P o T.

15 En un aspecto adicional, X₄ es D; X₅ es V; X₆ es S; X₇ es A; X₈ es V; X₉ es F; X₁₀ es Y; X₁₁ es Y; X₁₂ es L; X₁₃ es Y; X₁₄ es H; X₁₅ es A. En otro aspecto más, la cadena ligera comprende además secuencias estructurales de cadena ligera de región variable yuxtapuestas entre las HVR de acuerdo con la fórmula: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). En otro aspecto más, las secuencias estructurales se derivan de

15 secuencias estructurales consenso humanas. En otro aspecto más, las secuencias estructurales son una estructura consenso de kappa I de VL. En otro aspecto más, al menos una de las secuencias estructurales es la siguiente:

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

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

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

(i) la secuencia de HVR-H1 es GFTFSX₁SWIH; (SEQ ID NO:1)
 (ii) la secuencia de HVR-H2 es AWIX₂PYGGSX₃YYADSVKG (SEQ ID NO:2)
 (iii) la secuencia de HVR-H3 es RHWPGGFDY, y (SEQ ID NO:3)

25 b) la cadena ligera comprende una HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3, en la que además:

(i) la secuencia de HVR-L1 es RASQX₄X₅X₆TX₇X₈A (SEQ ID NO:8)
 (ii) la secuencia de HVR-L2 es SASX₉LX₁₀S; y (SEQ ID NO:9)
 (iii) la secuencia de HVR-L3 es QQX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄PX₁₅T; (SEQ ID NO:10)

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

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

40 En otro aspecto, la región variable de cadena pesada comprende una o más secuencias estructurales yuxtapuestas entre las HVR como: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4), y las regiones variables de cadena ligera comprenden una o más secuencias estructurales yuxtapuestas entre las HVR como: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). En otro aspecto más, las secuencias estructurales se derivan de secuencias estructurales consenso humanas. En otro aspecto más, las secuencias estructurales de la cadena pesada se derivan de una secuencia del subgrupo I, II o III de Kabat. En otro aspecto más, la secuencia estructural de la cadena pesada es una estructura consenso de subgrupo III de VH. En otro aspecto más, una o más de las secuencias estructurales de cadena pesada es la siguiente:

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

En otro aspecto más, las secuencias estructurales de la cadena ligera se derivan de una secuencia del subgrupo kappa I, II, III o IV de Kabat. En otro aspecto más, las secuencias estructurales de la cadena ligera son una estructura consenso de kappa I de VL. En otro aspecto más, una o más de las secuencias estructurales de cadena ligera es la siguiente:

5
 LC-FR1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIC (SEQ ID NO:11)
 LC-FR2 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)
 LC-FR3 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:13)
 LC-FR4 FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:14).

En otro aspecto específico más, el anticuerpo comprende además una región constante humana o murina. En otro aspecto más, la región constante humana se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4. En otro aspecto específico más, la región constante humana es IgG1. En otro aspecto más, la región constante murina se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3. En otro aspecto más, la región constante murina es IgG2A. En otro aspecto específico más, el anticuerpo tiene una función efectora reducida o minimizada. En otro aspecto específico más, la función efectora minimizada es el resultado de una "mutación de Fc sin efector" o aglucosilación. En otro modo de realización más, la mutación de Fc sin efector es una sustitución N297A o D265A / N297A en la región constante.

15
 En otro modo de realización más se proporciona un anticuerpo anti-PD-L1 que comprende una secuencia de región variable de cadena pesada y una de cadena ligera, en el que:

20
 a) la cadena pesada comprende además una secuencia de HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia con GFTFSDSWIH (SEQ ID NO:15), AWISPYGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:16) y RHWPGGFDY (SEQ ID NO:3), respectivamente, o

25
 b) la cadena ligera comprende además una secuencia de HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3 que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia con RASQDVSTAVA (SEQ ID NO:17), SASFLYS (SEQ ID NO:18) y QQYLYHPAT (SEQ ID NO:19), respectivamente.

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

30
 35
 HC-FR1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:4)
 HC-FR2 WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:5)
 HC-FR3 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:6)
 HC-FR4 WGQGLTVTUSA (SEQ ID NO:7).

40
 En otro aspecto más, las secuencias estructurales de la cadena ligera se derivan de una secuencia del subgrupo kappa I, II, III o IV de Kabat. En otro aspecto más, las secuencias estructurales de la cadena ligera son una estructura consenso de kappa I de VL. En otro aspecto más, una o más de las secuencias estructurales de cadena ligera es la siguiente:

LC-FR1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIC (SEQ ID NO:11)
 LC-FR2 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)
 LC-FR3 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:13)
 LC-FR4 FGQGTKVEIRR (SEQ ID NO:14).

45
 En otro aspecto específico más, el anticuerpo comprende además una región constante humana o murina. En otro aspecto más, la región constante humana se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4. En otro aspecto específico más, la región constante humana es IgG1. En otro aspecto más, la región constante murina se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3. En otro aspecto más, la región constante murina es IgG2A. En otro aspecto específico más, el anticuerpo tiene una función efectora reducida o minimizada. En otro aspecto específico más, la función efectora minimizada es el resultado de una "mutación de Fc sin efector" o aglucosilación. En otro modo de realización más, la mutación de Fc sin efector es una sustitución N297A o D265A / N297A en la región constante.

En otro aspecto más se proporciona un anticuerpo anti-PD-L1 aislado que comprende una secuencia de región

variable de cadena pesada y una de cadena ligera, en el que:

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

5 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAVWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGGQTLVTVSA (SEQ ID NO:20), o

(b) la secuencia de la cadena ligera tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia con la secuencia de la cadena ligera:

10 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASF
LYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGKVEIKR (SEQ ID NO:21).

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

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

En otro aspecto más, las secuencias estructurales de la cadena ligera se derivan de una secuencia del subgrupo kappa I, II, III o IV de Kabat. En otro aspecto más, las secuencias estructurales de la cadena ligera son una estructura consenso de kappa I de VL. En otro aspecto más, una o más de las secuencias estructurales de cadena ligera es la siguiente:

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

En otro aspecto específico más, el anticuerpo comprende además una región constante humana o murina. En otro aspecto más, la región constante humana se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4. En otro aspecto específico más, la región constante humana es IgG1. En otro aspecto más, la región constante murina se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3. En otro aspecto más, la región constante murina es IgG2A. En otro aspecto específico más, el anticuerpo tiene una función efectora reducida o minimizada. En otro aspecto específico más, la función efectora minimizada es el resultado de la producción en células procariotas. En otro aspecto específico más, la función efectora minimizada es el resultado de una "mutación de Fc sin efector" o aglucosilación. En otro modo de realización más, la mutación de Fc sin efector es una sustitución N297A o D265A / N297A en la región constante.

En otro modo de realización se proporciona un anticuerpo anti-PD-L1 aislado que comprende una secuencia de región variable de cadena pesada y una de cadena ligera, en el que:

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

45 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAVWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADT
SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGGQTLVTVSS (SEQ ID NO:24), o

(b) la secuencia de la cadena ligera tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia con la secuencia de la cadena ligera:

50 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGKVEIKR (SEQ ID NO:21).

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

secuencias estructurales consenso humanas. En otro aspecto, las secuencias estructurales de la cadena pesada se derivan de una secuencia del subgrupo I, II o III de Kabat. En otro aspecto más, la secuencia estructural de la cadena pesada es una estructura consenso de subgrupo III de VH. En otro aspecto más, una o más de las secuencias estructurales de cadena pesada es la siguiente:

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

En otro aspecto más, las secuencias estructurales de la cadena ligera se derivan de una secuencia del subgrupo kappa I, II, III o IV de Kabat. En otro aspecto más, las secuencias estructurales de la cadena ligera son una estructura consenso de kappa I de VL. En otro aspecto más, una o más de las secuencias estructurales de cadena ligera es la siguiente:

- 10
- | | | |
|--------|---------------------------------|-----------------|
| LC-FR1 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC | (SEQ ID NO:11) |
| LC-FR2 | WYQQKPGKAPKLLIY | (SEQ ID NO:12) |
| LC-FR3 | GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC | (SEQ ID NO:13) |
| LC-FR4 | FGQGTRVEIRR | (SEQ ID NO:14). |

En otro aspecto específico más, el anticuerpo comprende además una región constante humana o murina. En otro aspecto más, la región constante humana se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4. En otro aspecto específico más, la región constante humana es IgG1. En otro aspecto más, la región constante murina se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3. En otro aspecto más, la región constante murina es IgG2A. En otro aspecto específico más, el anticuerpo tiene una función efectora reducida o minimizada. En otro aspecto específico más, la función efectora minimizada es el resultado de la producción en células procariotas. En otro aspecto específico más, la función efectora minimizada es el resultado de una "mutación de Fc sin efector" o aglucosilación. En otro modo de realización más, la mutación de Fc sin efector es una sustitución N297A o D265A / N297A en la región constante.

En otro modo de realización más, el anticuerpo anti-PD-1 es MPDL3280A. En otro modo de realización más se proporciona un anticuerpo anti-PD-1 aislado que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:24 y/o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:25. En otro modo de realización más se proporciona un anticuerpo anti-PD-1 aislado que comprende una secuencia de cadena pesada y/o cadena ligera, en el que:

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

```
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWRQAPGKGLEWVAVWISPYGGST
YYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDFYWGQGLVTV
VSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTT
LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:26), o
```

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

```
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTL
TTLTKADYFEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:27).
```

En otro modo de realización más, la invención proporciona composiciones que comprenden cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1 descritos previamente en combinación con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

5 En otro modo de realización más se proporciona un ácido nucleico aislado que codifica una secuencia de región variable de cadena ligera o una de cadena pesada de un anticuerpo anti-PD-L1, en el que:

10 (a) la cadena pesada comprende además una secuencia de HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia con GFTFSDSWIH (SEQ ID NO:15), AWISPYGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:16) y RHWPGGFDY (SEQ ID NO:3), respectivamente, y

15 (b) la cadena ligera comprende además una secuencia de HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3 que tiene al menos un 85 % de identidad de secuencia con RASQDVSTAVA (SEQ ID NO:17), SASFLYS (SEQ ID NO:18) y QQYLYHPAT (SEQ ID NO:19), respectivamente.

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

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

30 En otro aspecto más, las secuencias estructurales de la cadena ligera se derivan de una secuencia del subgrupo kappa I, II, III o IV de Kabat. En otro aspecto más, las secuencias estructurales de la cadena ligera son una estructura consenso de kappa I de VL. En otro aspecto más, una o más de las secuencias estructurales de cadena ligera es la siguiente:

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

35 En otro aspecto específico más, el anticuerpo descrito en el presente documento (tal como un anticuerpo anti-PD-1, un anticuerpo anti-PD-L1 o un anticuerpo anti-PD-L2) comprende además una región constante humana o murina. En otro aspecto más, la región constante humana se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. En otro aspecto específico más, la región constante humana es IgG1. En otro aspecto más, la región constante murina se selecciona del grupo que consiste en IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3. En otro aspecto más, la región constante murina es IgG2A. En otro aspecto específico más, el anticuerpo tiene una función efectora reducida o minimizada. En otro aspecto específico más, la función efectora minimizada es el resultado de la producción en células procariontas. En otro aspecto específico más, la función efectora minimizada es el resultado de una "mutación de Fc sin efector" o aglucosilación. En otro aspecto más, la mutación de Fc sin efector es una sustitución N297A o D265A / N297A en la región constante.

45 En otro aspecto más, en el presente documento se proporcionan ácidos nucleicos que codifican cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento. En algunos modos de realización, el ácido nucleico comprende además un vector adecuado para la expresión del ácido nucleico que codifica cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1, anti-PD-1 o anti-PD-L2 descritos previamente. En otro aspecto específico más, el vector comprende además una célula huésped adecuada para la expresión del ácido nucleico. En otro aspecto específico más, la célula huésped es una célula eucariota o una célula procarionta. En otro aspecto específico más, la célula eucariota es una célula de mamífero, tal como la de ovario de hámster chino (CHO).

55 El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se puede preparar usando procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante un procedimiento que comprende cultivar una célula huésped que contiene ácido nucleico que codifica cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1, anti-PD-1 o anti-PD-L2 o fragmento de unión a antígeno descritos previamente en una forma adecuada para la expresión, en condiciones adecuadas para producir dicho anticuerpo o fragmento, y recuperar el anticuerpo o fragmento.

En otro aspecto adicional, la invención proporciona una composición que comprende un anticuerpo anti-PD-L1, un anticuerpo anti-PD-1 o un anticuerpo anti-PD-L2 o un fragmento de unión a antígeno del mismo como se proporciona en el presente documento y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-PD-L1, anti-PD-1 o anti-PD-L2 o el fragmento de unión a antígeno del mismo administrado al individuo es una composición que comprende uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Se puede usar cualquiera de los vehículos farmacéuticamente aceptables descritos en el presente documento o conocidos en la técnica.

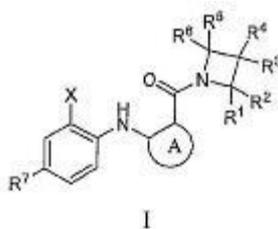
Inhibidores de MEK

La invención proporciona aspectos para tratar el cáncer o ralentizar la progresión del cáncer en un individuo, que comprenden administrar una cantidad eficaz de un antagonista de la vía de PD-1 y un inhibidor de MEK. Se pretende cualquier inhibidor de MEK conocido, tal como los compuestos inhibidores de MEK descritos en las solicitudes de patente PCT WO 03/077914 A1, WO 2005/121142 A1, WO 2007/044515 A1, WO 2008/024725 A1 y WO 2009/085983 A1. El inhibidor de MEK administrado puede estar en una composición o formulación farmacéutica. En algunos modos de realización, la composición o formulación farmacéutica comprende uno o más inhibidores de MEK descritos en el presente documento y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es un inhibidor competitivo de MEK. En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es más selectivo frente a una mutación activadora de KRAS. En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es un inhibidor alostérico de MEK. En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es más selectivo frente a una mutación activadora de BRAF (por ejemplo, mutación V600E de BRAF). En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK se une e inhibe la actividad de MEK1 y/o MEK2 (tal como MEK1 humana y/o MEK2 humana).

En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en GDC-0973, G-38963, G02443714 (también conocido como "AS703206"), G02442104 (también conocido como "GSK-1120212") y G00039805 (también conocido como "AZD-6244"), o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es un compuesto de fórmula (I),



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que A, X, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ son como se definen en el Grupo A, Grupo B, Grupo C o Grupo D:

Grupo A:

A es arileno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de R¹⁰, R¹², R¹⁴, R¹⁶ y R¹⁹ en el que R¹⁰, R¹², R¹⁴ y R¹⁶ son independientemente hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, halo, haloalcoxi, hidroxilo, alcoxi, amino, alquilamino, dialquilamino, haloalquilo, -NHS(O)₂R⁸, -CN, -C(O)R⁸, -C(O)OR⁸, -C(O)NR⁸R⁸ y -NR⁸C(O)R⁸ y en el que R¹⁹ es hidrógeno, alquilo o alquenilo;

X es alquilo, halo, haloalquilo o haloalcoxi;

R¹, R², R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son independientemente hidrógeno, halo, nitro, -NR⁸R⁸, -OR⁸, -NHS(O)₂R⁸, -CN, -S(O)_mR⁸, -S(O)₂NR⁸R⁸, -C(O)R⁸, -C(O)OR⁸, -C(O)NR⁸R⁸, -NR⁸C(O)OR⁸, -NR⁸C(O)NR⁸R⁸, -NR⁸C(O)OR⁸, -NR⁸C(O)R⁸, -CH₂N(R²⁵)(NR^{25a}R^{25b}), -CH₂NR²⁵C(=NH)(NR^{25a}R^{25b}), -CH₂NR²⁵C(=NH)(N(R^{25a})(NO₂)), -CH₂NR²⁵C(=NH)(N(R^{25a})(CN)), -CH₂NR²⁵C(=NH)(R²⁵), -CH₂NR²⁵C(NR^{25a}R^{25b})=CH(NO₂), alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroarilo o heterocicloalquilo; en el que el alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroarilo y heterocicloalquilo están opcionalmente sustituidos independientemente con uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete grupos seleccionados independientemente de halo, alquilo, haloalquilo, nitro, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, -OR⁸, -NR⁸R⁸, -NR⁸S(O)₂R⁸, -CN, -S(O)_mR⁸, -C(O)R⁸, -C(O)OR⁸, -C(O)NR⁸R⁸, -NR⁸C(O)NR⁸R⁸, -NR⁸C(O)OR⁸ y -NR⁸C(O)R⁸; o uno de R¹ y R² junto con el carbono al que están unidos, R³ y R⁴ junto con el carbono al que están unidos, y R⁵ y R⁶ junto con el carbono al que están unidos forman

C(O) o C(=NOH);

m es 0, 1 o 2;

5 R^7 es hidrógeno, halo o alquilo;

10 cada R^8 , R^8 y $R^{8'}$ se selecciona independientemente de hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido, alquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, heteroarilo y heterocicloalquilo; en el que el alquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, heteroarilo y heterocicloalquilo están opcionalmente sustituidos independientemente con uno, dos, tres, cuatro o cinco grupos seleccionados independientemente de alquilo, halo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi opcionalmente sustituido, alcoxialquilo, haloalquilo, carboxilo, alcoxycarbonilo, alquenoiloxycarbonilo, cicloalquilo opcionalmente sustituido, cicloalquiloiloxycarbonilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, ariloiloxycarbonilo opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente sustituido, arilalquiloiloxycarbonilo opcionalmente sustituido, arilalquiloiloxycarbonilo opcionalmente sustituido, nitro, ciano, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $-S(O)R^{31}$ (en el que n es 0, 1 o 2 y R^{31} es alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido), $-NR^{34}SO_2R^{34a}$ (en el que R^{34} es hidrógeno o alquilo y R^{34a} es alquilo, alqueno, cicloalquilo, arilo, heteroarilo y heterocicloalquilo), $-SO_2NR^{35}R^{35a}$ (en el que R^{35} es hidrógeno o alquilo y R^{35a} es alquilo, alqueno, cicloalquilo, arilo, heteroarilo y heterocicloalquilo), $-NR^{32}C(O)R^{32a}$ (en el que R^{32} es hidrógeno o alquilo y R^{32a} es alquilo, alqueno, alcoxilo o cicloalquilo), $-NR^{30}R^{30'}$ (en el que R^{30} y $R^{30'}$ son independientemente hidrógeno, alquilo o hidroxialquilo) y $-C(O)NR^{33}R^{33a}$ (en el que R^{33} es hidrógeno o alquilo y R^{33a} es alquilo, alqueno, alquino o cicloalquilo); y

25 cada R^9 se selecciona independientemente de alquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, heteroarilo y heterocicloalquilo; en el que el alquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, heteroarilo y heterocicloalquilo están opcionalmente sustituidos independientemente con uno, dos, tres, cuatro o cinco grupos seleccionados de halo, hidroxilo, alquilo, haloalquilo, haloalcoxilo, amino, alquilamino y dialquilamino;

Grupo B:

30 A es heteroarileno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de R^{10} , R^{12} , R^{14} , R^{16} y R^{19} en el que R^{10} , R^{12} , R^{14} y R^{16} son independientemente hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, halo, haloalcoxilo, hidroxilo, alcoxi, ciano, amino, alquilamino, dialquilamino, haloalquilo, alquilsulfonilamino, alquilcarbonilo, alquenoilcarbonilo, alcoxycarbonilo, alquenoiloxycarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo o alquilcarbonilamino; en el que R^{19} es hidrógeno, alquilo o alqueno; y en el que cada alquilo y alqueno, ya sea solos o como parte de otro grupo dentro de R^{10} , R^{12} , R^{14} , R^{16} y R^{19} , está opcionalmente sustituido independientemente con halo, hidroxilo o alcoxi;

40 X es alquilo, halo, haloalquilo o haloalcoxilo;

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

55 m es 0, 1 o 2;

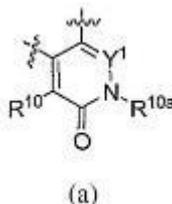
60 R^7 es hidrógeno, halo o alquilo; y

65 cada R^8 , R^8 y $R^{8'}$ se selecciona independientemente de hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido, alquilo, haloalquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, heteroarilo y heterocicloalquilo, en el que el alquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, heteroarilo y heterocicloalquilo están opcionalmente sustituidos independientemente con uno, dos, tres, cuatro o cinco grupos seleccionados independientemente de alquilo, halo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi opcionalmente sustituido, alcoxialquilo, haloalquilo, carboxilo, carboxilo éster, nitro, ciano, $-S(O)_nR^{31}$ (en el que n es 0, 1 o 2 y R^{31} es alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido), $-NR^{36}S(O)_2R^{36a}$ (en el que R^{36} es hidrógeno o alqueno y R^{36a} es alquilo, alqueno, arilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido),

5 $-S(O)_2NR^{37}R^{37a}$ (en el que R^{37} es hidrógeno, alquilo o alqueno y R^{37a} es alquilo, alqueno, arilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido), cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente sustituido, ariloxi opcionalmente sustituido, arilalquiloxi opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $-NHC(O)R^{32}$ (en el que R^{32} es alquilo, alqueno, alcoxi o cicloalquilo) y $-NR^{30}R^{30'}$ (en el que R^{30} y $R^{30'}$ son independientemente hidrógeno, alquilo o hidroxialquilo) y $-C(O)NHR^{33}$ (en el que R^{33} es alquilo, alqueno, alquino o cicloalquilo);

10 Grupo C:

A es



15 en el que R^{10} es hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, halo, haloalcoxi, hidroxilo, alcoxi, amino, alquilamino, dialquilamino, haloalquilo, $-NHS(O)_2R^8$, $-CN$, $-C(O)R^8$, $-C(O)OR^8$, $-C(O)NR^8R^8$ y $-NR^8C(O)R^8$;

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

20 Y^1 es $=CH-$ o $=N-$;

X es alquilo, halo, haloalquilo o haloalcoxi;

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

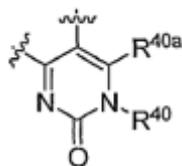
35 m es 1 o 2;

40 R^7 es hidrógeno, halo o alquilo; y

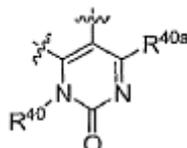
45 cada R^8, R^8 y $R^{8'}$ se selecciona independientemente de hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido, alquilo, haloalquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, heteroarilo y heterocicloalquilo, en el que el alquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, heteroarilo y heterocicloalquilo están opcionalmente sustituidos independientemente con uno, dos, tres, cuatro o cinco grupos seleccionados independientemente de alquilo, halo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi opcionalmente sustituido, alcoxialquilo, haloalquilo, carboxilo, carboxilo éster, nitro, ciano, $-S(O)_nR^{31}$ (en el que n es 0, 1 o 2 y R^{31} es alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido), $-NR^{36}S(O)_2R^{36a}$ (en el que R^{36} es hidrógeno, alquilo o alqueno y R^{36a} es alquilo, alqueno, arilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido), $-S(O)_2NR^{37}R^{37a}$ (en el que R^{37} es hidrógeno, alquilo o alqueno y R^{37a} es alquilo, alqueno, arilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido), cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente sustituido, ariloxi opcionalmente sustituido, arilalquiloxi opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $-NHC(O)R^{32}$ (en el que R^{32} es alquilo, alqueno, alcoxi o cicloalquilo) y $-NR^{30}R^{30'}$ (en el que R^{30} y $R^{30'}$ son independientemente hidrógeno, alquilo o hidroxialquilo) y $-C(O)NHR^{33}$ (en el que R^{33} es alquilo, alqueno, alquino o cicloalquilo); o

Grupo D:

A es



(b) o



(c)

5

R⁴⁰ y R^{40a} son independientemente hidrógeno o alquilo;

X es alquilo, halo, haloalquilo o haloalcoxi;

10

R¹, R², R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son independientemente hidrógeno, halo, nitro, -NR⁸R⁸, -OR⁸, -NHS(O)₂R⁸, -CN, -S(O)_mR⁸, -S(O)₂NR⁸R⁸, -C(O)R⁸, -C(O)OR⁸, -C(O)NR⁸R⁸, -NR⁸C(O)OR⁸, -NR⁸C(O)NR⁸R⁸, -NR⁸C(O)OR⁸, -NR⁸C(O)R⁸, -CH₂N(R²⁵)(NR^{25a}R^{25b}), -CH₂NR²⁵C(=NH)(NR^{25a}R^{25b}), -CH₂NR²⁵C(=NH)(N(R^{25a})(NO₂)), -CH₂NR²⁵C(=NH)(R²⁵), -CH₂NR²⁵C(NR^{25a}R^{25b})=CH(NO₂), alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroarilo o heterocicloalquilo, en el que el alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroarilo y heterocicloalquilo están opcionalmente sustituidos independientemente con uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete grupos seleccionados independientemente de halo, alquilo, haloalquilo, nitro, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, -OR⁸, -NR⁸R⁸, -NR⁸S(O)₂R⁹, -CN, -S(O)_mR⁹, -C(O)R⁸, -C(O)OR⁸, -C(O)NR⁸R⁸, -NR⁸C(O)NR⁸R⁸, -NR⁸C(O)OR⁸ y -NR⁸C(O)R⁸; o uno de R¹ y R² junto con el carbono al que están unidos, R³ y R⁴ junto con el carbono al que están unidos, y R⁵ y R⁶ junto con el carbono al que están unidos forman C(O) o C(NOH);

15

20

m es 1 o 2;

25

R⁷ es hidrógeno, halo o alquilo; y

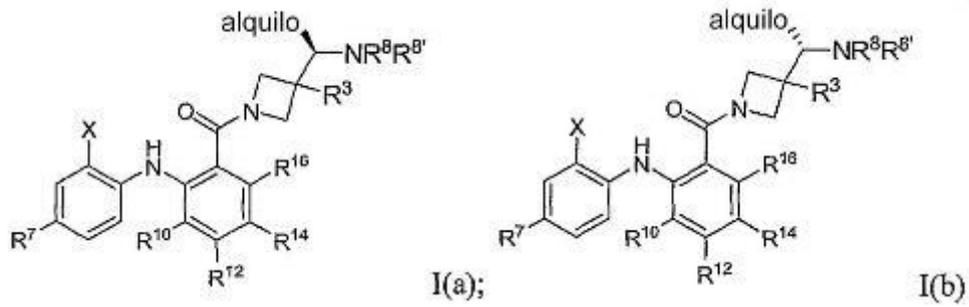
30

R⁸, R⁸ y R⁸ se seleccionan independientemente de hidrógeno, hidroxilo, alcoxi opcionalmente sustituido, alquilo, haloalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, heteroarilo y heterocicloalquilo, en el que el alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, heteroarilo y heterocicloalquilo están opcionalmente sustituidos independientemente con uno, dos, tres, cuatro o cinco grupos seleccionados independientemente de alquilo, halo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi opcionalmente sustituido, alcoxialquilo, haloalquilo, carboxi, carboxi éster, nitro, ciano, -S(O)_nR³¹ (en el que n es 0, 1 o 2 y R³¹ es alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido), -NR³⁶S(O)₂R^{36a} (en el que R³⁶ es hidrógeno, alquilo o alquenilo y R^{36a} es alquilo, alquenilo, arilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido), -S(O)₂NR³⁷R^{37a} (en el que R³⁷ es hidrógeno, alquilo o alquenilo y R^{37a} es alquilo, alquenilo, arilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido), cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente sustituido, ariloxi opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, -NHC(O)R³² (en el que R³² es alquilo, alquenilo, alcoxi o cicloalquilo) y -NR³⁰R³⁰ (en el que R³⁰ y R³⁰ son independientemente hidrógeno, alquilo o hidroxialquilo) y -C(O)NHR³³ (en el que R³³ es alquilo, alquenilo, alquinilo o cicloalquilo).

40

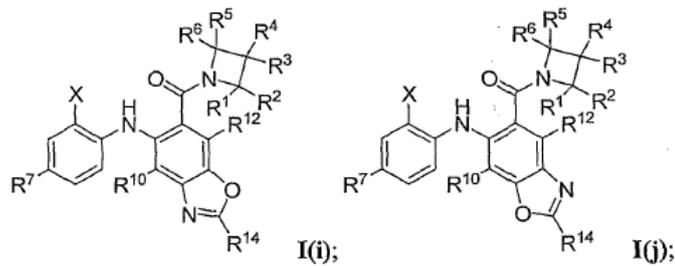
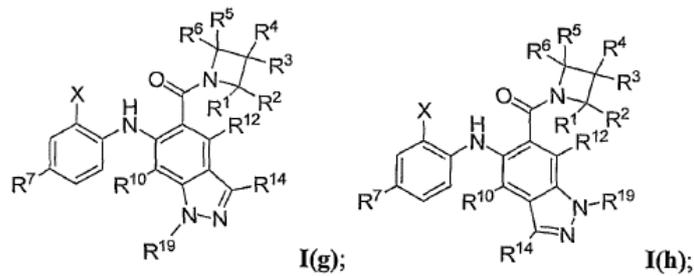
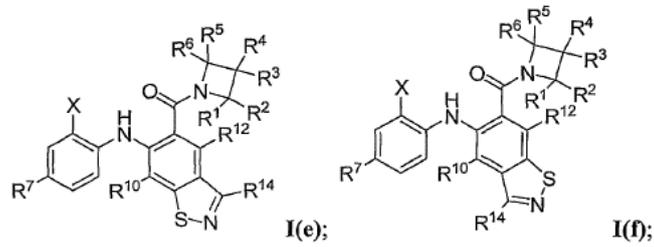
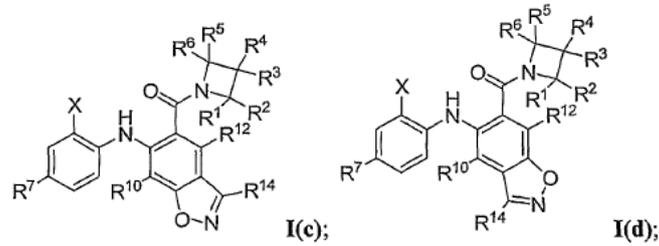
45

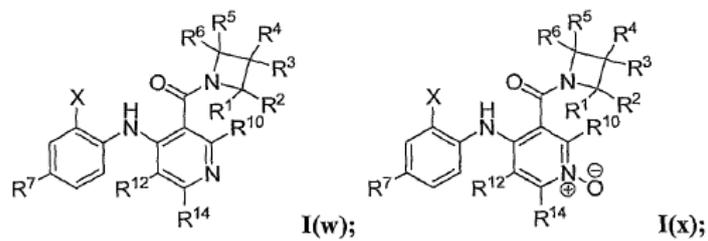
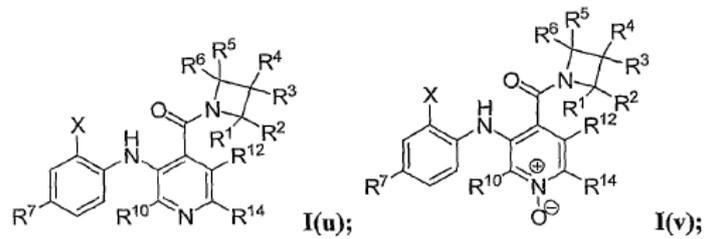
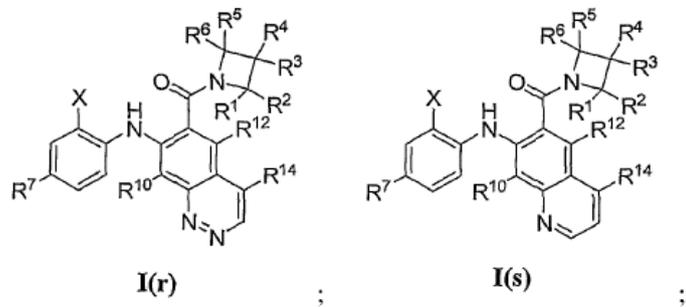
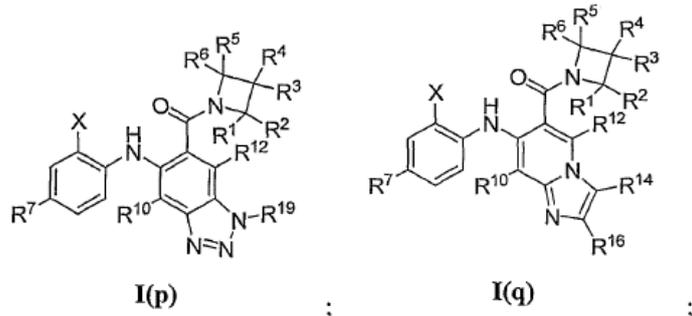
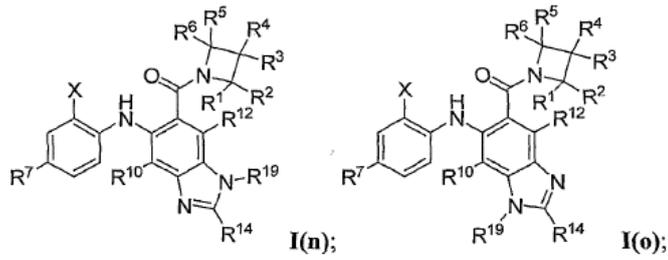
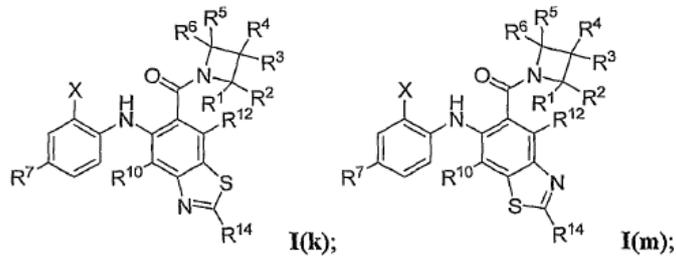
En algunas variaciones, el compuesto inhibidor de MEK de fórmula (I) es un compuesto del grupo A, que tiene la fórmula I(a) o I(b):

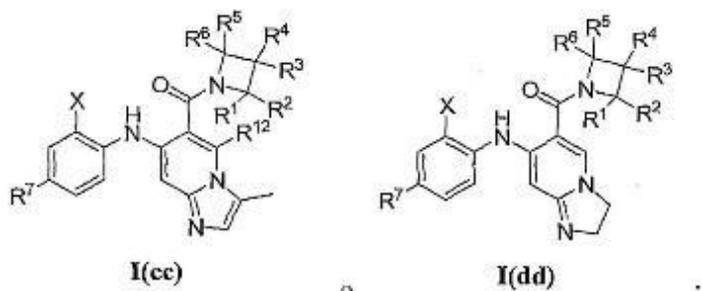


o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que las variables son como se definen para la fórmula (I), grupo A, o como se definen en el documento WO 2007/044515 A1.

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

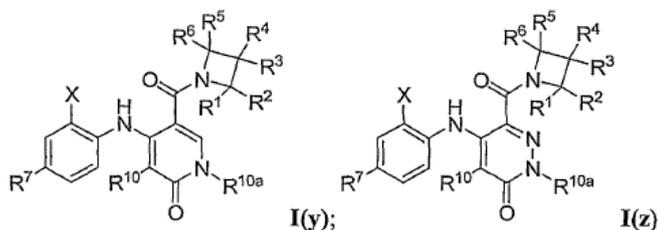






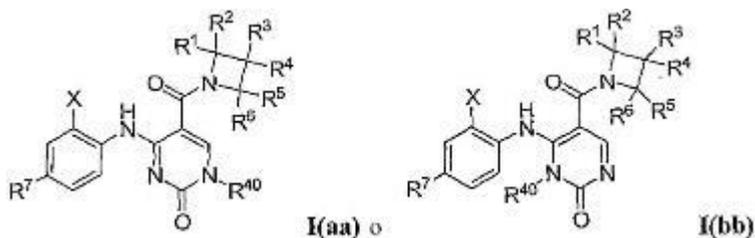
5 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que las variables son como se definen para la fórmula (I), grupo B, o como se definen en el documento WO 2007/044515 A1.

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



10 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que las variables son como se definen para la fórmula (I), grupo C, o como se definen en el documento WO 2007/044515 A1.

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



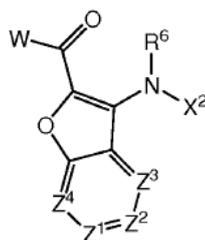
20 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que las variables son como se definen para la fórmula (I), grupo D, o como se definen en el documento WO 2007/044515 A1.

25 En algunos modos de realización, el compuesto inhibidor de MEK de fórmula (I) es un compuesto seleccionado de los compuestos n.º 1-362 enumerados en el documento WO 2007/044515 A1, tabla 1 en las páginas 71-144 (en el presente documento denominados colectivamente "especies de fórmula I") o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 También abarca cualquiera de las variaciones de fórmula (I) descritas en el documento WO 2007/044515 A1. Los compuestos de fórmula (I) o cualquiera de las variaciones de los mismos se pueden sintetizar usando procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, los procedimientos sintéticos descritos en el documento WO 2007/044515 A1.

35 A menos que se defina lo contrario en el presente documento, se debe entender que los términos usados para describir los compuestos de fórmula (I) tienen el mismo significado que se define en el documento WO 2007/044515 A1.

En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es un compuesto de fórmula (II):



(II)

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

5 Z^1 es CR^1 o N;

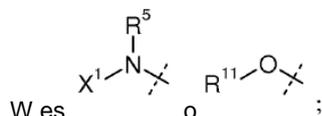
Z^2 es CR^2 o N;

Z^3 es CR^3 o N;

10 Z^4 es CR^4 o N;

en la que uno o dos de Z^1 , Z^2 , Z^3 y Z^4 son N;

15 R^1 , R^2 , R^3 y R^4 se seleccionan independientemente de H, halo, CN, CF_3 , $-OCF_3$, $-NO_2$, $-(CR^{14}R^{15})_n C(=Y)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n C(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n C(=Y)NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n SR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{12}C(=Y)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{12}C(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{13}C(=Y)NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{12}SO_2R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OC(=Y)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OC(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OC(=Y)NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OS(O)_2(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_n OP(=Y)(OR^{11})(OR^{12})$, $-(CR^{14}R^{15})_n OP(OR^{11})(OR^{12})$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)_2R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)_2NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)_2(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_n SC(=Y)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n SC(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n SC(=Y)NR^{11}R^{12}$, ALQUILO C_1-C_{12} , alqueno C_2-C_8 , alquino C_2-C_8 , carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo;



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

30 X^1 se selecciona de R^{11} , $-OR^{11}$, $-NR^{11}R^{12}$, $-S(O)R^{11}$ y $-S(O)_2R^{11}$; cuando X^1 es R^{11} o $-R^{11}$ u $-OR^{11}$ de X^1 y $-R^5$ se cogen opcionalmente junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo saturado o insaturado de 4-7 miembros que tiene 0-2 heteroátomos adicionales seleccionados de O, S y N, en el que dicho anillo está opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, CF_3 , $-OCF_3$, $-NO_2$, oxo, $-Si$ (alquilo C_1-C_6), $-(CR^{19}R^{20})_n C(=Y)R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n C(=Y)OR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n C(=Y)NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_n NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_n OR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n SR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n NR^{16}C(=Y)R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_n NR^{16}C(=Y)OR^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_n NR^{16}C(=Y)NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_n NR^{17}SO_2R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n OC(=Y)R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n OC(=Y)OR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n OP(=Y)NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_n OS(O)_2(OR^{16})$, $-(CR^{19}R^{20})_n OP(=Y)(OR^{16})(OR^{17})$, $-(CR^{19}R^{20})_n OP(OR^{16})(OR^{17})$, $-(CR^{19}R^{20})_n S(O)R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n S(O)_2R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n S(O)_2NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_n S(O)(OR^{16})$, $-(CR^{19}R^{20})_n S(O)_2(OR^{16})$, $-(CR^{19}R^{20})_n SC(=Y)R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n SC(=Y)OR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n SC(=Y)NR^{16}R^{17}$ y R^{21} ;

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

R^{11} , R^{12} y R^{13} son independientemente H, alquilo C_1-C_{12} , alqueno C_2-C_8 , alquino C_2-C_8 , carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo,

45 o R^{11} y R^{12} junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo saturado, insaturado o aromático de 3-8 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados de O, S y N, en el que dicho anillo está opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, CF_3 , $-OCF_3$, $-NO_2$, alquilo C_1-C_6 , $-OH$, $-SH$, $-O$ (alquilo C_1-C_6), $-S$ (alquilo C_1-C_6), $-NH_2$, $-NH$ (ALQUILO C_1-C_6), $-N$ (ALQUILO C_1-C_6) $_2$, $-SO_2$ (alquilo C_1-C_6), $-CO_2H$, $-CO_2$ (alquilo C_1-C_6), $-C(O)NH_2$, $-C(O)NH$ (alquilo C_1-C_6), $-C(O)N$ (alquilo C_1-C_6) $_2$, $-N$ (alquilo C_1-C_6) $C(O)$ (alquilo C_1-C_6), $-NHC(O)$ (alquilo C_1-C_6), $-NHSO_2$ (ALQUILO C_1-C_6), $-N$ (alquilo C_1-C_6) SO_2 (alquilo C_1-C_6), $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH$ (alquilo C_1-C_6), $-SO_2N$ (alquilo C_1-C_6) $_2$ $-OC(O)NH_2$, $-OC(O)NH$ (alquilo C_1-C_6), $-OC(O)N$ (alquilo C_1-C_6) $_2$ $-OC(O)O$ (alquilo C_1-C_6), $-NHC(O)NH$ (alquilo C_1-C_6), $-NHC(O)N$ (alquilo C_1-C_6), $-N$ (alquilo C_1-C_6) $C(O)NH$ (alquilo C_1-C_6), $-N$ (alquilo C_1-C_6) $C(O)N$ (alquilo C_1-C_6) $_2$ $-NHC(O)NH$ (alquilo C_1-C_6), $-NHC(O)N$ (alquilo C_1-C_6) $_2$,

-NHC(O)O(alquilo C₁-C₆) y -N(alquilo C₁-C₆)C(O)O(alquilo C₁-C₆);

R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente de H, alquilo C₁-C₁₂, arilo, carbociclilo, heterociclilo y heteroarilo;

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

Y es independientemente O, NR¹¹ o S;

10 en el que cada uno de dichos alquilo, alqueno, alquino, carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, X¹, X², R¹¹, R¹², R¹³, R¹⁴ y R¹⁵ está opcionalmente sustituido independientemente con uno o más grupos seleccionados independientemente de halo, CN, CF₃, -OCF₃, -NO₂, oxo, -Si(alquilo C₁-C₆), -(CR¹⁹R²⁰)_nC(=Y)R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nC(=Y)OR¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nC(=Y)NR¹⁶R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁶R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nOR¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nSR¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁶C(=Y)R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁶C(=Y)OR¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁶C(=Y)NR¹⁶R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁷SO₂R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nOC(=Y)R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nOC(=Y)OR¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nOC(=Y)NR¹⁶R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nOS(O)₂(OR¹⁶), -(CR¹⁹R²⁰)_nOP(=Y)(OR¹⁶)(OR¹⁷), -(CR¹⁹R²⁰)_nOP(OR¹⁶)(OR¹⁷), -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)₂R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)₂NR¹⁶R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)(OR¹⁶), -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)₂(OR¹⁶), -(CR¹⁹R²⁰)_nSC(=Y)R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nSC(=Y)OR¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nSC(=Y)NR¹⁶R¹⁷ y R²¹;

20 cada uno de R¹⁶, R¹⁷ y R¹⁸ es independientemente H, alquilo C₁-C₁₂, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, carbociclilo, heterociclilo, arilo o heteroarilo, en el que dicho alquilo, alqueno, alquino, carbociclilo, heterociclilo, arilo, o heteroarilo está opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de halo, oxo, CN, -OCF₃, CF₃, -NO₂, alquilo C₁-C₆, -OH, -SH, -O(alquilo C₁-C₆), -S(alquilo C₁-C₆), -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)₂, -SO₂(alquilo C₁-C₆), -CO₂H, -CO₂(alquilo C₁-C₆), -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)(alquilo C₁-C₆), -NHSO₂(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)SO₂(alquilo C₁-C₆), -SO₂NH₂, -SO₂NH(alquilo C₁-C₆), -SO₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)NH₂, -OC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -OC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)O(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)O(alquilo C₁-C₆) y -N(alquilo C₁-C₆)C(O)O(alquilo C₁-C₆);

30 o R¹⁶ y R¹⁷ junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo saturado, insaturado o aromático de 3-8 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados de O, S y N, en el que dicho anillo está opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, -OCF₃, CF₃, -NO₂, alquilo C₁-C₆, -OH, -SH, -O(alquilo C₁-C₆), -S(alquilo C₁-C₆), -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)₂, -SO₂(alquilo C₁-C₆), -CO₂H, -CO₂(alquilo C₁-C₆), -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)(alquilo C₁-C₆), -NHSO₂(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)SO₂(alquilo C₁-C₆), -SO₂NH₂, -SO₂NH(alquilo C₁-C₆), -SO₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)NH₂, -OC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -OC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)O(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)O(alquilo C₁-C₆) y -N(alquilo C₁-C₆)C(O)O(alquilo C₁-C₆);

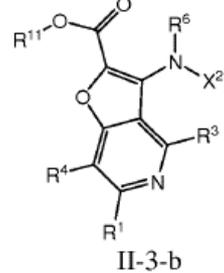
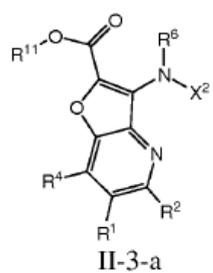
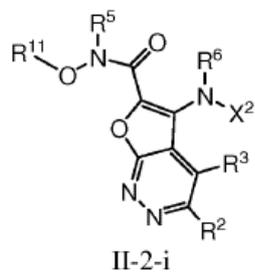
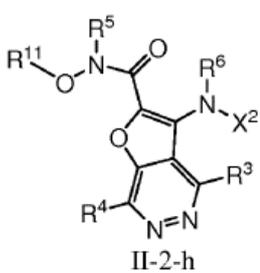
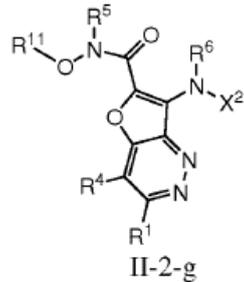
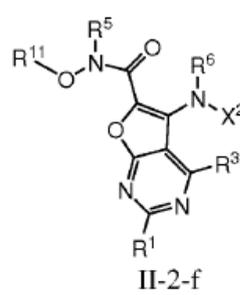
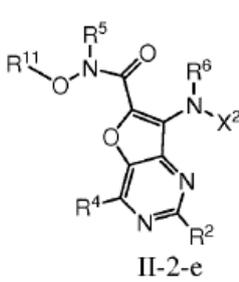
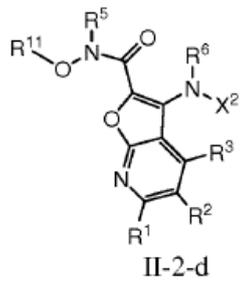
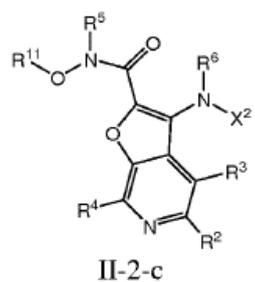
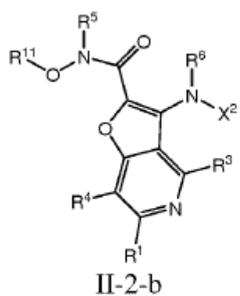
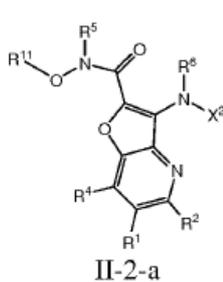
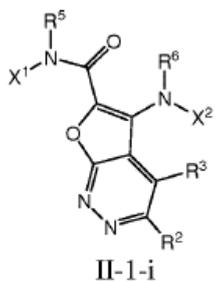
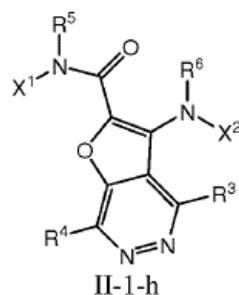
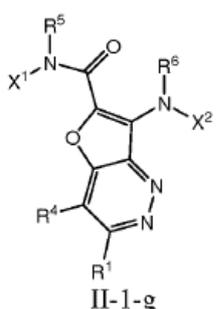
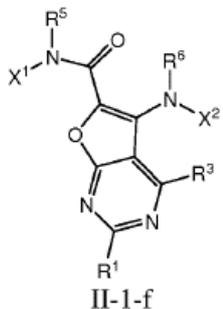
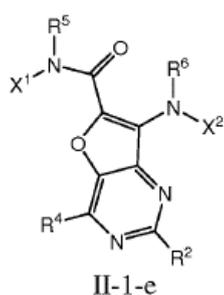
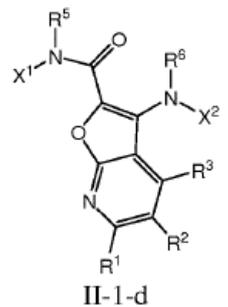
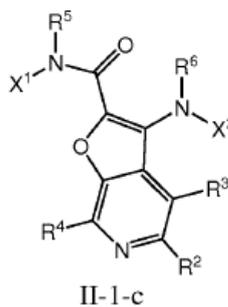
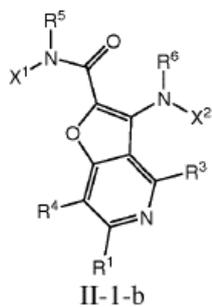
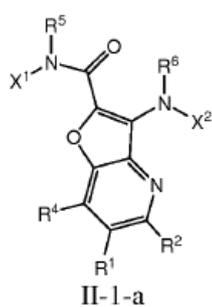
35 R¹⁹ y R²⁰ se seleccionan independientemente de H, alquilo C₁-C₁₂, -(CH₂)_n-arilo, -(CH₂)_n-carbociclilo, -(CH₂)_n-heterociclilo y -(CH₂)_n-heteroarilo;

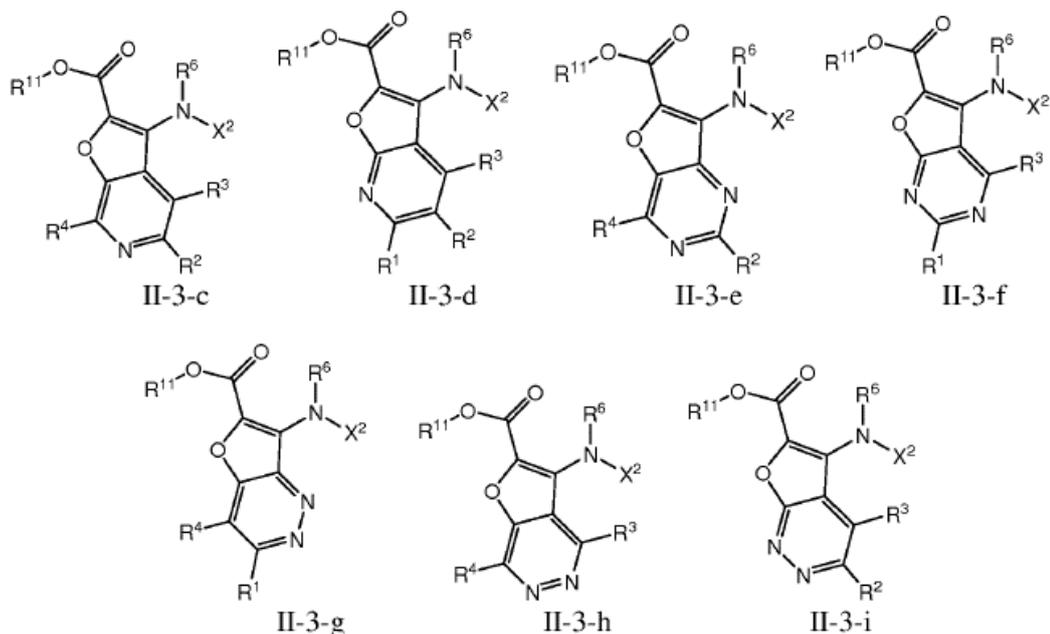
45 R²¹ es alquilo C₁-C₁₂, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, carbociclilo, heterociclilo, arilo o heteroarilo, en el que cada miembro de R²¹ está opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, -OCF₃, CF₃, -NO₂, alquilo C₁-C₆, -OH, -SH, -O(alquilo C₁-C₆), -S(alquilo C₁-C₆), -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)₂, -SO₂(alquilo C₁-C₆), -CO₂H, -CO₂(alquilo C₁-C₆), -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)(alquilo C₁-C₆), -NHSO₂(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)SO₂(alquilo C₁-C₆), -SO₂NH₂, -SO₂NH(alquilo C₁-C₆), -SO₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)NH₂, -OC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -OC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)O(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)O(alquilo C₁-C₆) y -N(alquilo C₁-C₆)C(O)O(alquilo C₁-C₆);

55 cada Y' es independientemente O, NR²² o S; y

R²² es H o alquilo C₁-C₁₂.

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



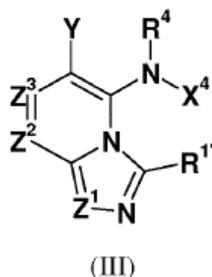


5 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que las variables son como se definen para la fórmula (II) o como se definen en el documento WO 2008/024725 A1.

10 En algunos modos de realización, el compuesto inhibidor de MEK de fórmula (II) es un compuesto seleccionado de los compuestos de los ejemplos 5-18, 20-102, 105-109, 111-118, 120-133, 136-149 y 151-160 en el documento WO 2008/024725 A1 (en el presente documento denominados colectivamente "especies de fórmula II") o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo. Estos compuestos mostraron una CI_{50} de menos de 10 μM en el ensayo descrito en el ejemplo 8a u 8b (ensayos de actividad MEK). La mayoría de estos compuestos mostraron una CI_{50} de menos de 5 μM . Véase la página 62 en el documento WO 2008/024725 A1.

15 También abarca los compuestos inhibidores de MEK (y/o solvatos y sales de los mismos) descritos en el documento WO 2008/024725 A1, por ejemplo, compuestos de aza-benzofurano de fórmula (II) (nombrados como fórmula I en el documento WO 2008/024725 A1, por ejemplo, en la página 3) y variaciones de los mismos como se describe en el documento WO 2008/024725 A1. Los compuestos de fórmula (II) se pueden sintetizar usando procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, los procedimientos sintéticos descritos en el documento WO 2008/024725 A1.

20 En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es un compuesto de fórmula (III):



25 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

Z^1 es CR^1 o N;

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

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

en la que cada R^A es independientemente H o alquilo C_1-C_3 ;

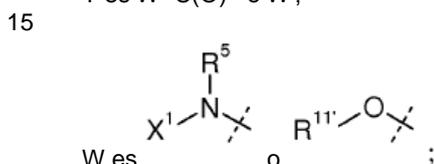
35 Z^2 es CR^2 o N;

Z³ es CR³ o N; siempre que solo uno de Z¹, Z² y Z³ pueda ser N al mismo tiempo;

R² y R³ se seleccionan independientemente de H, halo, CN, CF₃, -OCF₃, -NO₂, -(CR¹⁴R¹⁵)_nC(=Y)R¹¹,
 5 -(CR¹⁴R¹⁵)_nC(=Y)OR¹¹, -(CR¹⁴R¹⁵)_nC(=Y)NR¹¹R¹², -(CR¹⁴R¹⁵)_nNR¹¹R¹², -(CR¹⁴R¹⁵)_nOR¹¹, -(CR¹⁴R¹⁵)_nSR¹¹,
 -(CR¹⁴R¹⁵)_nNR¹²C(=Y)R¹¹, -(CR¹⁴R¹⁵)_nNR¹²C(=Y)OR¹¹, -(CR¹⁴R¹⁵)_nNR¹³C(=Y)NR¹¹R¹², -(CR¹⁴R¹⁵)_nNR¹²SO₂R¹¹,
 -(CR¹⁴R¹⁵)_nOC(=Y)R¹¹, -(CR¹⁴R¹⁵)_nOC(=Y)OR¹¹, -(CR¹⁴R¹⁵)_nOC(=Y)NR¹¹R¹², -(CR¹⁴R¹⁵)_nOS(O)₂(OR¹¹),
 -(CR¹⁴R¹⁵)_nOP(=Y)(OR¹¹)(OR¹²), -(CR¹⁴R¹⁵)_nOP(OR¹¹)(OR¹²), -(CR¹⁴R¹⁵)_nS(O)R_n, -(CR¹⁴R¹⁵)_nS(O)₂R¹¹,
 -(CR¹⁴R¹⁵)_nS(O)₂NR¹¹R¹², -(CR¹⁴R¹⁵)_nS(O)(OR¹¹), -(CR¹⁴R¹⁵)_nS(O)₂(OR¹¹), -(CR¹⁴R¹⁵)_nSC(=Y)R¹¹,
 10 -(CR¹⁴R¹⁵)_nSC(=Y)OR¹¹, -(CR¹⁴R¹⁵)_nSC(=Y)NR¹¹R¹², alquilo C₁-C₁₂, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, carbociclilo,
 heterociclilo, arilo y heteroarilo;

R⁴ es H, alquilo C₁-C₆ o carbociclilo C₃-C₄;

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



R⁵ es H o alquilo C₁-C₁₂;

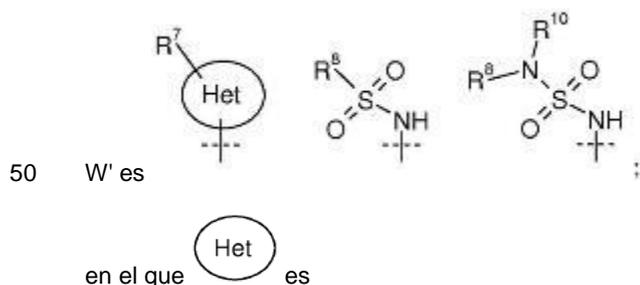
20 X¹ se selecciona de R¹¹ y -OR¹¹; cuando X¹ es R¹¹, X¹ se coge opcionalmente junto con R⁵ y el átomo de nitrógeno
 al que están unidos para formar un anillo saturado o insaturado de 4-7 miembros que tiene 0-2 heteroátomos
 adicionales seleccionados de O, S y N, en el que dicho anillo está opcionalmente sustituido con uno o más grupos
 seleccionados de halo, CN, CF₃, -OCF₃, -NO₂, oxo, -(CR¹⁹R²⁰)_nC(=Y)R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nC(=Y)OR¹⁶,
 25 -(CR¹⁹R²⁰)_nC(=Y)NR¹⁶R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁶R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nOR¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_n-SR¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁶C(=Y)R¹⁷,
 -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁶C(=Y)OR¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁸C(=Y)NR¹⁶R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nNR¹⁷SO₂R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nOC(=Y)R¹⁶,
 -(CR¹⁹R²⁰)_nOC(=Y)OR¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nOC(=Y)NR¹⁶R¹⁷, -(CR¹⁹R²⁰)_nOS(O)₂(OR¹⁶), -(CR¹⁹R²⁰)_nOP(=Y)(OR¹⁶)(OR¹⁷),
 -(CR¹⁹R²⁰)_nOP(OR¹⁶)(OR¹⁷), -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)₂R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)₂NR¹⁶R¹⁷,
 -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)(OR¹⁶), -(CR¹⁹R²⁰)_nS(O)₂(OR¹⁶), -(CR¹⁹R²⁰)_nSC(=Y)R¹⁶, -(CR¹⁹R²⁰)_nSC(=Y)OR¹⁶,
 30 -(CR¹⁹R²⁰)_nSC(=Y)NR¹⁶R¹⁷ y R²¹;

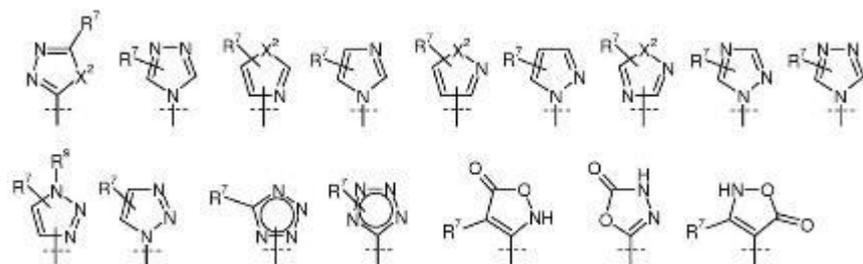
30 cada R¹¹ es independientemente H, alquilo C₁-C₁₂, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, carbociclilo, heterociclilo, arilo
 y heteroarilo;

35 R¹¹, R¹² y R¹³ son independientemente H, alquilo C₁-C₁₂, alquenilo C₂-C₈, alquinilo C₂-C₈, carbociclilo, heterociclilo,
 arilo y heteroarilo,

40 o R¹¹ y R¹² junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo saturado, insaturado o aromático de 3-8
 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados de O, S y N, en el que dicho anillo está opcionalmente
 sustituido con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, CF₃, -OCF₃, -NO₂, alquilo C₁-C₆, -OH, -SH,
 -O(alquilo C₁-C₆), -S(alquilo C₁-C₆), -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)₂, -SO₂(alquilo C₁-C₆), -CO₂H,
 -CO₂(alquilo C₁-C₆), -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)(alquilo
 C₁-C₆), -NHC(O)(alquilo C₁-C₆), -NHSO₂(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)SO₂(alquilo C₁-C₆), -SO₂NH₂,
 -SO₂NH(alquilo C₁-C₆), -SO₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)NH₂, -OC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -OC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂,
 -OC(O)O(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)NH(alquilo
 45 C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂,
 -NHC(O)O(alquilo C₁-C₆) y -N(alquilo C₁-C₆)C(O)O(alquilo C₁-C₆);

R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente de H, alquilo C₁-C₁₂, arilo, carbociclilo, heterociclilo y heteroarilo;





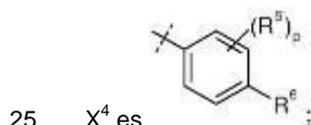
cada X^2 es independientemente O, S o NR^9 ;

- 5 cada R^7 se selecciona independientemente de H, halo, CN, CF_3 , $-OCF_3$, $-NO_2$, $-(CR^{14}R^{15})_n C(=Y)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n C(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n C(=Y)NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n SR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{12}C(=Y)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{12}C(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{13}C(=Y)NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n NR^{12}SO_2R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OC(=Y)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OC(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OC(=Y)NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n OS(O)_2(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_n OP(=Y)(OR^{11})(OR^{12})$, $-(CR^{14}R^{15})_n OP(OR^{11})(OR^{12})$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)_2R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)_2NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_n S(O)_2(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_n SC(=Y)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n SC(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n SC(=Y)NR^{11}R^{12}$, alquilo C_1-C_{12} , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 , carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo;

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

- 15 R^9 se selecciona de H, $-(CR^{14}R^{15})_n C(=Y)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n C(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_n C(=Y)NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_q NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_q OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_q SR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_q NR^{12}C(=Y)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_q NR^{12}C(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_q NR^{13}C(=Y)NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_q NR^{12}SO_2R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_q OC(=Y)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_q OC(=Y)OR^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_q OC(=Y)NR^{11}R^{12}$, $-(CR^{14}R^{15})_q OS(O)_2(OR^{11})$, $-(CR^{14}R^{15})_q OP(=Y)(OR^{11})(OR^{12})$, $-(CR^{14}R^{15})_q OP(OR^{11})(OR^{12})$, $-(CR^{14}R^{15})_q S(O)R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_q S(O)_2R^{11}$, $-(CR^{14}R^{15})_q S(O)_2NR^{11}R^{12}$, alquilo C_1-C_{12} , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 , carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo;

R^{10} es H, alquilo C_1-C_6 o carbociclilo C_3-C_{14} ;



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

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

p es 0, 1, 2 o 3;

- 35 n es 0, 1, 2 o 3;

q es 2 o 3;

- 40 en el que cada uno de dichos alquilo, alquenilo, alquinilo, carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15} y R^A está opcionalmente sustituido independientemente con uno o más grupos seleccionados independientemente de halo, CN, CF_3 , $-OCF_3$, $-NO_2$, oxo, $-Si(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-(CR^{19}R^{20})_n C(=Y)R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n C(=Y)OR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n C(=Y)NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_n NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_n OR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n SR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n NR^{16}C(=Y)R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_n NR^{16}C(=Y)OR^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_n NR^{16}C(=Y)NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_n NR^{17}SO_2R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n OC(=Y)R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n OC(=Y)OR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n OC(=Y)NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_n OS(O)_2(OR^{16})$, $-(CR^{19}R^{20})_n OP(=Y)(OR^{16})(OR^{17})$, $-(CR^{19}R^{20})_n OP(OR^{16})(OR^{17})$, $-(CR^{19}R^{20})_n S(O)R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n S(O)_2R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n S(O)_2NR^{16}R^{17}$, $-(CR^{19}R^{20})_n S(O)(OR^{16})$, $-(CR^{19}R^{20})_n S(O)_2(OR^{16})$, $-(CR^{19}R^{20})_n SC(=Y)R^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n SC(=Y)OR^{16}$, $-(CR^{19}R^{20})_n SC(=Y)NR^{16}R^{17}$ y R^{21} ;

- 50 cada uno de R^{16} , R^{17} y R^{18} es independientemente H, alquilo C_1-C_{12} , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 , carbociclilo, heterociclilo, arilo o heteroarilo, en el que dicho alquilo, alquenilo, alquinilo, carbociclilo, heterociclilo, arilo, o heteroarilo está opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, $-OCF_3$, CF_3 , $-NO_2$, alquilo C_1-C_6 , $-OH$, $-SH$, $-O(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-S(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NH_2$, $-NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-SO_2(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-CO_2H$, $-CO_2(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NH(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-C(O)N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$, $-N(\text{alquilo } C_1-C_6)C(O)(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHC(O)(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-NHSO_2(\text{alquilo } C_1-C_6)$, $-N(\text{alquilo } C_1-C_6)_2$;

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

o R¹⁶ y R¹⁷ junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo saturado, insaturado o aromático de 3-8 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados de O, S y N, en el que dicho anillo está opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, -OCF₃, CF₃, -NO₂, alquilo C₁-C₆, -OH, -SH, -O(alquilo C₁-C₆), -S(alquilo C₁-C₆), -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)₂, -SO₂(alquilo C₁-C₆), -CO₂H, -CO₂(alquilo C₁-C₆), -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)(alquilo C₁-C₆), -NHCO₂(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)SO₂(alquilo C₁-C₆), -SO₂NH₂, -SO₂NH(alquilo C₁-C₆), -SO₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)NH₂, -OC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -OC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)O(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆) y -N(alquilo C₁-C₆)C(O)O(alquilo C₁-C₆);

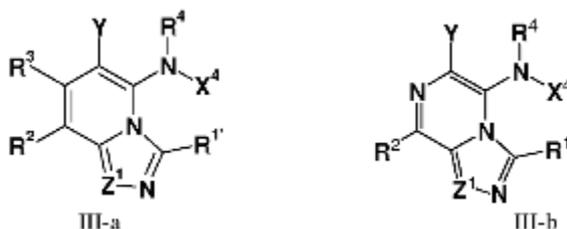
R¹⁹ y R²⁰ se seleccionan independientemente de H, alquilo C₁-C₁₂, -(CH₂)_n-arilo, -(CH₂)_n-carbociclilo, -(CH₂)_n-heterociclilo y -(CH₂)_n-heteroarilo;

R²¹ es alquilo C₁-C₁₂, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈, carbociclilo, heterociclilo, arilo o heteroarilo, en el que cada miembro de R²¹ está opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de halo, CN, -OCF₃, CF₃, -NO₂, alquilo C₁-C₆, -OH, -SH, -O(alquilo C₁-C₆), -S(alquilo C₁-C₆), -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)₂, -SO₂(alquilo C₁-C₆), -CO₂H, -CO₂(alquilo C₁-C₆), -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)(alquilo C₁-C₆), -NHCO₂(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)SO₂(alquilo C₁-C₆), -SO₂NH₂, -SO₂NH(alquilo C₁-C₆), -SO₂N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)NH₂, -OC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -OC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -OC(O)O(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -N(alquilo C₁-C₆)C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -N(alquilo C₁-C₆)C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)NH(alquilo C₁-C₆), -NHC(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -NHC(O)O(alquilo C₁-C₆) y -N(alquilo C₁-C₆)C(O)O(alquilo C₁-C₆);

cada Y' es independientemente O, NR²² o S; y

R²² es H o alquilo C₁-C₁₂.

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



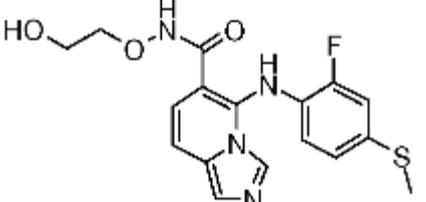
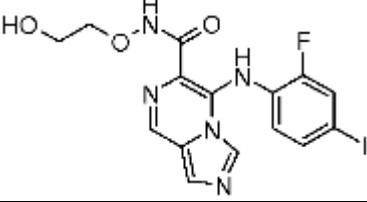
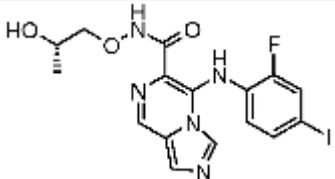
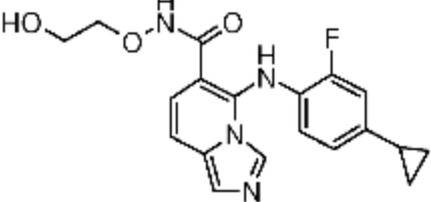
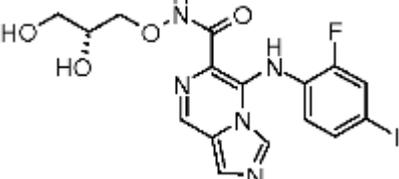
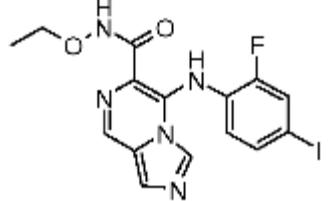
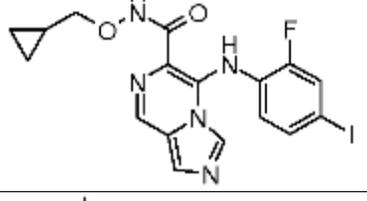
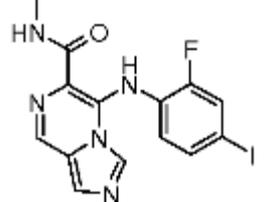
o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que las variables son como se definen para la fórmula (III) o como se definen en el documento WO 2009/085983 A1.

En algunos modos de realización, el compuesto inhibidor de MEK de fórmula (III) es un compuesto seleccionado de los compuestos enumerados en la tabla 1, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Tabla 1

Compuesto n.º	Nombre químico	Estructura
(III)-5	(2-Hidroxietoxi)-amida del ácido 5-(2-fluoro-4-yodofenilamino)-imidazo[1,5-a]piridin-6-carboxílico	

Compuesto n.º	Nombre químico	Estructura
(III)-6	((R)-2,3-Dihidroxi-propoxi)-amida del ácido 5-(2-fluoro-4-yodo-fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridin-6-carboxílico	
(III)-7	((S)-2-Hidroxi-propoxi)-amida del ácido 5-(2-fluoro-4-yodo-fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridin-6-carboxílico	
(III)-8	(2-Hidroxi-etoxi)-amida del ácido 5-(4-bromo-2-fluorofenilamino)-imidazo[1,5-a]piridin-6-carboxílico	
(III)-9	((S)-2-Hidroxi-propoxi)-amida del ácido 5-(4-bromo-2-fluoro-fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridin-6-carboxílico	
(III)-10	((S)-2-Hidroxi-propoxi)-amida del ácido 5-(4-bromo-2-fluoro-fenilamino)-8-fluoroimidazo[1,5-a]piridin-6-carboxílico	
(III)-11	(2-Hidroxi-etoxi)-amida del ácido 8-fluoro-5-(2-fluoro-4-yodo-fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridin-6-carboxílico	
(III)-12	((R)-2,3-Dihidroxi-propoxi)-amida del ácido 8-fluoro-5-(2-fluoro-4-yodo-fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridin-6-carboxílico	
(III)-13	((S)-2-Hidroxi-propoxi)-amida del ácido 8-fluoro-5-(2-fluoro-4-yodo-fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridin-6-carboxílico	

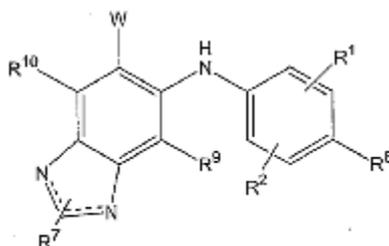
Compuesto n.º	Nombre químico	Estructura
(III)-14	(2-Hidroxi-etoxi)-amida del ácido 5-(2-fluoro-metanosulfanil-fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridin-6-carboxílico	
(III)-15	(2-Hidroxi-etoxi)-amida del ácido 5-(2-fluoro-4-yodo-fenilamino)-imidazo[1,5-a]pirazin-6-carboxílico	
(III)-16	((S)-2-Hidroxi-propoxi)-amida del ácido 5-(2-fluoro-4-yodo-fenilamino)-imidazo[1,5-a]pirazin-6-carboxílico	
(III)-17	(2-Hidroxi-etoxi)-amida del ácido 5-(4-ciclopropil-2-fluoro-fenilamino)-imidazo[1,5-a]piridin-6-carboxílico	
(III)-18	(R)-N-(2,3-Dihidroxi-propoxi)-5-(2-fluoro-4-yodofenilamino)imidazo[1,5-a]pirazin-6-carboxamida	
(III)-19	N-Etoxi-5-(2-fluoro-4-yodofenilamino)imidazo[1,5-a]pirazin-6-carboxamida	
(III)-20	N-(Ciclopropilmetoxi)-5-(2-fluoro-4-yodofenilamino)imidazo[1,5-a]pirazin-6-carboxamida	
(III)-21	5-(2-Fluoro-4-yodofenilamino)-N-metilimidazo[1,5-a]pirazin-6-carboxamida	

Compuesto n.º	Nombre químico	Estructura
(III)-22	5-(4-Bromo-2-fluorofenilamino)-N-(2-hidroxi-etoxi)imidazo[1,5-a]pirazin-6-carboxamida	
(III)-23	(S)-5-(4-Bromo-2-fluorofenilamino)-N-(2-hidroxi-propoxi)imidazo[1,5-a]pirazin-6-carboxamida	
(III)-24	(R)-5-(4-Bromo-2-fluorofenilamino)-N-(2,3-dihidroxi-propoxi)imidazo[1,5-a]pirazin-6-carboxamida	
(III)-25	5-(4-Bromo-2-fluorofenilamino)-N-(ciclopropil-metoxi)imidazo[1,5-a]pirazin-6-carboxamida	

Los compuestos de la tabla 1 corresponden a los ejemplos 5-25 del documento WO 2009/085983 A1. Los compuestos (III)-5 a (III)-20 y (III)-22 a (III)-24 mostraron una Cl_{50} de menos de 0,5 μM en el ensayo descrito en el ejemplo 8b (ensayo de actividad MEK). Algunos de estos compuestos mostraron una Cl_{50} de menos de 0,1 μM . Los compuestos (III)-21 y (III)-25 mostraron una Cl_{50} de menos de 10 μM . Véase la página 49 del documento WO 2009/085983 A1.

También abarca los compuestos inhibidores de MEK (y/o solvatos y sales de los mismos) descritos en el documento WO 2009/085983 A1, por ejemplo, compuestos de imidazopiridina de fórmula (III) (nombrados como fórmula I en el documento WO 2009/085983 A1, por ejemplo, en la página 3) y las variaciones de los mismos como se describe en el documento WO 2009/085983 A1. Los compuestos de fórmula (III) se pueden sintetizar usando procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, los procedimientos sintéticos descritos en el documento WO 2009/085983 A1.

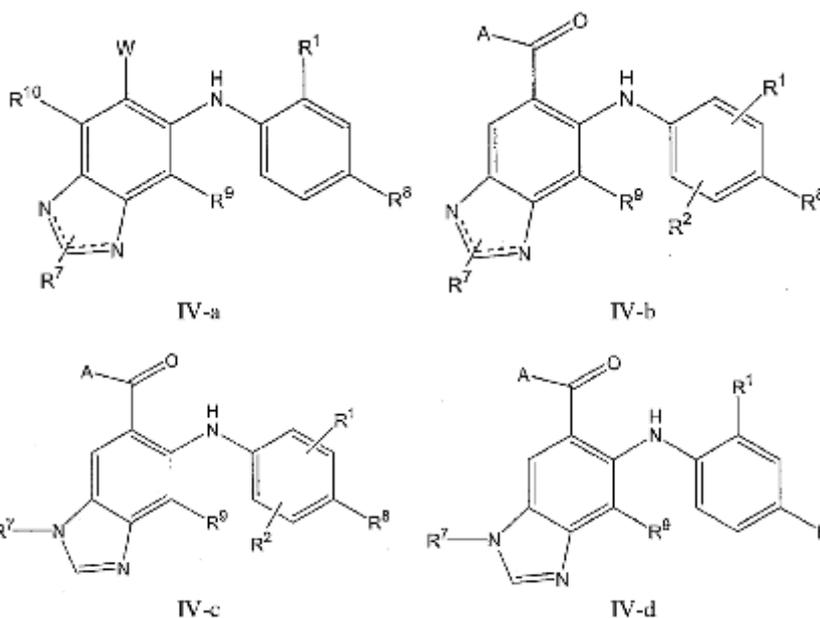
En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es un compuesto de fórmula (IV),



IV

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que las variables son como se definen en el documento WO 03/077914 A1 para la fórmula I en las páginas 4-9 o cualquiera de las variaciones aplicables descritas en el documento WO 03/077914 A1.

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



5 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en las que las variables son como se definen en el documento WO 03/077914 A1 para las fórmulas II, III, IIIa y IIIb, respectivamente en las páginas 10-13 o cualquiera de las variaciones aplicables descritas en el documento WO 03/077914 A1.

10 En algunos modos de realización, el compuesto inhibidor de MEK de fórmula (IV) es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

Ciclopropilmetoxi-amida del ácido 7-fluoro-6-(4-bromo-2-metil-fenilamino)-3H-benzimidazol-5-carboxílico;

15 Ciclopropilmetoxi-amida del ácido 6-(4-bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3H-benzimidazol-5-carboxílico;

(2-Hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(4-bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3H-benzimidazol-5-carboxílico;

20 (2,3-Dihidroxi-propoxi)-amida del ácido 6-(4-bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3H-benzimidazol-5-carboxílico;

(2-Hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(4-bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-(tetrahidropiran-2-ilmetil)-3H-benzimidazol-5-carboxílico;

25 [6-(5-Amino-[1,3,4]oxadiazol-2-il)-4-fluoro-1H-benzimidazol-5-il]-(4-bromo-2-metil-fenil)-amina;

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

1-[6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3H-benzimidazol-5-il]-2-metoxietanona;

30 (2-Hidroxi-1,1-dimetil-etoxi)-amida del ácido 6-(4-bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3H-benzimidazol-5-carboxílico;

35 (2-Hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(4-bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-(tetrahidrofuran-2-ilmetil)-3H-benzimidazol-5-carboxílico;

(2-Hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(4-bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3H-benzimidazol-5-carboxílico;

(2-Hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(bromo-2-fluoro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3H-benzimidazol-5-carboxílico; y

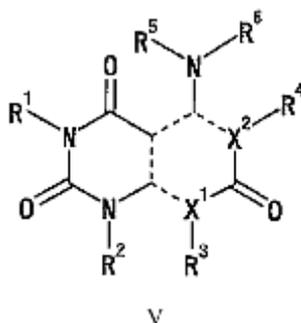
40 (2-Hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(2,4-dicloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3H-benzimidazol-5-carboxílico;

o a una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

45 También abarca cualquiera de las variaciones de fórmula (IV) descritas en el documento WO 03/077914 A1. Los compuestos de fórmula (IV) o cualquiera de las variaciones de los mismos se pueden sintetizar usando procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, los procedimientos sintéticos descritos en el documento WO

03/077914 A1.

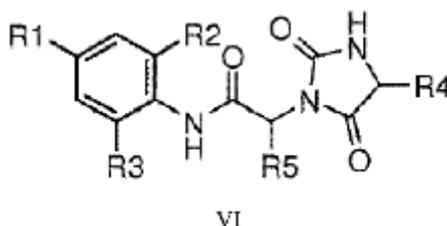
En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es un compuesto de fórmula (V),



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que las variables son como se definen en el documento WO 2005/121142 A1 para la fórmula (I) en las páginas 6-10 o cualquiera de las variaciones aplicables descritas en el documento WO 2005/121142 A1.

También abarca cualquiera de las variaciones de la fórmula (V) descritas en el documento WO 2005/121142 A1, tal como los compuestos inhibidores de MEK individuales descritos en el documento WO 2005/121142 A1, por ejemplo, los ejemplos 1-1 a 1-343 de la tabla 1, los ejemplos 2-1 y 2-2 de la tabla 2, los ejemplos 3-1 a 3-9 de la tabla 3, los ejemplos 4-1 a 4-148 de la tabla 4. Los compuestos de fórmula (V) o cualquiera de las variaciones de los mismos se pueden sintetizar usando procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, los procedimientos sintéticos descritos en el documento WO 2005/121142 A1.

En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es un compuesto de fórmula (VI),



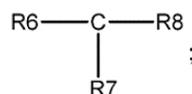
o a una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

R1 se selecciona del grupo que consiste en bromo, yodo, etinilo, cicloalquilo, alcoxi, azetidino, acetilo, heterociclilo, ciano, alquilo de cadena lineal y alquilo de cadena ramificada;

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

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

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



R5 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y

en la que R6 se selecciona del grupo que consiste en hidroxilo, alcoxi, cicloalquilo, alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido y heteroarilo opcionalmente sustituido;

R7 y R8 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo opcionalmente sustituido;

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

En algunas variaciones, el compuesto inhibidor de MEK es de fórmula (VI), o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que las variables son como se definen en el documento WO 2007/096259 A1 para la fórmula (I) o cualquiera de las variaciones aplicables descritas en las páginas 4-10 del documento WO 2007/096259 A1. Otros inhibidores de MEK abarcados son los compuestos descritos en los ejemplos 1-182 del documento WO

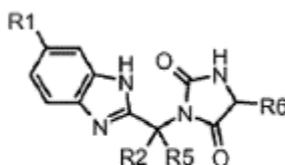
2007/096259 A1.

En algunos modos de realización, el compuesto inhibidor de MEK de fórmula (VI) es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

- 5 (2S,3S)-N-(4-Bromo-fenil)-2-[(R)-4-(4-metoxi-fenil)-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;
 (2S,3S)-N-(4-Yodo-fenil)-2-[(R)-4-(4-metoxi-fenil)-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;
 10 (2S,3S)-N-(2-Fluoro-4-yodo-fenil)-2-[(R)-4-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;
 (2S,3S)-N-(4-Etinil-2-fluoro-fenil)-2-[(R)-4-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;
 (2R,3S)-N-(4-Etinil-2-fluoro-fenil)-2-[(R)-4-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;
 15 (2S,3S)-N-(2-Cloro-4-yodo-fenil)-2-[(R)-4-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;
 (2S,3S)-2-[(R)-4-[4-(2-Hidroxi-etoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-N-(4-yodo-2-metil-fenil)-3-fenil-butiramida;
 20 (2S,3S)-N-(2-Cloro-4-yodo-fenil)-2-[(R)-4-[4-((R)-2,3-dihidroxi-propoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;
 (2S,3S)-N-(2-Cloro-4-yodo-fenil)-2-[(R)-4-[4-((S)-2,3-dihidroxi-propoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;
 25 (2S,3S)-2-[(R)-2,5-Dioxo-4-[4-(2-oxo-2-pirrolidin-1-il-etoxi)-fenil]-imidazolidin-1-il]-N-(2-fluoro-4-yodo-fenil)-3-fenil-butiramida;
 (2S,3S)-2-[(R)-2,5-Dioxo-4-tiofen-3-il-imidazolidin-1-il]-N-(4-yodo-fenil)-3-fenil-butiramida;
 30 (S)-2-[(R)-4-(2,3-Dihidro-benzo[1,4]dioxin-6-il)-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-N-(2)-fluoro-4-yodo-fenil)-3-fenil-propionamida;
 (S)-2-[(R)-4-(4-Acetilamino-fenil)-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-N-(2-fluoro-4-yodo-fenil)-3-fenil-propionamida;
 35 Éster dimetilico del ácido (4-[(R)-1-[(1S,2S)-1-(2-fluoro-4-yodo-fenilcarbamoil)-2-fenil-propil]-2,5-dioxo-imidazolidin-4-il]-fenoximetil)-fosfónico;
 (2S,3S)-N-(2-Fluoro-4-yodo-fenil)-2-[(R)-4-isopropil-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-fenil-butiramida;
 40 (S)-N-(2-Fluoro-4-yodo-fenil)-2-[(R)-4-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-metil-butiramida;
 (S)-N-(2-Fluoro-4-yodo-fenil)-2-[(R)-4-(4-metoxi-fenil)-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-o-tolil-propionamida;
 45 (S)-N-(2-Fluoro-4-yodo-fenil)-2-[(R)-4-(4-metoxi-fenil)-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-m-tolil-propionamida;
 (S)-N-(2-Fluoro-4-yodo-fenil)-2-[(R)-4-(4-metoxi-fenil)-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-3-p-tolil-propionamida; y
 50 (S)-N-(4-Ciclopropil-2-fluoro-fenil)-3-(4-fluoro-fenil)-2-[(R)-4-[4-(2-hidroxi-1-hidroximetil-etoxi)-fenil]-2,5-dioxo-imidazolidin-1-il]-propionamida;

o a una sal o éster farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es un compuesto de fórmula (VII),



VII

o a una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

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

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

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

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

10 R5 es hidrógeno o, junto con R2 y el carbono al que están unidos R2 y R5, forma un cicloalquilo inferior; y

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

15 En algunas variaciones, el compuesto inhibidor de MEK es de fórmula (VI), o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que las variables son como se definen en el documento WO 2009/021887 A1 para la fórmula (I) o cualquiera de las variaciones aplicables descritas en las páginas 4-5 del documento WO 2009/021887 A1. Otros inhibidores de MEK abarcados son los compuestos descritos en los ejemplos 1-21 del documento WO 2009/021887 A1.

20 En algunos modos de realización, el compuesto inhibidor de MEK de fórmula (VI) es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

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

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

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

30 (R)-5-[4-(2-Hidroxi-etoxi)-fenil]-3-[(1*R*,2*R*)-1-(5-yodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-metoxi-propil]-imidazolidin-2,4-diona; 3-[(S)-1-(5-Yodo-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-etil]-imidazolidin-2,4-diona; compuesto con ácido trifluoroacético;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

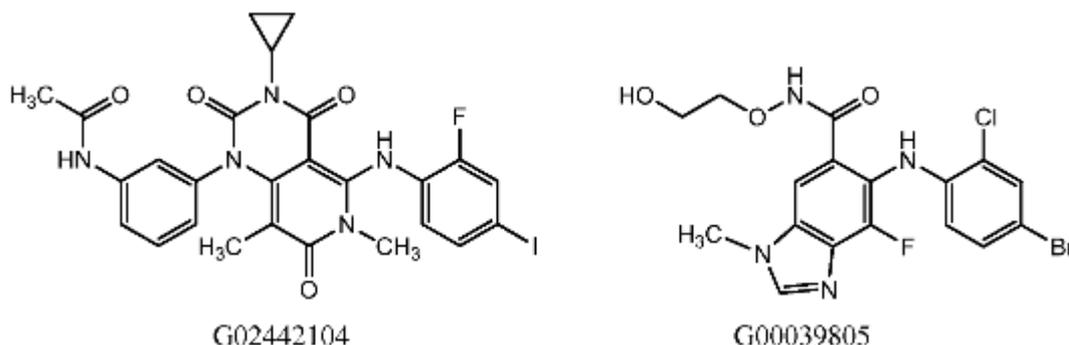
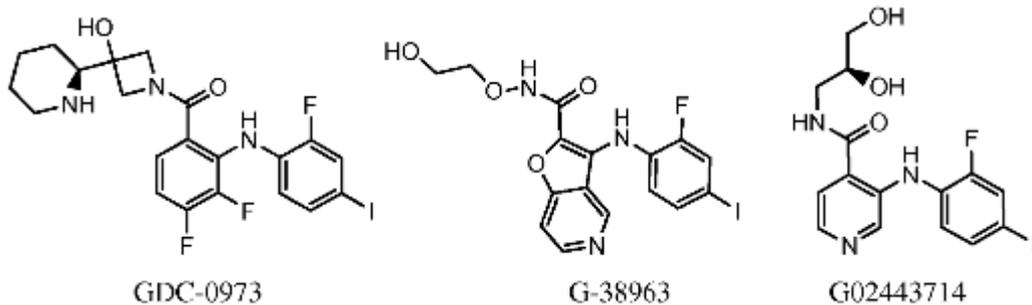
(R)-3-[(S)-1-(5-Ciclopropil-1*H*-benzoimidazol-2-il)-2-fenil-etil]-5-[4-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-imidazolidin-2,4-diona;

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

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

o a una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 5 En algunos modos de realización, el inhibidor de MEK es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en GDC-0973 (metanona, [3,4-difluoro-2-[(2-fluoro-4-yodofenil)amino]fenil][3-hidroxi-3-(2S)-2-piperidinil-1-azetidini]-), G-38963, G02443714, G02442104 y G00039805, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.



10

IV Kits

- 15 En otro aspecto se proporciona un kit que comprende un antagonista de unión al eje de PD-L1 y/o un inhibidor de MEK para tratar o retrasar la progresión de un cáncer en un individuo o para potenciar la función inmunitaria de un individuo que tiene cáncer. En algunos aspectos, el kit comprende un antagonista de unión al eje de PD-1 y un prospecto que comprende instrucciones para usar el antagonista de unión al eje de PD-1 en combinación con un inhibidor de MEK para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo o para potenciar la función inmunitaria de un individuo que tiene cáncer. En algunos aspectos, el kit comprende un inhibidor de MEK y un prospecto que comprende instrucciones para usar el inhibidor de MEK en combinación con un antagonista de unión al eje de PD-1 para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo o para potenciar la función inmunitaria de un individuo que tiene cáncer. En algunos aspectos, el kit comprende un antagonista de unión al eje de PD-1 y un inhibidor de MEK, y un prospecto que comprende instrucciones para usar el antagonista de unión al eje de PD-1 y el inhibidor de MEK para tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo o para potenciar la función inmunitaria de un individuo que tiene cáncer. Cualquiera de los antagonistas de unión al eje de PD-1 y/o los inhibidores de MEK descritos en el presente documento se puede incluir en los kits.

25 En algunos aspectos, el kit comprende un recipiente que contiene uno o más de los antagonistas de unión al eje de PD-1 e inhibidores de MEK descritos en el presente documento. Los recipientes apropiados incluyen, por ejemplo, frascos, viales (por ejemplo, viales de doble cámara), jeringuillas (tales como jeringuillas de cámara simple o de doble cámara) y tubos de ensayo. El recipiente se puede fabricar a partir de una gran variedad de materiales, tales como vidrio o plástico. En algunos modos de realización, el kit puede comprender una etiqueta (por ejemplo, en o asociada con el recipiente) o un prospecto. La etiqueta o el prospecto pueden indicar que el compuesto contenido en el mismo puede ser útil para o está destinado a tratar o retrasar la progresión del cáncer en un individuo o potenciar la función inmunitaria de un individuo que tiene cáncer. El kit puede comprender además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del consumidor, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringuillas.

EJEMPLOS

40 La invención se puede entender adicionalmente por referencia a los siguientes ejemplos, que se proporcionan a modo de ilustración.

Ejemplo 1: Inhibidor de MEK potenció la expresión de MHC-I en líneas de células tumorales

Para determinar si el tratamiento con inhibidor de MEK (iMEK) potenció la inmunogenicidad de células tumorales, se analizó la expresión de MHC-I en la superficie de líneas de células tumorales tratadas con los inhibidores de MEK GDC-0973 y G-38963. Brevemente, líneas celulares de melanoma humano (Malme-3M, A2058, A375, HS294T, SK23, SKMEL-28, 537 Mel, RPMI-795) y líneas de células colorrectales humanas (Colo 320 DM, Colo 205, WiDr, Colo 741, RKO, DLD-1, HM7, HCT-15) se trataron con 1 micromolar de iMEK GDC-0973 o G-38963, inhibidor de BRAF (iBRAF) GDC-0879 o vehículo DMSO durante 24 horas. Después del tratamiento, las células se tiñeron para determinar la expresión de MHC de clase I en la superficie con un anticuerpo contra HLA-A, B, C para el posterior análisis de FACS. Los datos mostrados corresponden al tratamiento con iMEK GDC-0973. Se usaron anticuerpos marcados con isotipo coincidente para determinar el nivel de tinción no específica. El análisis de los datos y la construcción de los histogramas demostraron que la expresión de MHC-I en la superficie celular provocó una regulación por incremento en las células tratadas con iMEK en comparación con las células tratadas con vehículo (figura 1A). En contraste, la expresión de MHC-I en la superficie celular en células tratadas con iBRAF no provocó una regulación por incremento en comparación con las células tratadas con vehículo (figura 2). Estos resultados demuestran que la expresión potenciada en la superficie celular de MHC-I tanto en células de melanoma como en células tumorales colorrectales es específica de la inhibición de MEK y no se debe a la inhibición general de la vía de señalización de RAS/RAF/MEK.

Para determinar si el tratamiento con inhibidor de MEK (iMEK) potenció la inmunogenicidad de las células tumorales de ratón de manera similar a las células tumorales humanas, se analizó la expresión de MHC-I en la superficie de líneas de células tumorales de ratón tratadas con iMEK GDC-0973. Brevemente, se trataron líneas celulares de melanoma de ratón (MC38 y B16.F10) y una línea de células colorrectales de ratón (CT26) con iMEK GDC-0973, G-38963 o vehículo. Brevemente, las células se estimularon durante 24 horas con 1 micromolar de inhibidor de MEK o control con vehículo DMSO. Después del tratamiento, las células se tiñeron superficialmente con un anticuerpo contra MHC-I (H-2D) y se analizó la expresión mediante análisis de FACS posterior. Se usaron anticuerpos marcados con isotipo coincidente para determinar el nivel de tinción no específica. El análisis de los datos y la construcción de los histogramas demostraron que la expresión de MHC-I en la superficie celular provocó una regulación por incremento en las células tratadas con iMEK (los datos mostrados corresponden al iMEK GDC-0973) en comparación con las células tratadas con vehículo (figura 1B). Estos resultados demuestran que la expresión potenciada de MHC-I en la superficie celular se produjo en varias líneas celulares de melanoma y tumor colorrectal, independientemente del origen murino o humano.

Para determinar si la expresión potenciada de MHC-I en la superficie celular es específica de las células tumorales, se analizó el efecto del tratamiento con iMEK sobre la expresión de MHC-I en células mononucleares de sangre periférica (PMBC) humanas. Brevemente, las PMBC se aislaron de la sangre completa diluyéndolas primero con un volumen igual de PBS a temperatura ambiente y posterior recubrimiento sobre tubos Leucosep llenos de medio de Ficoll (Greiner Bio-One). Después de la centrifugación, la superficie de contacto de las PMBC se lavó dos veces y se resuspendió en medios de cultivo (RPMI-1640 con suero bovino fetal al 10 %, HEPES 20 μ M, 2-mercaptoetanol 55 μ M, gentamicina 50 μ g/ml y diluciones 1:100 de los siguientes suplementos de Gibco: Gluta-MAX, piruvato de sodio, penicilina/estreptomicina y aminoácidos no esenciales). Las células se colocaron en placas de 6 pocillos a 4×10^6 células por pocillo con un total de 4 ml por pocillo. El inhibidor de MEK GDC-0973 se añadió a 1 μ M o 3 μ M. Las células se recogieron 24 horas después y se distribuyeron en una placa de fondo en V de 96 pocillos para la tinción FACS. Las células se tiñeron con los siguientes anticuerpos (todos de BD Biosciences, a 1:10 durante 30 minutos en hielo): CD3-FITC, HLA-ABC-PE, CD4-APC, CD19-FITC y CD14-FITC. Se incluyó yoduro de propidio para excluir las células muertas. Las muestras se analizaron en un citómetro de flujo BD FACSCaliber y los datos se analizaron usando el programa informático FlowJo (Tree Star, Inc.). El análisis de los datos y la construcción de los histogramas demostraron que la expresión de MHC-I en la superficie celular no provocó una regulación por incremento en linfocitos T CD4+ (figura 3A), linfocitos T CD8+ (figura 3B), linfocitos B (figura 3C) o monocitos (figura 3D) tratados con 1 μ M de iMEK GDC-0973 o 3 μ M de iMEK GDC-0973, en comparación con las células tratadas con vehículo. Estos resultados demuestran que la expresión de MHC-I en la superficie celular potenciada por el tratamiento con inhibidor de MEK es específica de las células tumorales.

Ejemplo 2: Señales coestimuladoras hicieron que los linfocitos T se vuelvieran resistentes a la inactivación de la señalización de TCR por el inhibidor de MEK

Estudios recientes han demostrado que el tratamiento con inhibidor de MEK deteriora la función de los linfocitos T (Boni *et al.*, *Cancer Res.*, 70(13), 2010). Para confirmar que el tratamiento con inhibidor de MEK afectaba a los linfocitos T CD8+, los linfocitos T se trataron con iMEK en combinación con señales de estimulación de linfocitos T y se analizaron para determinar la proliferación de linfocitos T. Brevemente, se purificaron linfocitos T CD8+ humanos a partir de sangre completa usando el RosetteSep para CD8 humano de StemCell Technologies según las instrucciones del fabricante. Las células purificadas se colocaron en placas a 200.000 por pocillo por triplicado en placas de 96 pocillos con fondo en U con 200.000 por pocillo de Dynabeads anti-CD3 o anti-CD3/anti-CD28 (Invitrogen). Los inhibidores de MEK GDC-0973 y G-38963 se valoraron 10 veces de 10 μ M a 0,001 μ M, de manera que la concentración final del cultivo era de DMSO al 0,5 % en un volumen total de 200 μ l por pocillo. El medio de cultivo fue RPMI-1640 con suero bovino fetal al 10 %, HEPES 20 μ M, 2-mercaptoetanol 55 μ M, gentamicina 50 μ g/ml y diluciones 1:100 de los siguientes suplementos de Gibco: Gluta-MAX, piruvato de sodio,

penicilina/estreptomicina y aminoácidos no esenciales. A las 48 horas, los pocillos se estimularon con 1 μCi /pocillo de 3H-timidina y se cultivaron 16 horas adicionales antes de la congelación y la recolección. El análisis de los datos demostró que el tratamiento de linfocitos T CD8+ con anti-CD3 estimuló la activación de linfocitos T (triángulo relleno), en comparación con los linfocitos T no estimuladas (círculo blanco). El tratamiento de los linfocitos T con dos inhibidores de MEK diferentes redujo el efecto estimulador de anti-CD3 (círculo relleno, cuadrado relleno) en todas las concentraciones de iMEK analizadas, produciéndose una inhibición casi completa de la proliferación inducida por el receptor de linfocitos T en el tratamiento con iMEK 0,01 μM (figura 4A). En contraste, la coestimulación con anti-CD3 y anti-CD28 en linfocitos T tratadas con iMEK (círculo relleno, cuadrado relleno) fue suficiente para superar el efecto inhibitor de iMEK sobre la activación de linfocitos T (figura 4B). Estos resultados inesperados demuestran el hallazgo novedoso de que la inhibición de la señalización de TCR por el tratamiento con iMEK se puede superar proporcionando suficiente coestimulación de linfocitos T que se proporciona a los linfocitos T por células presentadoras de antígenos tales como linfocitos B, macrófagos y células dendríticas.

Sin estar ligado a ninguna teoría, se cree que un componente clave de la coestimulación es la activación de la PI3 cinasa y se proporciona por CD28 a través de la asociación de la subunidad p85 de PI3K con su motivo YNMN citoplásmico. PD-1, a través de su interacción con SHP2, impide la actividad de PI3K. Por lo tanto, el bloqueo del eje de PD-1 puede desinhibir la PI3 cinasa, dando como resultado una estimulación potenciada de los linfocitos T y proporciona un medio para superar el efecto inhibitor de iMEK sobre la activación de los linfocitos T. El bloqueo de PD-1/PD-L1 se realiza para potenciar la coestimulación en condiciones en las que la expresión de ligandos coestimuladores como B7.1 y B7.2 es a menudo limitante, tal como en la mayoría de los tumores o en el microentorno del tumor. La combinación de iMEK con el bloqueo del eje de PD1 debería potenciar la inmunidad de los linfocitos T específicos del tumor al potenciar el reconocimiento de Ag por el TCR a través de la regulación por incremento de MHC-I del tumor (potenciando la señal 1) por iMEK y al liberar la inhibición de PI3K (potenciando la señal 2) a través del bloqueo de PD-1/PD-L1.

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

Para determinar si el tratamiento con inhibidor de MEK potenció específicamente la inmunogenicidad tumoral al estimular células dendríticas (CD), se trataron células dendríticas derivadas de monocitos con una concentración creciente de iMEK GDC-0973, iMEK GDC-38963 o iBRAF GDC-0879 en combinación con anticuerpos contra la molécula coestimuladora de CD CD40. Brevemente, se purificaron monocitos humanos a partir de sangre completa usando el RosetteSep para monocitos humanos de StemCell Technologies según las instrucciones del fabricante. Los monocitos se sembraron en matraces T175 a aproximadamente 0,5-1,0 $\times 10^6$ por ml en 50 ng/ml de GM-CSF humano y 100 ng/ml de IL-4 humana durante un total de 7 días, con intercambios del 50 % del medio cada 2 días. Las células se recolectaron entonces y se colocaron en placas a 100.000 células/pocillo en placas de fondo plano de 96 pocillos con o sin anti-CD40 de Pfizer a 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Los inhibidores de MEK y el inhibidor de BRAF se valoraron 10 veces de 10 μM a 0,001 μM , de manera que la concentración final del cultivo era de DMSO al 0,5 % en un volumen total de 200 μl por pocillo. Cuarenta y ocho horas más tarde, las células se recolectaron y se transfirieron a una placa de fondo en V de 96 pocillos. Las células se bloquearon primero en el receptor de Fc (Miltenyi) y luego se tiñeron con los siguientes anticuerpos (de BD Biosciences a 1:10, 30 minutos en hielo): HLA-DR,-DP,-DQ-FITC, HLA-ABC-PE, CD83-APC, CD14-FITC, CD80-PE y CD86-APC. Se incluyó yoduro de propidio para excluir las células muertas. Las muestras se analizaron en un citómetro de flujo BD FACSCaliber y los datos se analizaron usando el programa informático FlowJo (Tree Star, Inc.). El análisis de los datos y la construcción de los histogramas demostraron que la frecuencia con la que las células expresan el marcador de maduración CD83 (figura 5A), MHC-II (figura 5B) y la molécula coestimuladora CD86 (figura 5C) aumentó en las células tratadas con iMEK GDC-0973 1 μM en comparación con las células tratadas con vehículo. En contraste, la expresión en la superficie celular de estos marcadores superficiales de activación de CD en las CD tratadas con iBRAF 1 μM no provocó una regulación por incremento y era similar a la de las células tratadas con vehículo. Además, las concentraciones crecientes de iMEK G-38963 (cuadrado relleno) o iMEK GDC-0973 (círculo relleno) potenciaron la frecuencia con la que las CD expresaban estos marcadores superficiales de maduración y activación de CD de manera dependiente de la concentración (figura 5D-5F). En contraste, el tratamiento con iBRAF (triángulo relleno) no potenció el efecto coestimulador anti-CD40. Estos resultados novedosos demuestran que la maduración y activación potenciadas de las CD son específicas del tratamiento con inhibidor de MEK y no se deben a una inhibición general de la vía de señalización de RAS/RAF/MEK. Además, el iMEK potenció la activación de las CD derivadas de monocitos humanos coestimuladas con anti-CD40 de manera dependiente de la concentración, lo que indica que el iMEK puede tener un efecto inmunomodulador sobre las CD.

Ejemplo 4: Tratamiento combinado con inhibidor de MEK y anticuerpos anti-PD-L1 redujo los niveles séricos de citocinas que promueven el crecimiento tumoral

Debido a la observación novedosa de que el tratamiento con iMEK potenció la activación de linfocitos T y CD en presencia de un coestimulador, el iMEK G-38963 se usó en combinación con anticuerpos anti-PD-L1 para determinar si el iMEK podía potenciar los efectos antitumorales del tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 y modular los niveles de citocinas en animales portadores de tumores. El anticuerpo anti-PD-L1 empleado en estos experimentos fue PRO314483, lote n.º 59554.96, producido contra el PD-L1 humano y que reconoce tanto PD-L1 humano como PD-L1 murino. Brevemente, 7 días después del tratamiento, los ratones se anestesiaron y se les

extrajo sangre por vía retroorbital para obtener suero. El análisis de los niveles séricos de citocinas se realizó usando el ensayo Bio-Plex de BioRad y se determinó que los niveles de citocina inmunosupresora IL-10 se redujeron significativamente en modelos *in vivo* tanto para melanoma (figura 6A) como para tumores colorrectales (figura 6C). Los niveles de IL-10 se redujeron con el tratamiento con anticuerpo anti-PD-L1 o iMEK solo, pero se redujeron significativamente con el tratamiento combinado con iMEK y anticuerpos anti-PD-L1. Además, los niveles séricos de la quimiocina KC murina, homóloga de la quimiocina humana IL-8 que se sabe que desempeña un papel en la progresión tumoral, también se redujeron significativamente en modelos *in vivo* tanto para melanoma (figura 6B) como para tumores colorrectales (figura 6D), con la reducción más significativa inducida por el cotratamiento con iMEK y anticuerpos anti-PD-L1. Estos resultados indican que el tratamiento combinado de anticuerpos anti-PD-L1 e iMEK inhibe la liberación de citocinas que promueven el crecimiento tumoral.

Ejemplo 5: Inhibición de MEK potenció la actividad antitumoral de los anticuerpos anti-PD-L1 en tumores colorrectales *in vivo*

Para determinar si el iMEK potenció el efecto antitumoral de los anticuerpos anti-PD-L1, se trataron modelos de ratón para tumores colorrectales con el tratamiento combinado. Brevemente, se inocularon células tumorales a los ratones por vía subcutánea y se permitió que los tumores crecieran. Cuando los ratones portadores de tumores alcanzaron un volumen tumoral medio de 200 mm³ (figura 7A) o 450 mm³ (figura 7B), los ratones se asignaron aleatoriamente a 1 de 4 grupos de tratamiento. El grupo 1 recibió 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipo (anti-gp120, PRO67181, n.º PUR 20455) por vía intraperitoneal tres veces por semana durante 3 semanas más vehículo de control MCT por vía oral diariamente durante 21 días; el grupo 2 recibió 10 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 59554.96 por vía intraperitoneal tres veces por semana durante tres semanas; el grupo 3 recibió 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipo (anti-gp120, PRO67181, n.º PUR 20455) por vía intraperitoneal 3 veces por semana durante 3 semanas más 75 mg/kg de iMEK G-38963 por vía oral diariamente durante 21 días; el grupo 4 recibió 10 mg/kg de un anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 59554.96 por vía intraperitoneal tres veces a la semana durante tres semanas más 75 mg/kg de iMEK G-38963 por vía oral diariamente durante 21 días. Se hizo un seguimiento riguroso de los ratones para determinar el crecimiento tumoral y los cambios de peso corporal. El bloqueo de PD-L1 con el anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 5944.96, ya sea en la intervención temprana (figura 7A) o tardía (figura 7B), fue altamente eficaz como monoterapia para prevenir el crecimiento tumoral. El tratamiento con el iMEK G-38963 también fue altamente eficaz como monoterapia para prevenir el crecimiento tumoral, ya sea en la intervención temprana o tardía, y fue comparable al tratamiento con anticuerpo anti-PD-L1. El tratamiento combinado con anticuerpos anti-PD-L1 e iMEK inhibió significativamente el crecimiento tumoral, tanto en la intervención temprana como tardía, y fue significativamente más eficaz que el tratamiento con anticuerpo anti-PD-L1 o iMEK solo. Además, el tratamiento combinado en una etapa temprana del crecimiento tumoral dio como resultado no solo una reducción significativa del volumen tumoral, sino que también demostró una respuesta mantenida. La intervención temprana dio como resultado aproximadamente un 60 % de respuesta completa, que se mantuvo durante al menos 92 días. Estos resultados indican que el iMEK potenció la actividad antitumoral de bloqueo de PD-L1 y, por lo tanto, trabajó sinérgicamente con los anticuerpos anti-PD-L1 para inhibir el crecimiento tumoral.

Para determinar además si el iMEK potenció el efecto antitumoral de los anticuerpos anti-PD-L1, los modelos de ratón para tumores colorrectales se trataron con el tratamiento combinado usando un inhibidor de MEK diferente, iMEK GDC-0973, en dos estudios diferentes.

En el primer estudio, ratones BALB/c hembra se inocularon por vía subcutánea en la región torácica unilateral con 100.000 células colorrectales murinas CT26 en 100 µl de HBSS:matrigel. Cuando los ratones alcanzaron un volumen tumoral medio de aproximadamente 200 mm³, se asignaron aleatoriamente a uno de los nueve grupos de tratamiento diferentes en el día experimental 0 y el tratamiento se inició el día experimental 1. A grupos de 10 ratones se les administró por vía oral lo siguiente en un volumen de 200 µl diariamente durante 21 días: el grupo 1 recibió vehículo MCT; el grupo 2 recibió 0,5 mg/kg de GDC-0973; el grupo 3 recibió 1,0 mg/kg de GDC-0973; el grupo 4 recibió 2,0 mg/kg de GDC-0973; el grupo 5 recibió 3,0 mg/kg de GDC-0973; el grupo 6 recibió 4,0 mg/kg de GDC-0973; el grupo 7 recibió 5,0 mg/kg de GDC-0973; el grupo 8 recibió 6,0 mg/kg de GDC-0973; y el grupo 9 recibió 7,5 mg/kg de GDC-0973.

En el segundo estudio, ratones BALB/c hembra se inocularon por vía subcutánea en la región torácica unilateral con 100.000 células colorrectales murinas CT26 en 100 µl de HBSS:matrigel. Cuando los ratones alcanzaron un volumen tumoral medio de aproximadamente 200 mm³, se asignaron aleatoriamente a uno de los seis grupos de tratamiento diferentes en el día experimental 0 y el tratamiento se inició el día experimental 1. A grupos de 10 ratones se les administró lo siguiente: el grupo 1 recibió vehículo MCT por vía oral en un volumen de 200 µl diariamente durante 21 días y 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipo (anti-gp120, PRO67181, n.º PUR 20455) por vía intraperitoneal 3 veces por semana; el grupo 2 recibió 7,5 mg/kg de GDC-0973 por vía oral diariamente durante 21 días; el grupo 3 recibió 10 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 5944.96 por vía intraperitoneal 3 veces por semana; el grupo 4 recibió 10 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 5944.96 por vía intraperitoneal 3 veces por semana y 1,0 mg/kg de GDC-0973 por vía oral diariamente durante 21 días; el grupo 5 recibió 10 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 5944.96 por vía intraperitoneal 3 veces por semana y 3,0 mg/kg de GDC-0973 por vía oral diariamente durante 21 días; y el grupo 6 recibió 10 mg/kg

de anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 5944.96 por vía intraperitoneal 3 veces por semana y 6,0 mg/kg de GDC-0973 por vía oral diariamente durante 21 días. El anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 5944.96 era una quimera inversa que contenía la región variable humana de MPDL3280A y la región constante murina de IgG2A, con una sustitución de Fc sin efector D265A/N297A en la región constante.

En ambos estudios, se hizo un seguimiento riguroso de los ratones para determinar el crecimiento tumoral y los cambios de peso corporal dos o tres veces por semana durante todo el estudio. Para medir el crecimiento tumoral, el volumen tumoral se midió usando calibradores UltraCal-IV (modelo 54-10-111; Fred V. Fowler Company; Newton, MA) con mediciones de longitud y anchura perpendiculares entre sí, y el volumen tumoral se calculó usando la ecuación:

$$\text{Volumen tumoral (mm}^3\text{)} = (\text{Longitud} \times \text{Anchura}^2) \times 0,5$$

Para medir el peso corporal, los ratones se pesaron usando una báscula Adventura Pro AV812 (Ohaus Corporation; Pine Brook, NJ). El porcentaje de cambio de peso corporal se calculó usando la ecuación:

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

Los datos se analizaron usando R, versión 2.9.2 (R Development Core Team 2008; R Foundation for Statistical Computing; Viena, Austria) y los modelos mixtos se ajustaron a R usando el paquete nlme, versión 3.1-96 (Pinheiro J *et al.*, *R package version 3*. 2009, 1-96). La representación de los datos se realizó en Prism, versión 5.0b para Mac (GraphPad Software, Inc.; La Jolla, CA). Se usó un enfoque de modelado mixto para analizar la medición repetida de volúmenes tumorales de los mismos animales a lo largo del tiempo (Pinheiro J *et al.*, *Statistics and Computing*, Springer. 2010). Este enfoque abordó las mediciones repetidas y los abandonos moderados antes de que finalizara el estudio por razones estadísticamente clasificables como ausentes de manera aleatoria (AMA). Los cambios de efectos fijos en \log_2 (volumen) por tiempo y dosis se modelan como la suma de los efectos principales y la interacción de una base de curva cúbica natural de regresión en el tiempo con una base de curva natural autodeterminada en la dosis. Se asumió que las intersecciones y las tasas de crecimiento (pendientes) varían aleatoriamente por animal. La inhibición del crecimiento tumoral como porcentaje (% ICT) del grupo tratado con control se calculó como el porcentaje del área bajo la curva ajustada (ABC) para el grupo de tratamiento respectivo por día en relación con el control mientras que los ratones tratados con control todavía estaban en el estudio, usando la ecuación:

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

La respuesta completa (RC) se definió como un animal individual cuyo volumen tumoral cayó por debajo del límite de detección (LDD) en cualquier momento durante el estudio. La respuesta parcial (RP) se definió como un animal individual cuyo volumen tumoral disminuyó en un 50 % de su volumen tumoral inicial en cualquier momento durante el estudio. La tasa de respuesta global (TRG) se definió como la suma de las respuestas completas y parciales.

El tiempo hasta la progresión 5X (THP5X) se definió como el tiempo en días para que el volumen tumoral ajustado de un grupo (basado en el análisis de modelado mixto descrito anteriormente) superara 5 veces el volumen inicial, redondeado al medio día más cercano y presentado como el THP5X para ese grupo. El análisis lineal de efectos mixtos también se empleó para analizar la medición repetida de los cambios de peso corporal en los mismos animales a lo largo del tiempo.

El tratamiento con concentraciones crecientes de iMEK GDC-0973 suprimió el crecimiento tumoral con inhibición máxima demostrada por el grupo de tratamiento con 7,5 mg/kg de GDC-0973 20 días después del tratamiento (figura 8A, tabla 2).

Tabla 2. Aumento de ICT debido al aumento de las dosis de iMEK GDC-0973

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

El tratamiento combinado con el anticuerpo anti-PD-L1 y el iMEK GDC-0973 demostró una reducción potenciada del

crecimiento tumoral durante un período de tiempo más prolongado en comparación con el tratamiento con anticuerpo anti-PD-L1 o iMEK GDC-0973 solo (figura 8B, tabla 3). Además, las concentraciones de dosis más bajas de iMEK GDC-0973 (1 mg/kg, 3 mg/kg y 6 mg/kg) fueron más eficaces a la hora de suprimir el crecimiento tumoral cuando se usaron en combinación con el anticuerpo anti-PD-L1, en comparación con cuando se usó una concentración de dosis más alta de iMEK GDC-0973 solo (7,5 mg/kg) (figura 8A y B, tabla 3).

Tabla 3. Eficacia del tratamiento combinado con anticuerpo anti-PD-L1 e iMEK GDC-0973

Tratamiento	% ICT	THP5X (días)	% RP	% RC
Control	0	12	0	0
anticuerpo anti-PD-L1	78	24	20	0
GDC-0973, 7,5 mg/kg	71	21,5	10	0
anticuerpo anti-PD-L1 + GDC-0973, 1,0 mg/kg	78	30	20	10
anticuerpo anti-PD-L1 + GDC-0973, 3,0 mg/kg	98	43	30	20
anticuerpo anti-PD-L1 + GDC-0973, 6,0 mg/kg	106	44,5	40	20

Se realizaron estudios adicionales para determinar si inhibidores de MEK adicionales (G02443714, G02442104 y G00039805) también potenciaban el efecto antitumoral de los anticuerpos anti-PD-L1 cuando se usaban para el tratamiento combinado en un modelo de ratón para tumores colorrectales.

Para el tratamiento combinado con el inhibidor de MEK G02443714, ratones BALB/c hembra se inocularon por vía subcutánea en la región torácica unilateral con 100.000 células colorrectales murinas CT26 en 100 μ l de HBSS:matrigel. Cuando los ratones alcanzaron un volumen tumoral medio de aproximadamente 200 mm³, se asignaron aleatoriamente a uno de los cuatro grupos de tratamiento diferentes en el día experimental 0 y el tratamiento se inició el día experimental 1. A grupos de 10 ratones se les administró lo siguiente: el grupo 1 recibió vehículo MCT por vía oral en un volumen de 200 μ l diariamente durante 21 días y 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipo (anti-gp120, PRO67181, n.º PUR 20455) por vía intraperitoneal 3 veces por semana; el grupo 2 recibió 25 mg/kg de G02443714 por vía oral diariamente durante 21 días; el grupo 3 recibió 10 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 5944.96 por vía intraperitoneal 3 veces por semana; y el grupo 4 recibió 10 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 5944.96 por vía intraperitoneal 3 veces por semana y 25 mg/kg de G02443714 por vía oral diariamente durante 21 días. G02443714, así como el vehículo oral (MCT), se administraron por vía oral mediante sonda gástrica cuatro horas antes de la administración del anticuerpo anti-PD-L1 y/o el anticuerpo de control de isotipo.

Para el tratamiento combinado con el inhibidor de MEK G02442104, ratones BALB/c hembra se inocularon por vía subcutánea en la región torácica unilateral con 100.000 células colorrectales murinas CT26 en 100 μ l de HBSS:matrigel. Cuando los ratones alcanzaron un volumen tumoral medio de aproximadamente 200 mm³, se asignaron aleatoriamente a uno de los cuatro grupos de tratamiento diferentes en el día experimental 0 y el tratamiento se inició el día experimental 1. A grupos de 10 ratones se les administró lo siguiente: el grupo 1 recibió vehículo MCT por vía oral en un volumen de 200 μ l diariamente durante 21 días y 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipo (anti-gp120, PRO67181, n.º PUR 20455) por vía intraperitoneal 3 veces por semana; el grupo 2 recibió 25 mg/kg de G02442104 por vía oral diariamente durante 21 días; el grupo 3 recibió 10 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 5944.96 por vía intraperitoneal 3 veces por semana; y el grupo 4 recibió 10 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 5944.96 por vía intraperitoneal 3 veces por semana y 25 mg/kg de G02442104 por vía oral diariamente durante 21 días. G02442104, así como el vehículo oral (MCT), se administraron por vía oral mediante sonda gástrica cuatro horas antes de la administración del anticuerpo anti-PD-L1 y/o el anticuerpo de control de isotipo.

Para el tratamiento combinado con el inhibidor de MEK G00039805, ratones BALB/c hembra se inocularon por vía subcutánea en la región torácica unilateral con 100.000 células colorrectales murinas CT26 en 100 μ l de HBSS:matrigel. Cuando los ratones alcanzaron un volumen tumoral medio de aproximadamente 200 mm³, se asignaron aleatoriamente a uno de los cuatro grupos de tratamiento diferentes en el día experimental 0 y el tratamiento se inició el día experimental 1. A grupos de 10 ratones se les administró lo siguiente: el grupo 1 recibió vehículo MCT por vía oral en un volumen de 200 μ l diariamente durante 21 días y 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipo (anti-gp120, PRO67181, n.º PUR 20455) por vía intraperitoneal 3 veces por semana; el grupo 2 recibió 100 mg/kg de G00039805 por vía oral diariamente durante 21 días; el grupo 3 recibió 10 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 5944.96 por vía intraperitoneal 3 veces por semana; y el grupo 4 recibió 10 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 5944.96 por vía intraperitoneal 3 veces por semana y 100 mg/kg de G00039805 por vía oral diariamente durante 21 días. G00039805, así como el vehículo oral (MCT), se administraron por vía oral mediante sonda gástrica cuatro horas antes de la administración del anticuerpo anti-PD-L1 y/o el anticuerpo de control de isotipo.

En los tres estudios de combinación con G02443714, G02442104 o G00039805, se hizo un seguimiento riguroso de los ratones para determinar el crecimiento tumoral y los cambios de peso corporal dos o tres veces por semana durante todo el estudio. Para medir el crecimiento tumoral, el volumen tumoral se midió usando calibradores UltraCal-IV (modelo 54-10-111; Fred V. Fowler Company; Newton, MA) con mediciones de longitud y anchura perpendiculares entre sí, y el volumen tumoral se calculó usando la ecuación:

$$\text{Volumen tumoral (mm}^3\text{)} = (\text{Longitud} \times \text{Anchura}^2) \times 0,5$$

Para medir el peso corporal, los ratones se pesaron usando una báscula Adventura Pro AV812 (Ohaus Corporation; Pine Brook, NJ). El porcentaje de cambio de peso corporal se calculó usando la ecuación:

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

Los datos se analizaron usando R, versión 2.9.2 (R Development Core Team 2008; R Foundation for Statistical Computing; Viena, Austria) y los modelos mixtos se ajustaron a R usando el paquete nlme, versión 3.1-96 (Pinheiro J et al., *R package version 3*. 2009, 1-96). La representación de los datos se realizó en Prism, versión 5.0b para Mac (GraphPad Software, Inc.; La Jolla, CA). Se usó un enfoque de modelado mixto para analizar la medición repetida de volúmenes tumorales de los mismos animales a lo largo del tiempo (Pinheiro J et al., *Statistics and Computing*, Springer. 2010). Este enfoque abordó las mediciones repetidas y los abandonos moderados antes de que finalizara el estudio por razones estadísticamente clasificables como ausentes de manera aleatoria (AMA). Los cambios de efectos fijos en \log_2 (volumen) por tiempo y dosis se modelan como la suma de los efectos principales y la interacción de una base de curva cúbica natural de regresión en el tiempo con una base de curva natural autodeterminada en la dosis. Se asumió que las intersecciones y las tasas de crecimiento (pendientes) varían aleatoriamente por animal. La inhibición del crecimiento tumoral como porcentaje (% ICT) del grupo tratado con control se calculó como el porcentaje del área bajo la curva ajustada (ABC) para el grupo de tratamiento respectivo por día en relación con el control mientras que los ratones tratados con control todavía estaban en el estudio, usando la ecuación:

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

La respuesta completa (RC) se definió como un animal individual cuyo volumen tumoral cayó por debajo del límite de detección (LDD) en cualquier momento durante el estudio. La respuesta parcial (RP) se definió como un animal individual cuyo volumen tumoral disminuyó en un 50 % de su volumen tumoral inicial en cualquier momento durante el estudio. La tasa de respuesta global (TRG) se definió como la suma de las respuestas completas y parciales.

El tiempo hasta la progresión 5X (THP5X) se definió como el tiempo en días para que el volumen tumoral ajustado de un grupo (basado en el análisis de modelado mixto descrito anteriormente) superara 5 veces el volumen inicial, redondeado al medio día más cercano y presentado como el THP5X para ese grupo. El análisis lineal de efectos mixtos también se empleó para analizar la medición repetida de los cambios de peso corporal en los mismos animales a lo largo del tiempo.

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

Ejemplo 6: Inhibición de MEK potenció la actividad antitumoral de los anticuerpos anti-PD-L1 en melanomas *in vivo*

Para determinar si el iMEK potenció el efecto antitumoral de los anticuerpos anti-PD-L1, se trataron modelos de ratón para melanomas con el tratamiento combinado. Brevemente, se inocularon células tumorales a los ratones por vía subcutánea y se permitió que los tumores crecieran. Cuando los ratones portadores de tumores alcanzaron un volumen tumoral medio de 100-200 mm³, los ratones se asignaron aleatoriamente a 1 de 4 grupos de tratamiento. El grupo 1 recibió 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipo (anti-gp120, PRO67181, n.º PUR 20455) por vía intraperitoneal tres veces por semana durante 3 semanas más vehículo de control MCT por vía oral diariamente durante 21 días; el grupo 2 recibió 10 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 59554.96 por vía intraperitoneal tres veces por semana durante tres semanas; el grupo 3 recibió 10 mg/kg de un anticuerpo de control de isotipo (anti-gp120, PRO67181, n.º PUR 20455) por vía intraperitoneal 3 veces por semana durante tres semanas

más 75 mg/kg de iMEK G-38963 por vía oral diariamente durante 21 días; el grupo 4 recibió 10 mg/kg de un anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 59554.96 por vía intraperitoneal tres veces a la semana durante tres semanas más 75 mg/kg de iMEK G-38963 por vía oral diariamente durante 21 días. Se hizo un seguimiento riguroso de los ratones para determinar el crecimiento tumoral y los cambios de peso corporal. El bloqueo de PD-L1 con el anticuerpo anti-PD-L1 PRO314483, lote n.º 59554.96 en melanomas de Cloudman S91 (figura 12) fue eficaz como monoterapia para prevenir el crecimiento tumoral. El tratamiento con el iMEK G-38963 también fue altamente eficaz como monoterapia para prevenir el crecimiento tumoral (figura 12) y fue comparable al tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1. El tratamiento combinado con anticuerpos anti-PD-L1 e iMEK inhibió significativamente el crecimiento tumoral en ambas líneas celulares de melanoma. En contraste, Temodar, un agente quimioterápico, cuando se usó en combinación con anticuerpos anti-PD-L1, inhibió la actividad antitumoral de los anticuerpos anti-PD-L1 (figura 13). Se obtuvieron resultados similares cuando se usó un anticuerpo que bloquea la molécula coestimuladora de linfocitos T OX40 en combinación con el inhibidor de MEK G-38963 (figura 14). Estos resultados indican que el iMEK potenció específicamente la actividad antitumoral del bloqueo de PD-L1 y, por lo tanto, trabajó sinérgicamente con los anticuerpos anti-PD-L1 para inhibir el crecimiento tumoral del melanoma.

Ejemplo 7: Inhibidor de MEK incrementó la activación de células dendríticas independientemente de la actividad del anticuerpo contra PD-L1

Estudios previos han indicado que la inhibición de MEK puede aumentar la función inmunitaria mediante la regulación por disminución del PD-L1 superficial, lo que sugiere que los efectos de los iMEK estaban mediados por alteraciones en la expresión de PD-L1. Para determinar si la inmunogenicidad tumoral potenciada se debe a la dependencia de la expresión de PD-L1 en la activación de MEK, se comparó la activación de células dendríticas tratadas con iMEK GDC-0973 solo, anticuerpos anti-PD-L1 (un anticuerpo quimérico compuesto de regiones variables de MPDL3280A fusionadas a las secuencias constantes de IgG2a de ratón que contienen una mutación de Fc para evitar la unión eficaz a los receptores de Fc-gamma) solos o iMEK en combinación con anticuerpos anti-PD-L1. Brevemente, se aislaron células de médula ósea de ratón y se sembraron a 2×10^6 por cada 10 ml de volumen total por cada placa de 10 cm tratada con cultivo sin tejido con 40 ng/ml de GM-CSF de ratón durante 7 días. Los medios de cultivo se intercambiaron al 50 % por medios de cultivo frescos cada 2-3 días. El medio de cultivo fue RPMI-1640 con suero bovino fetal al 10 %, HEPES 20 μ M, 2-mercaptoetanol 55 μ M, gentamicina 50 μ g/ml y diluciones 1:100 de los siguientes suplementos de Gibco: Gluta-MAX, piruvato de sodio, penicilina/estreptomicina y aminoácidos no esenciales. El día 7, todas las células se recogieron y se lavaron, luego se sembraron a 100.000 células/pocillo en una placa de fondo plano de 96 pocillos. Se añadió el inhibidor de MEK GDC-0973 a una concentración final de 1 μ M, quimera inversa de humano/ratón anti-PDL1 o control de isotipo IgG2a de ratón antiambrosía (Genentech, n.º PUR 22251) a 10 μ g/ml. Antes de añadir a las células para obtener una concentración final de 1 μ g/ml cada una, el clon anti-CD40 FGK-45 (Genentech, lote n.º 68020-62) se entrecruzó con el receptor de Fc-gamma de IgG de cabra contra rata (Jackson ImmunoResearch) a temperatura ambiente durante una hora. Después de 48 horas de estimulación, las células se recolectaron y se transfirieron a una placa de fondo en V de 96 pocillos. Las muestras se bloquearon primero en el receptor Fc (anti-CD16/CD32 purificado de BD Biosciences, 5 μ g/ml) y luego se tiñeron con I-A/I-E-FITC, H-2Db/H-2Kb-biotina (seguida de estreptavidina-PE), CD11c APC, CD86-FITC y CD80-PE (todos de BD Biosciences). Se incluyó yoduro de propidio para excluir las células muertas. Las muestras se analizaron en un citómetro de flujo BD FACSCaliber y los datos se analizaron usando el programa informático FlowJo (Tree Star, Inc.). El tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 de bloqueo funcional solo incrementó moderadamente la expresión de MHC-I en la superficie de CD (figura 15A); sin embargo, no indujo la expresión de los marcadores superficiales de activación de CD MHC-II (figura 15B), CD80 (figura 15C) o CD86 (figura 15D). En contraste, el tratamiento con iMEK potenció la expresión de MHC-II, CD80 y CD86, así como de MHC-I. Curiosamente, el tratamiento combinado de iMEK y anticuerpos anti-PD-L1 no alteró los marcadores superficiales de activación de CD en comparación con iMEK solo. Se obtuvieron resultados similares con la adición de los anticuerpos anti-CD40 coestimuladores (figura 15E-H). Estos hallazgos novedosos indican que iMEK indujo la activación de las CD independientemente de su efecto sobre la expresión de PD-L1. En conjunto, estos resultados demuestran que iMEK incrementó la inmunogenicidad tumoral por mecanismos únicos de anti-PDL y proporcionan apoyo para combinar el bloqueo de PD-L1 e iMEK para potenciar la inmunidad antitumoral hasta un nivel óptimo.

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

La MEK1 mutante humana activada de forma constitutiva expresada en células de insecto se usa como fuente de actividad enzimática a una concentración final en el ensayo de cinasa de 62,5 nM.

El ensayo se lleva a cabo durante 30 minutos en presencia de ATP 50 μ M usando GST-ERK1 recombinante producida en *E. coli* como sustrato. La fosforilación del sustrato se detecta y cuantifica usando reactivos de HTRF suministrados por Cisbio. Estos consisten en un anticuerpo anti-GST conjugado con alofocianina (XL665) y un anticuerpo antifosfo (Thr202/Tyr204) ERK conjugado con criptato de europio. El anticuerpo antifosfo reconoce ERK1 doblemente fosforilada en Thr202 y Tyr204. Cuando ambos anticuerpos se unen a ERK1 (es decir, cuando el sustrato está fosforilado), se produce una transferencia de energía desde el criptato a la alofocianina después de la excitación a 340 nm, dando como resultado la emisión de una fluorescencia que es proporcional a la cantidad de sustrato fosforilado producido. La fluorescencia se detecta usando un fluorímetro de múltiples pocillos.

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

5 La CI_{50} se define como la concentración a la que un compuesto dado logra una inhibición del control de un 50 %. Los valores de CI_{50} se calculan usando el paquete de programas informáticos XLfit (versión 2.0.5).

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

10 La MEK1 mutante humana activada de forma constitutiva expresada en células de insecto se usa como fuente de actividad enzimática a una concentración final en el ensayo de cinasa de 15 nM.

15 El ensayo se lleva a cabo durante 30 minutos en presencia de ATP 50 μ M usando GST-ERK1 recombinante producida en *E. coli* como sustrato. La fosforilación del sustrato se detecta y cuantifica usando reactivos de HTRF suministrados por Cisbio. Estos consisten en un anticuerpo anti-GST conjugado con alofococianina (XL665) y un anticuerpo antifosfo (Thr202/Tyr204) ERK conjugado con criptato de europio. Estos se usan a una concentración final de 4 μ g/ml y 0,84 μ g/ml, respectivamente. El anticuerpo antifosfo reconoce ERK1 doblemente fosforilada en Thr202 y Tyr204. Cuando ambos anticuerpos se unen a ERK1 (es decir, cuando el sustrato está fosforilado), se produce una transferencia de energía desde el criptato a la alofococianina después de la excitación a 340 nm, dando como resultado la emisión de una fluorescencia que es proporcional a la cantidad de sustrato fosforilado producido.

20 La fluorescencia se detecta usando un fluorímetro de múltiples pocillos.

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

25 La CI_{50} se define como la concentración a la que un compuesto dado logra una inhibición del control de un 50 %. Los valores de CI_{50} se calculan usando el paquete de programas informáticos XLfit (versión 2.0.5).

LISTADO DE SECUENCIAS

5 <110> GENENTECH, INC.
 F. HOFFMANN-LA ROCHE AG
 MAEACKER, Heather
 IRVING, Bryan

10 <120> PROCEDIMIENTOS DE TRATAMIENTO DEL CÁNCER USANDO ANTAGONISTAS DE UNIÓN AL EJE
 DE PD-1 E INHIBIDORES DE MEK

<130> 146392010140

<140> Aún sin asignar
 <141> Conjuntamente con la presente

15 <150> US 61/574.406
 <151> 01/08/2011

<160> 27

20 <170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

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

25 <220>
 <223> Construcción sintética

30 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 6
 <223> Xaa = Asp o Gly

35 <400> 1
Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Ser Trp Ile His
1 5 10

40 <210> 2
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Construcción sintética

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

50 <220>
 <221> VARIANTE

55 <222> 10
 <223> Xaa = Thr o Ser

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

60

<210> 3
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 3
Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr
 10 **1** **5**
 <210> 4
 <211> 25
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 20 <400> 4
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 **5** **10** **15**
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 20 **25**
 <210> 5
 <211> 13
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción sintética
 30 <400> 5
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 1 **5** **10**
 <210> 6
 35 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <223> Construcción sintética
 <400> 6
Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
 1 **5** **10** **15**
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 **25** **30**
 45 <210> 7
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Construcción sintética
 <400> 7

	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ala
	1				5					10	
	<210>	8									
	<211>	11									
5	<212>	PRT									
	<213>	Secuencia artificial									
	<220>										
	<223>	Construcción sintética									
10	<220>										
	<221>	VARIANTE									
	<222>	5									
	<223>	Xaa = Asp o Val									
15	<220>										
	<221>	VARIANTE									
	<222>	6									
20	<223>	Xaa = Val o Ile									
	<220>										
	<221>	VARIANTE									
25	<222>	7									
	<223>	Xaa = Ser o Asn									
	<220>										
	<221>	VARIANTE									
30	<222>	9									
	<223>	Xaa = Ala o Phe									
	<220>										
35	<221>	VARIANTE									
	<222>	10									
	<223>	Xaa = Val o Leu									
40	<400>	8									
	Arg	Ala	Ser	Gln	Xaa	Xaa	Xaa	Thr	Xaa	Xaa	Ala
	1				5					10	
	<210>	9									
	<211>	7									
45	<212>	PRT									
	<213>	Secuencia artificial									
	<220>										
	<223>	Construcción sintética									
50	<220>										
	<221>	VARIANTE									
	<222>	4									
55	<223>	Xaa = Phe o Thr									
	<220>										
	<221>	VARIANTE									
60	<222>	6									
	<223>	Xaa = Tyr o Ala									
	<400>	9									

Ser Ala Ser Xaa Leu Xaa Ser
1 5

5 <210> 10
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<220>
 <221> VARIANTE

15 <222> 3
 <223> Xaa = Tyr, Gly, Phe o Ser

<220>
 <221> VARIANTE

20 <222> 4
 <223> Xaa = Leu, Tyr, Phe o Trp

<220>
 <221> VARIANTE

25 <222> 5
 <223> Xaa = Tyr, Asn, Ala, Thr, Gly, Phe o Ile

<220>
 <221> VARIANTE

30 <222> 6
 <223> Xaa = His, Val, Pro, Thr o Ile

<220>
 <221> VARIANTE

35 <222> 8
 <223> Xaa = Ala, Trp, Arg, Pro o Thr

40 <400> 10
Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr
1 5

45 <210> 11
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

50 <400> 11
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

55 <210> 12
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

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

5
 <210> 13
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10
 <220>
 <223> Construcción sintética

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

15
 <210> 14
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20
 <220>
 <223> Construcción sintética

25
 <400> 14
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
1 5 10

30
 <210> 15
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35
 <220>
 <223> Construcción sintética

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

40
 <210> 16
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45
 <220>
 <223> Construcción sintética

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

50
 <210> 17
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55

<220>
 <223> Construcción sintética

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

<210> 18
 <211> 7
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

15 <400> 18
Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
 1 **5**

<210> 19
 <211> 9
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

25 <400> 19
Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala Thr
 1 **5**

<210> 20
 30 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 35 <223> Construcción sintética

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

40 <210> 21
 <211> 108
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

5

<400> 21

```

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

<210> 22

10 <211> 440

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Construcción sintética

<400> 22

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Asp	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Ile	Thr	Phe	Ser	Asn	Ser
			20					25					30		
Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Val	Ile	Trp	Tyr	Asp	Gly	Ser	Lys	Arg	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Phe
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Thr	Asn	Asp	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
			100					105						110	
Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser
		115					120					125			
Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp
	130					135					140				
Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr
145					150					155					160
Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr
				165					170					175	

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
 180 185 190
 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
 195 200 205
 Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 210 215 220
 Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 225 230 235 240
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 245 250 255
 Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
 260 265 270
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 275 280 285
 Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 290 295 300
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
 305 310 315 320
 Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 325 330 335
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
 340 345 350
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 355 360 365
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 370 375 380
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 385 390 395 400
 Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
 405 410 415
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 420 425 430
 Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440

<210> 23
 <211> 214
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

10 <400> 23

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

5 <210> 24
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética

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

<210> 25
 <211> 11
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

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

15 <210> 26
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción sintética

20 <400> 26
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

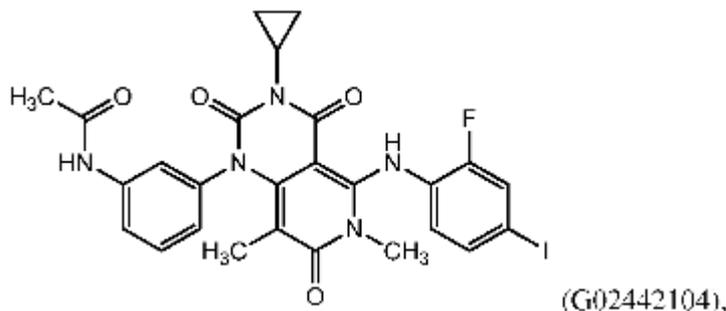
- <210> 27
- <211> 214
- <212> PRT
- 5 <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Construcción sintética

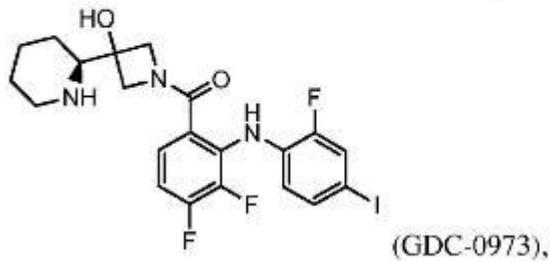
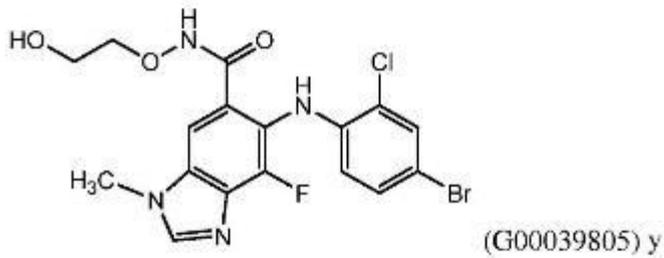
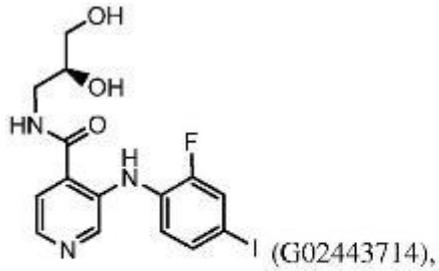
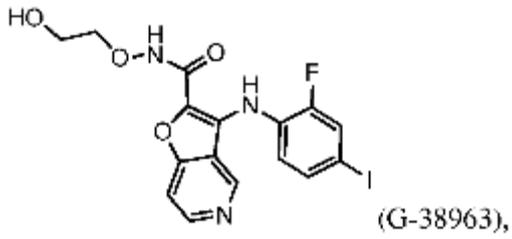
10 <400> 27

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Ser	Thr	Ala
			20					25					30		
Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Ser	Ala	Ser	Phe	Leu	Tyr	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75					80
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Leu	Tyr	His	Pro	Ala
				85						90				95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
			100					105					110		
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
		115				120						125			
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
						135					140				
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
145					150					155					160
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
				165					170					175	
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
			180					185					190		
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser
		195					200						205		
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys										
	210														

REIVINDICACIONES

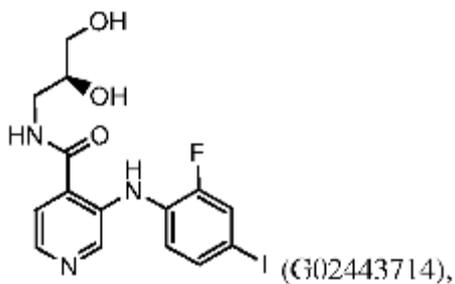
1. Un anticuerpo anti-PD-L1 antagonista y un inhibidor de MEK para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión del cáncer en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del anticuerpo anti-PD-L1 y una cantidad eficaz del inhibidor de MEK, en el que el anticuerpo anti-PD-L1 comprende una cadena pesada que comprende una secuencia HVR-H1 de SEQ ID NO:15, una secuencia HVR-H2 de SEQ ID NO:16 y una secuencia HVR-H3 de SEQ ID NO:3; y una cadena ligera que comprende una secuencia HVR-L1 de SEQ ID NO:17, una secuencia HVR-L2 de SEQ ID NO:18 y una secuencia HVR-L3 de SEQ ID NO:19.
2. Una cantidad eficaz de una combinación de un anticuerpo anti-PD-L1 antagonista y un inhibidor de MEK para su uso en la potenciación de la función inmunitaria de un individuo que tiene cáncer, en el que el anticuerpo anti-PD-L1 comprende una cadena pesada que comprende una secuencia HVR-H1 de SEQ ID NO:15, una secuencia HVR-H2 de SEQ ID NO:16 y una secuencia HVR-H3 de SEQ ID NO:3; y una cadena ligera que comprende una secuencia HVR-L1 de SEQ ID NO:17, una secuencia HVR-L2 de SEQ ID NO:18 y una secuencia HVR-L3 de SEQ ID NO:19.
3. El anticuerpo anti-PD-L1 antagonista y un inhibidor de MEK para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que el anticuerpo anti-PD-L1 inhibe la unión de PD-L1 a PD-1.
4. El anticuerpo anti-PD-L1 antagonista y un inhibidor de MEK para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que el anticuerpo anti-PD-L1 inhibe la unión de PD-L1 a B7-1.
5. El anticuerpo anti-PD-L1 antagonista e inhibidor de MEK para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que el anticuerpo anti-PD-L1 antagonista inhibe la unión de PD-L1 tanto a PD-1 como a B7-1.
6. El anticuerpo anti-PD-L1 antagonista e inhibidor de MEK para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que el anticuerpo anti-PD-L1 antagonista comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.
7. El inhibidor de MEK y el anticuerpo anti-PD-L1 antagonista para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1-6, en el que el inhibidor de MEK es un inhibidor competitivo de MEK.
8. El inhibidor de MEK y el anticuerpo anti-PD-L1 antagonista para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1-6, en el que el inhibidor de MEK es más selectivo frente a una mutación activadora de KRAS.
9. El inhibidor de MEK y el anticuerpo anti-PD-L1 antagonista para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1-6, en el que el inhibidor de MEK es un inhibidor alostérico de MEK.
10. El inhibidor de MEK y el anticuerpo anti-PD-L1 antagonista para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1-6, en el que el inhibidor de MEK es más selectivo frente a una mutación activadora de BRAF.
11. El inhibidor de MEK y el anticuerpo anti-PD-L1 antagonista para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1-6, en el que el inhibidor de MEK se selecciona del grupo que consiste en:

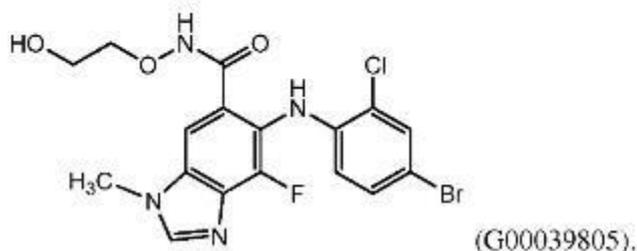
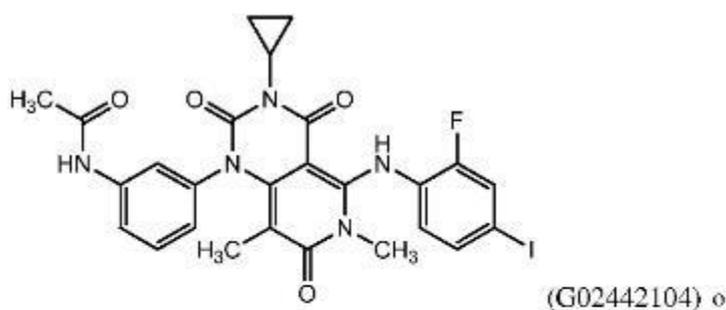




o a una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 5
12. El inhibidor de MEK y el anticuerpo anti-PD-L1 antagonista para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el inhibidor de MEK es GDC-0973, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 10 13. El inhibidor de MEK y el anticuerpo anti-PD-L1 antagonista para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1-6, en el que el inhibidor de MEK es



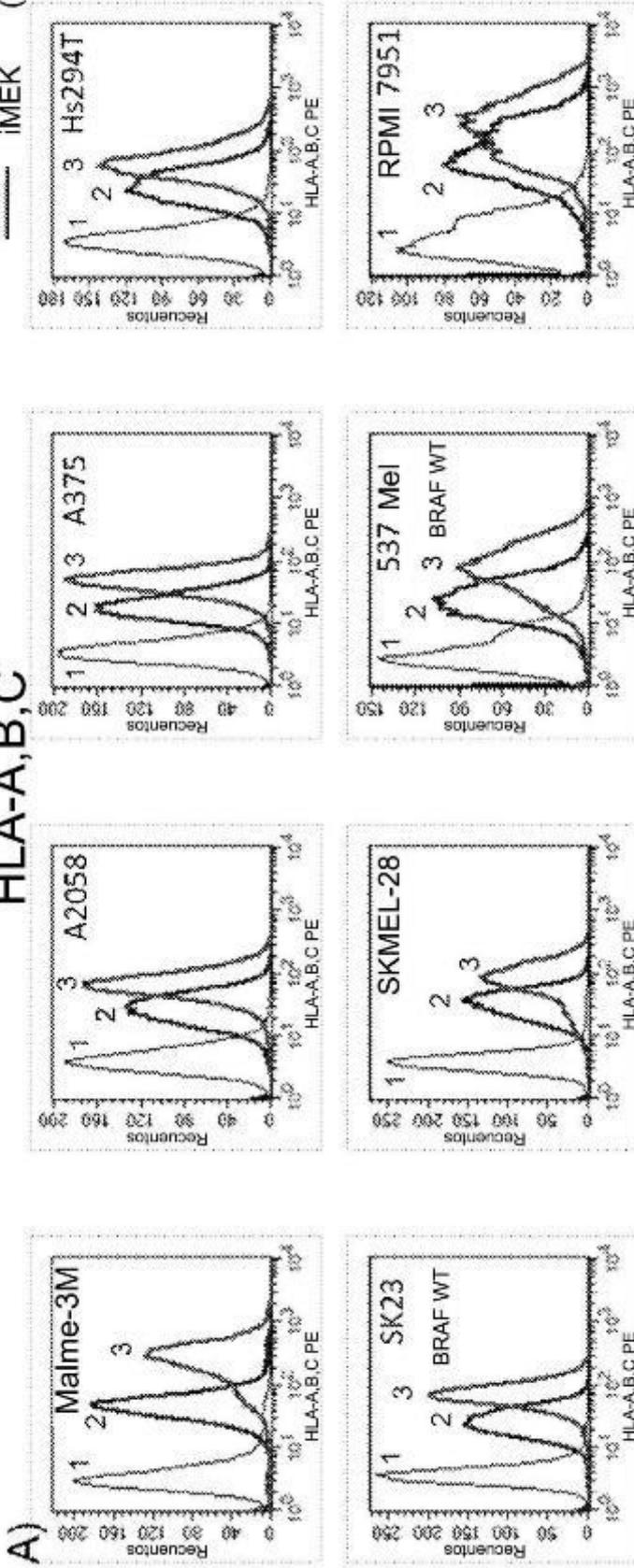


- 5 14. El inhibidor de MEK y el anticuerpo anti-PD-L1 antagonista para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1-13, en el que el inhibidor de MEK se administra de forma continua, intermitente o antes del anticuerpo anti-PD-L1 antagonista, simultáneamente al anticuerpo anti-PD-L1 antagonista o después del anticuerpo anti-PD-L1 antagonista.
- 10 15. El anticuerpo anti-PD-L1 antagonista y un inhibidor de MEK para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión del cáncer de acuerdo con el uso de las reivindicaciones 1-14, en el que el cáncer es cáncer colorrectal, melanoma, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de páncreas, una neoplasia hemática o carcinoma de células renales.
- 15 16. El anticuerpo anti-PD-L1 antagonista y un inhibidor de MEK para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión del cáncer de acuerdo con el uso de la reivindicación 15, en el que el cáncer es cáncer de pulmón no microcítico.
- 20 17. El anticuerpo anti-PD-L1 antagonista y un inhibidor de MEK para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión del cáncer de acuerdo con el uso de la reivindicación 15, en el que el cáncer es cáncer de mama.
- 25 18. El anticuerpo anti-PD-L1 antagonista y un inhibidor de MEK para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión del cáncer de acuerdo con el uso de la reivindicación 15, en el que el cáncer es un melanoma de BRAF natural.
- 30 19. El anticuerpo anti-PD-L1 antagonista y el inhibidor de MEK para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1-18, en el que el anticuerpo anti-PD-L1 es un fragmento de anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en fragmentos Fab, Fab'-SH, Fv, scFv y (Fab')₂.
- 35 20. El anticuerpo anti-PD-L1 antagonista y un inhibidor de MEK para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1-19, en el que el anticuerpo anti-PD-L1 se administra por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, tópica, oral, transdérmica, intraperitoneal, intraorbital, por implantación, por inhalación, por vía intratecal, intraventricular o intranasal.
21. Un kit que comprende un anticuerpo anti-PD-L1 antagonista y un inhibidor de MEK para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1-20 y un prospecto que comprende instrucciones para usar el anticuerpo anti-PD-L1 en combinación con el inhibidor de MEK para su uso en el tratamiento o el retraso de la progresión del cáncer en un individuo.

— Isotipo (1)
 — Vehículo (2)
 — iMEK (3)

Figura 1

HLA-A,B,C



H-2D

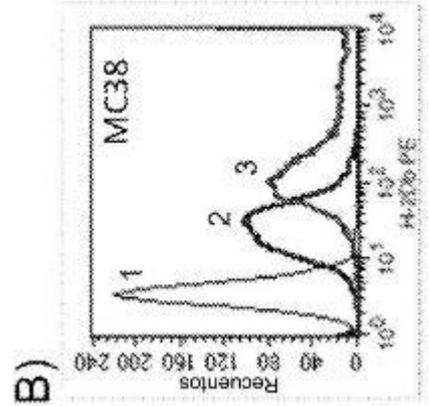


Figura 2

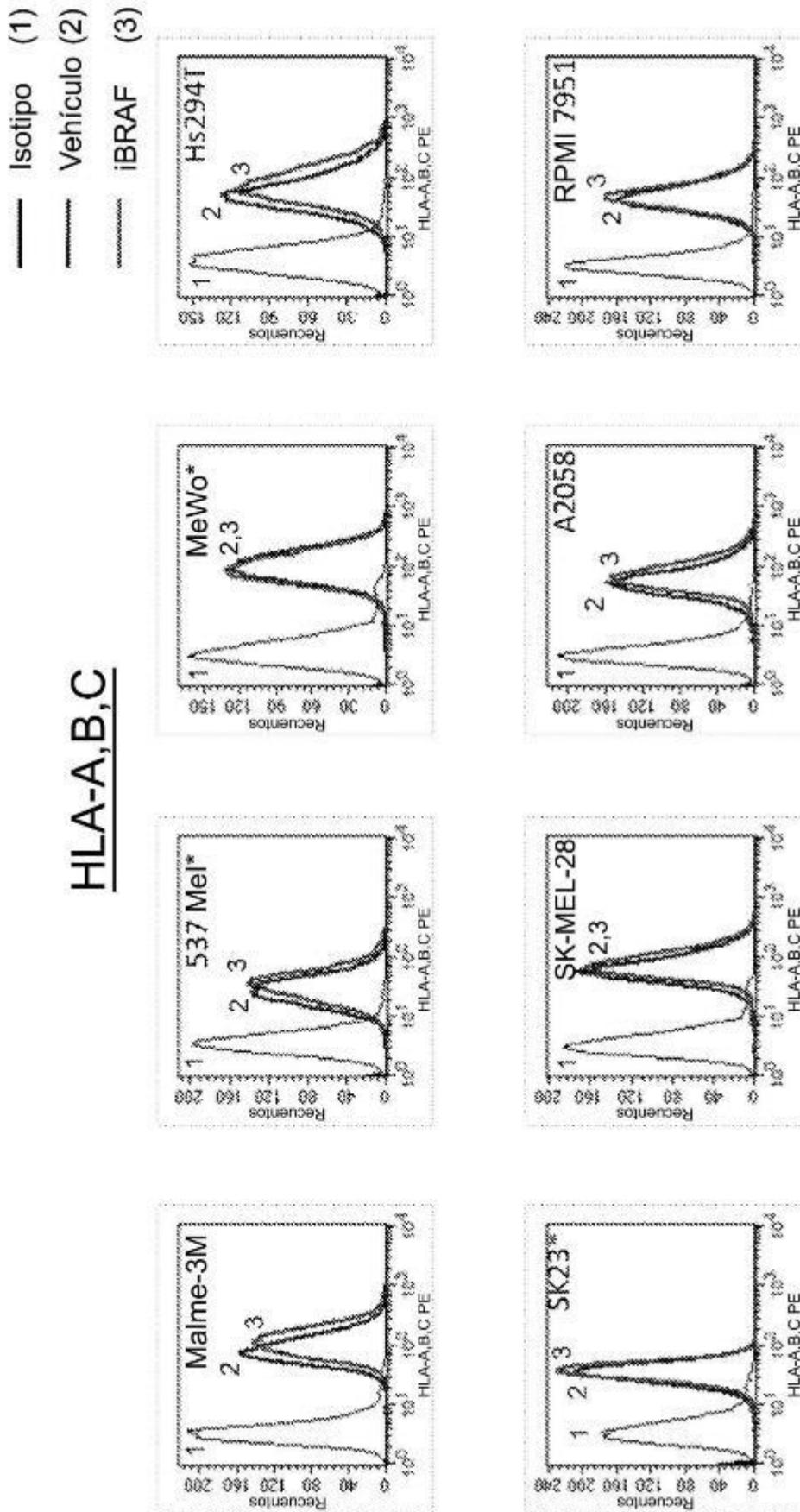


Figura 3

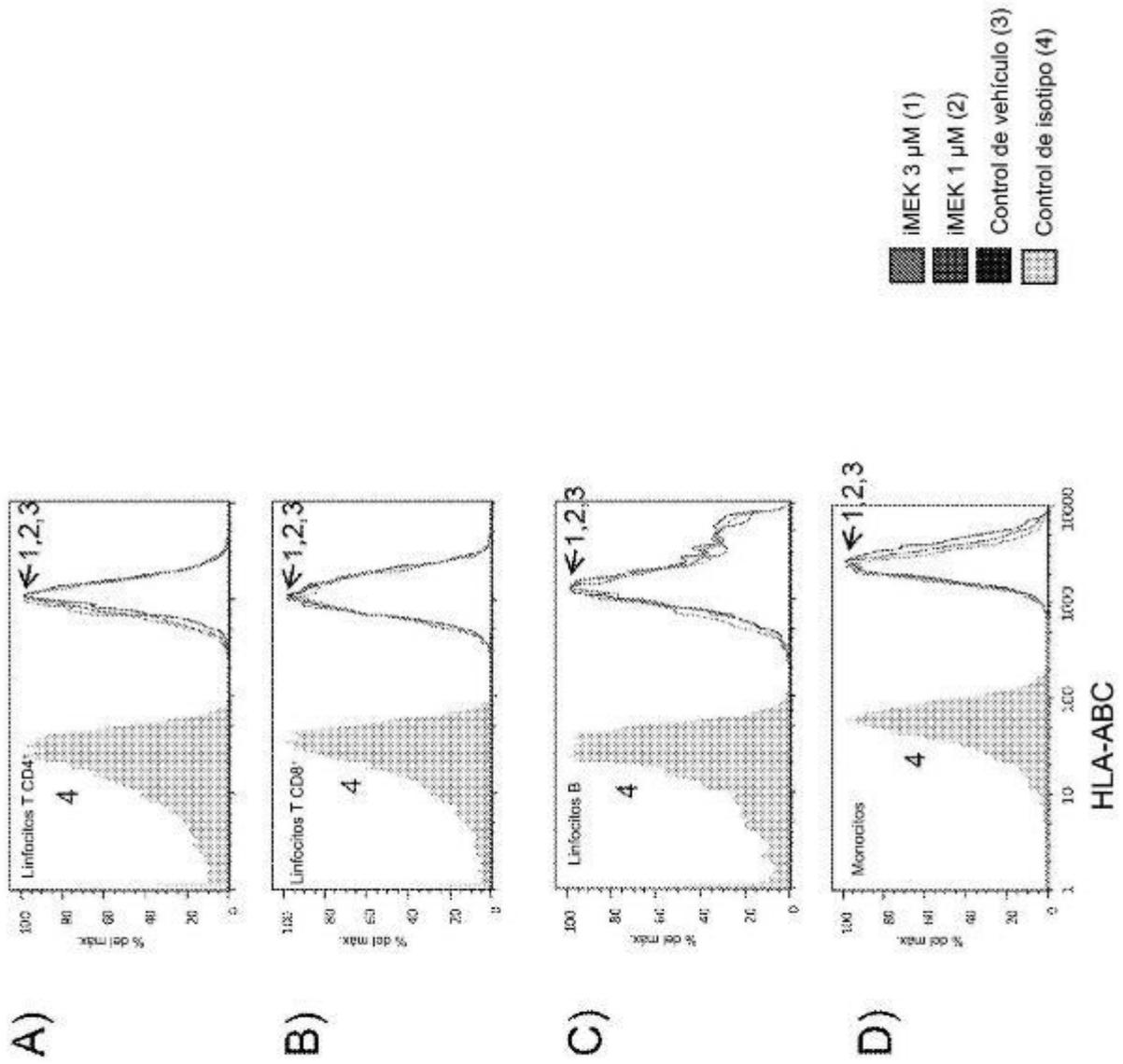


Figura 4

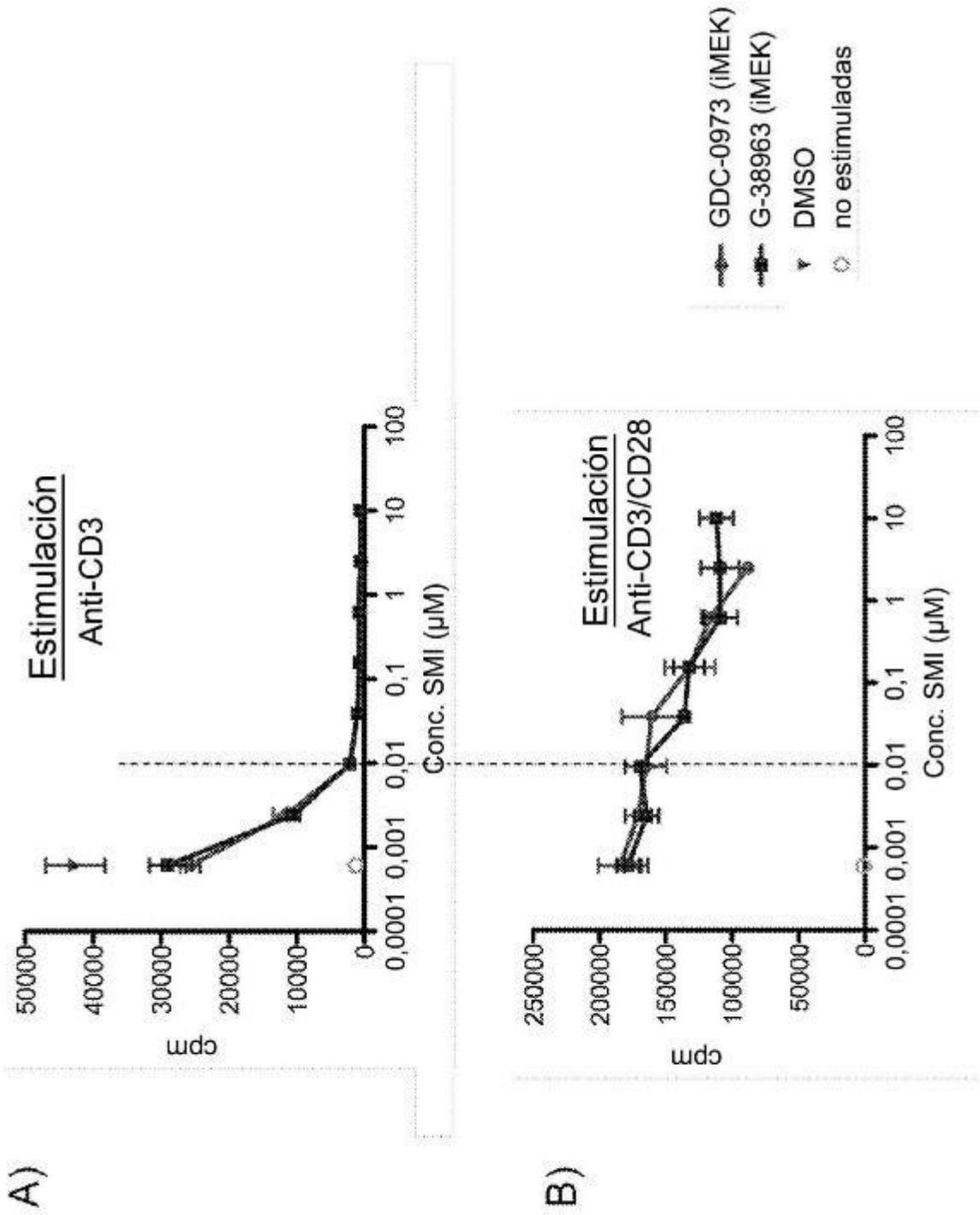


Figura 6

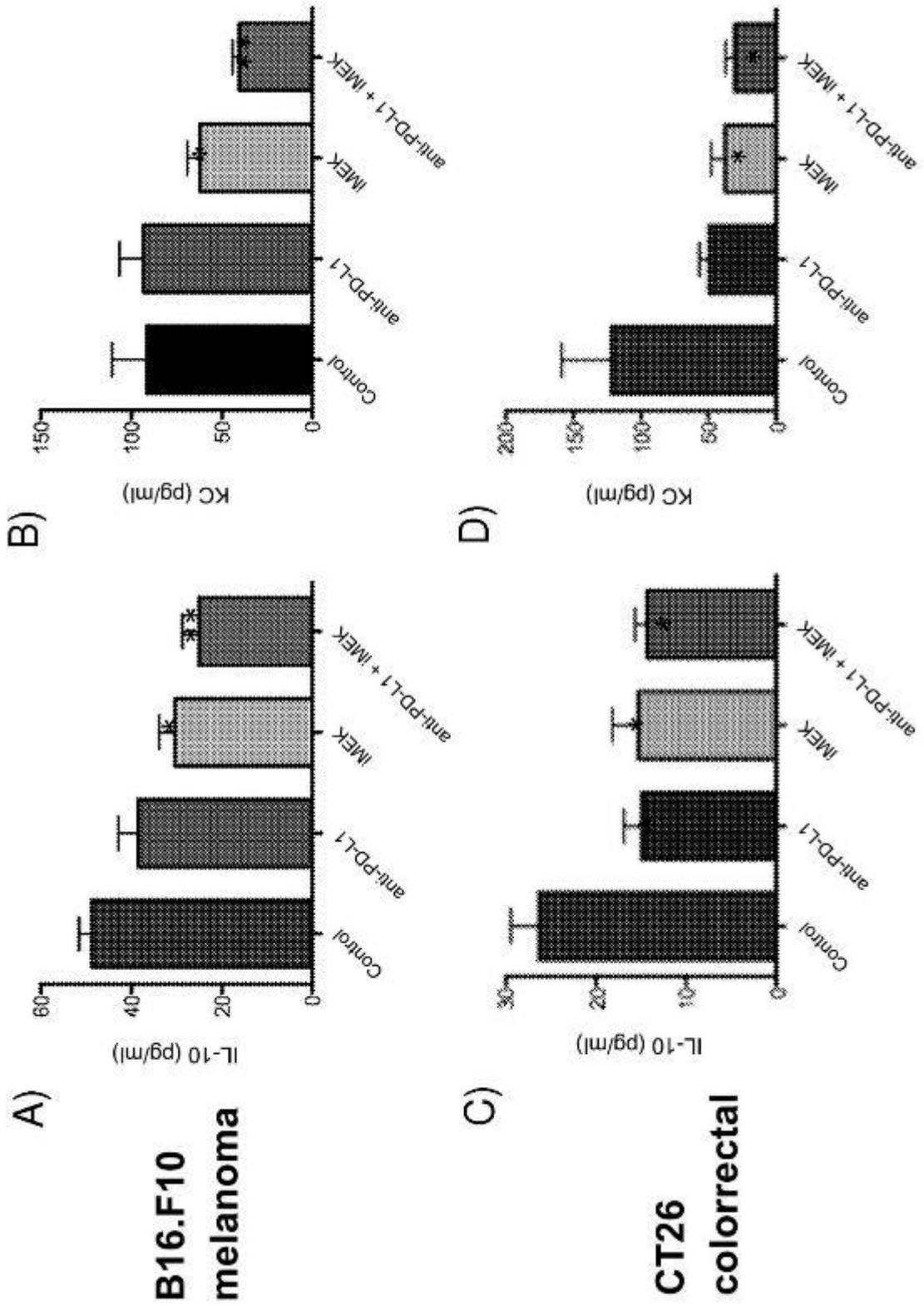


Figura 7

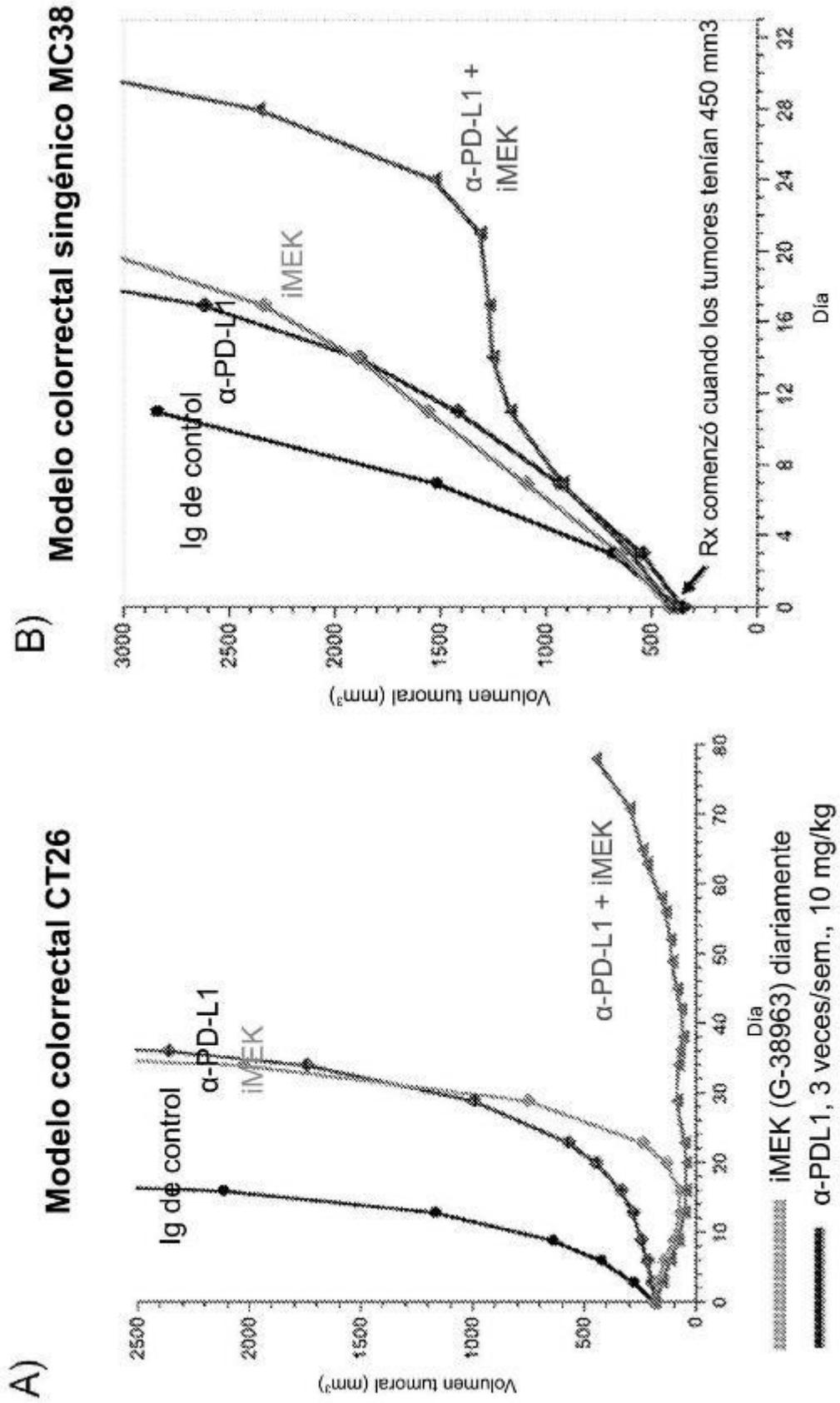


Figura 8

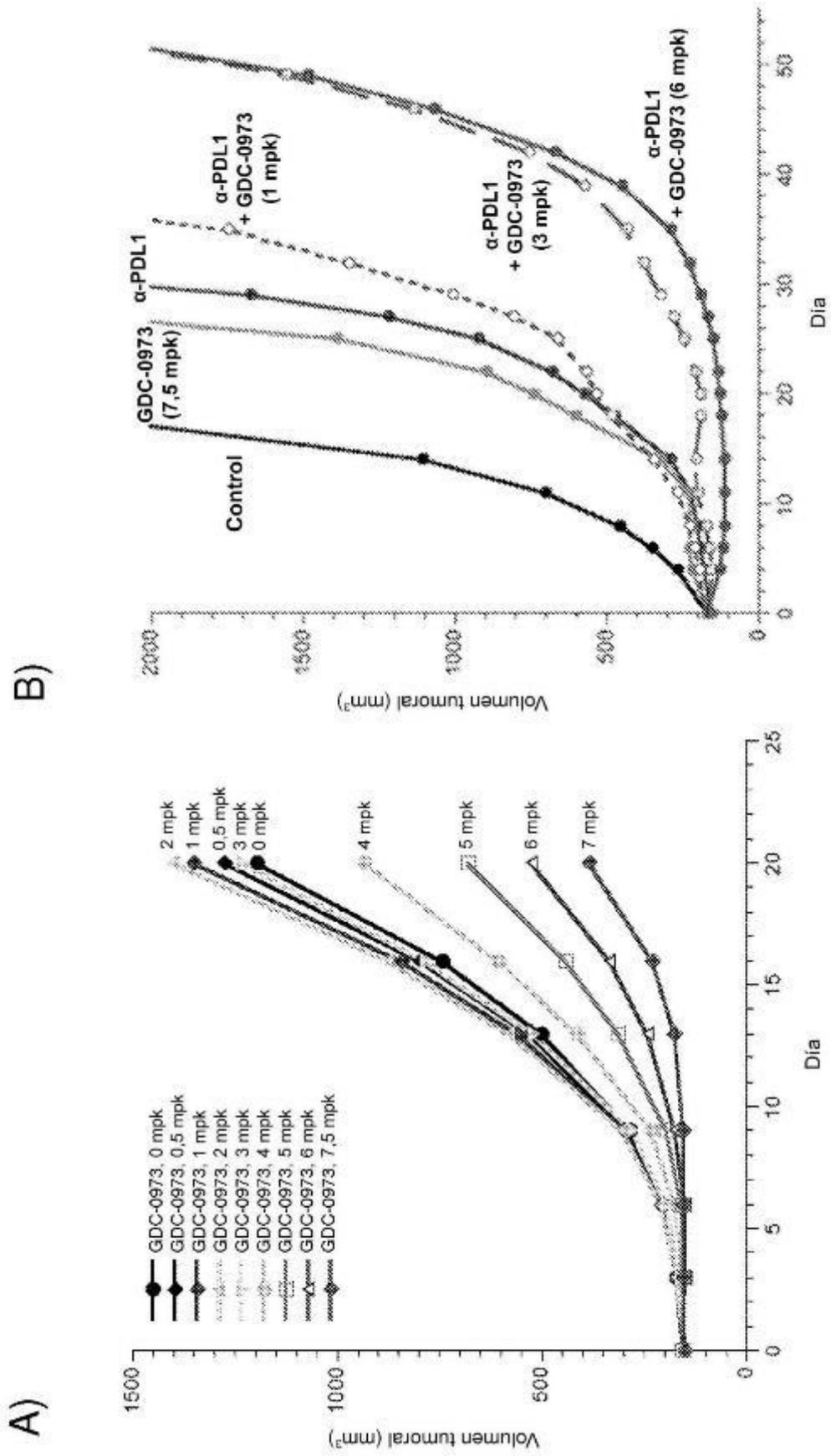
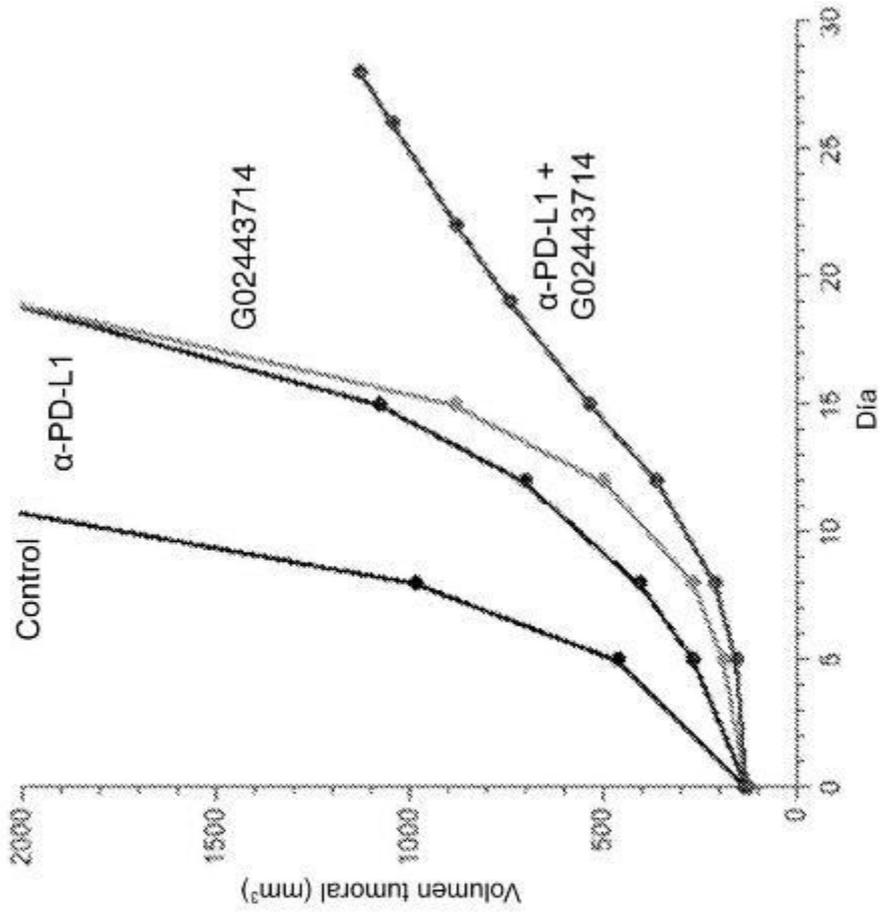
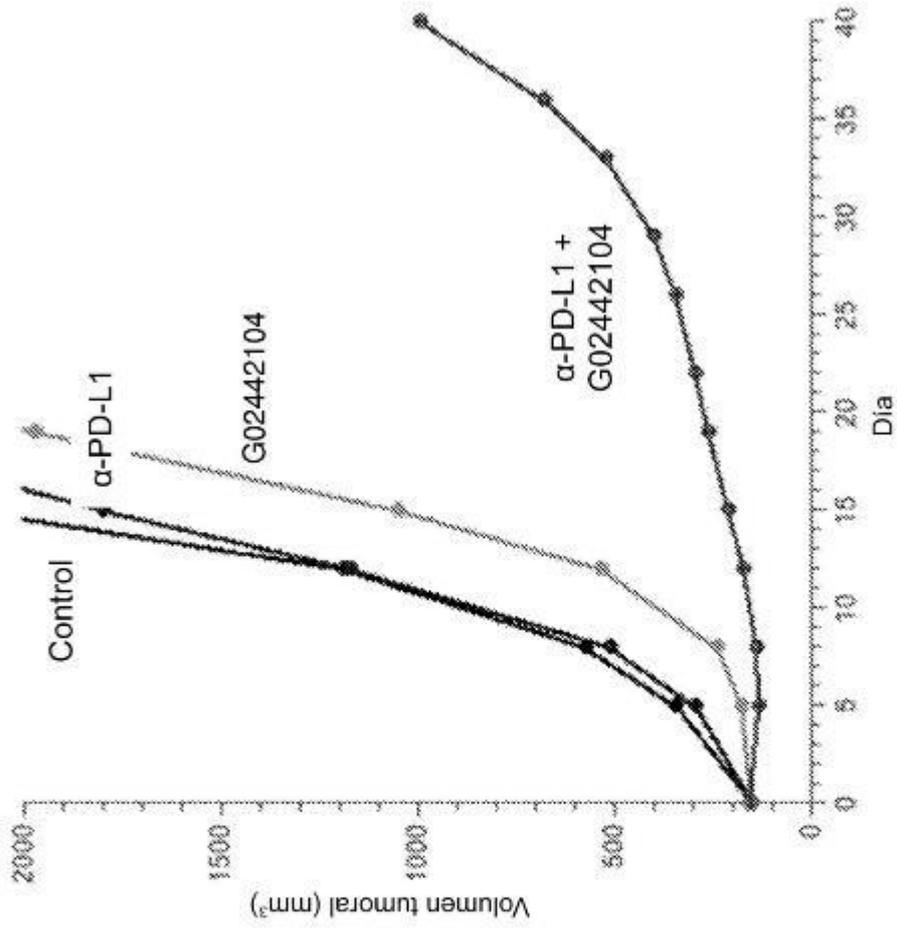


Figura 9



Control: THP5X = 6,5 días, 0 % ICT, 0 % RP
 anti-PD-L1: THP5X = 12 días, 60 % ICT, 0 % RP
 G02443714: THP5X = 14 días, 75 % ICT, 0 % RP
 anti-PD-L1 + G02443714: THP5X = 18 días, 85 % ICT, 20 % RP

Figura 10



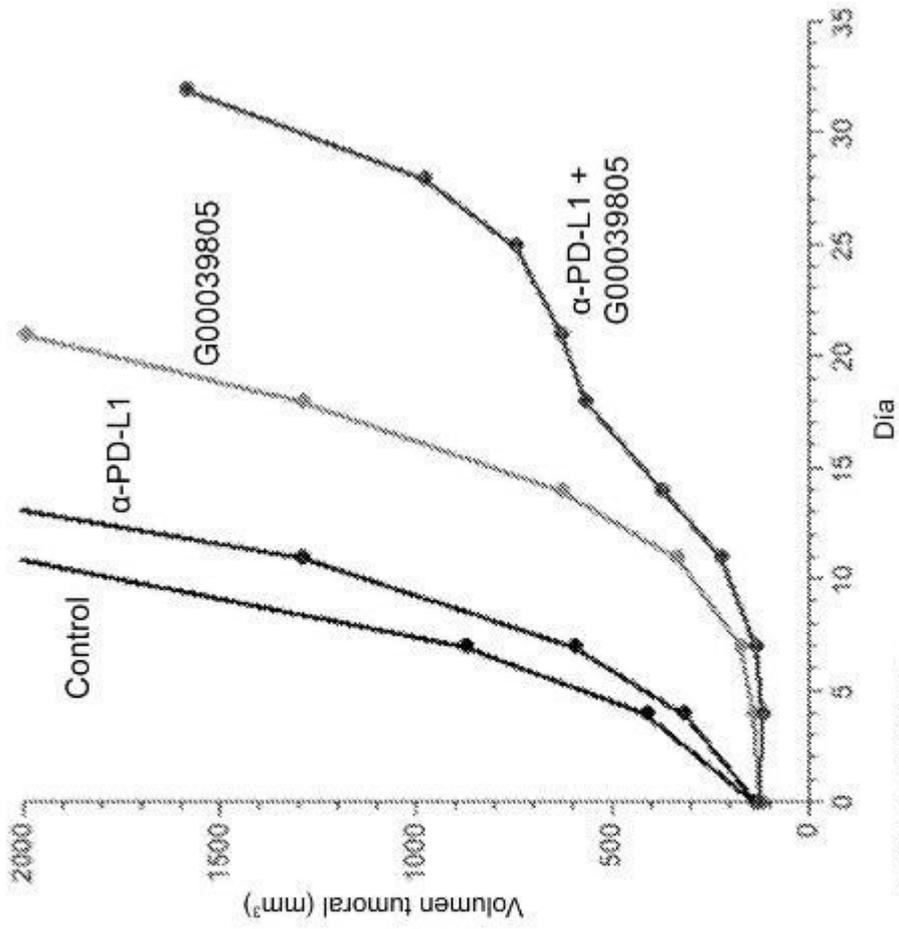
Control: THP5X = 10 días, 0 % ICT, 0 % RP, 0 % RC

anti-PD-L1: THP5X = 10 días, -33 % ICT, 10 % RP, 0 % RC

G02442104: THP5X = 14 días, 1 % ICT, 0 % RP, 0 % RC

anti-PD-L1 + G02442104: THP5X = 37,5 días, 93 % ICT, 40% RP, 10 % RC

Figura 11



Control: THP5X = 6 días, 0 % ICT, 0 % RP
 anti-PD-L1: THP5X = 7,5 días, 6 % ICT, 0 % RP
 G00039805: THP5X = 14,5 días, 47 % ICT, 10 % RP
 anti-PD-L1 + G00039805: THP5X = 22 días, 80 % ICT, 30 % RP

Figura 12

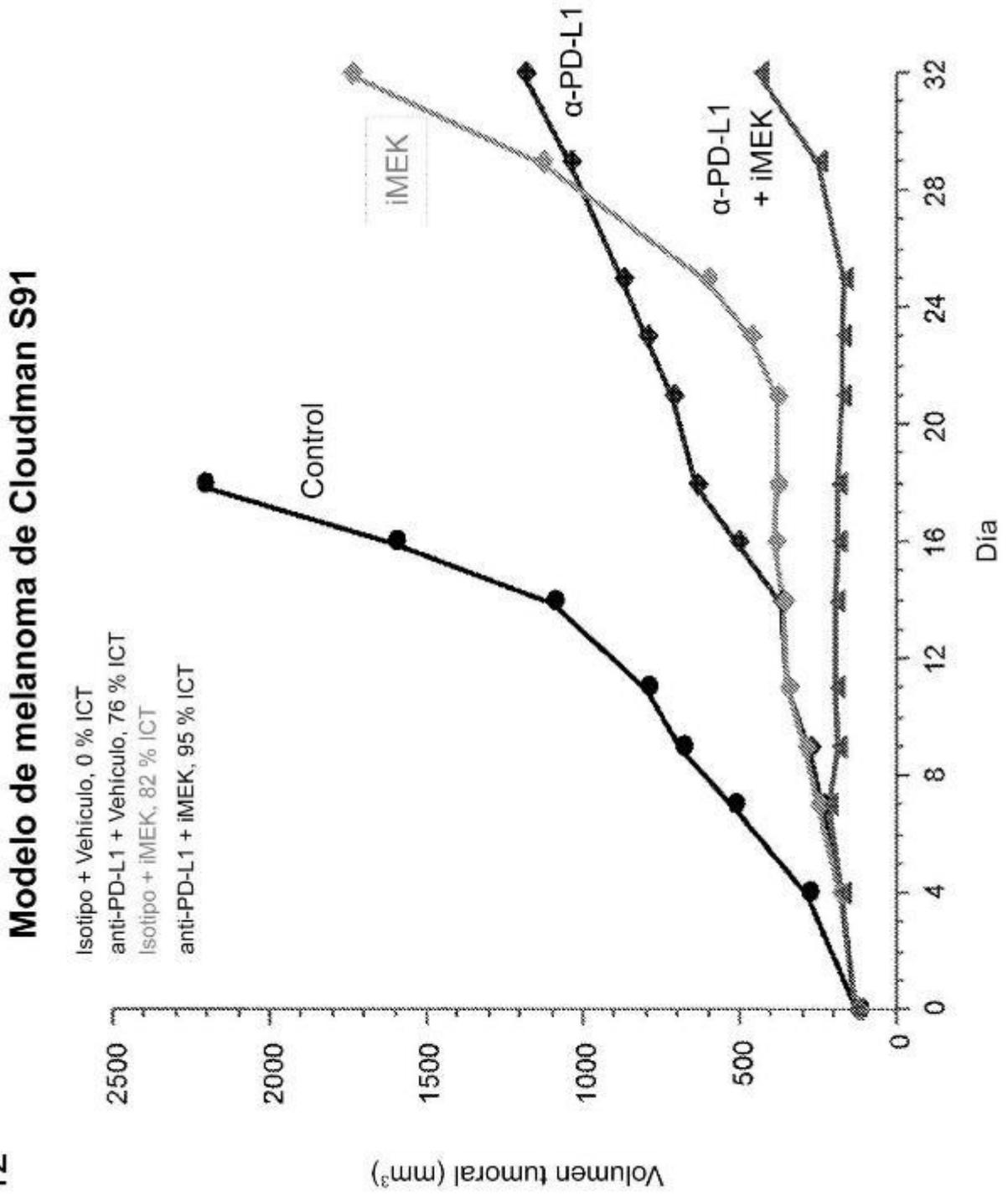


Figura 13

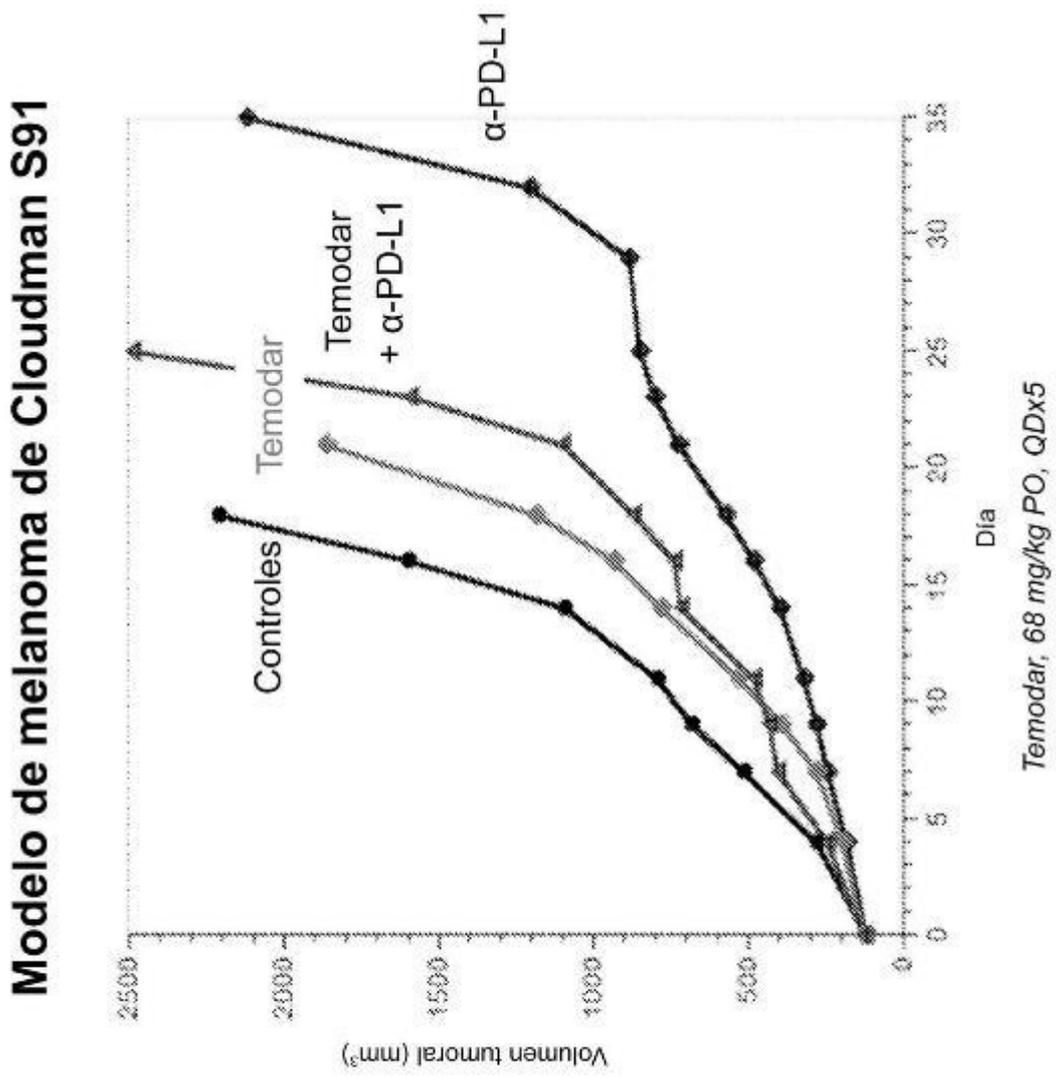


Figura 14

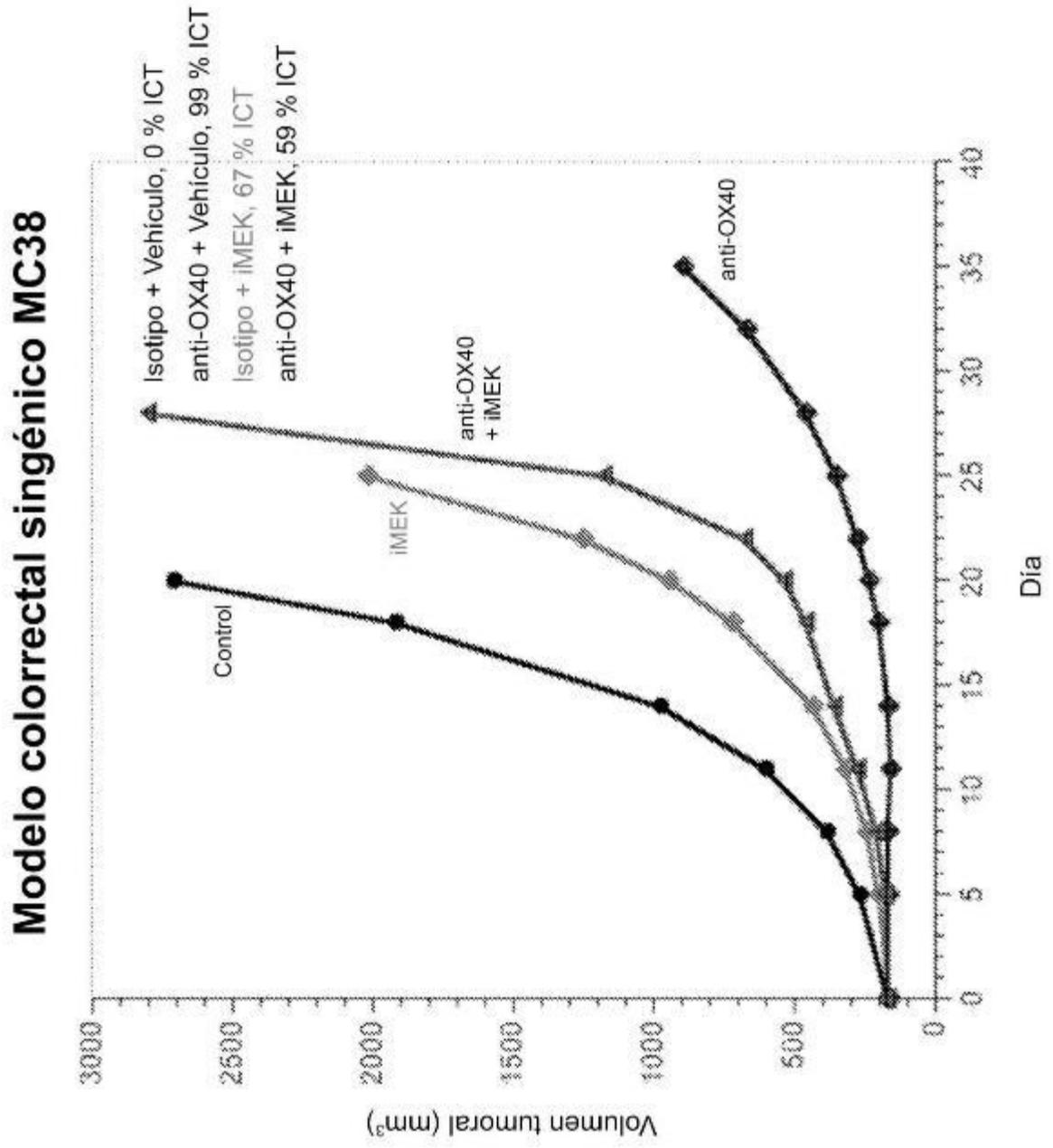


Figura 15

