

Traduzione del testo del brevetto europeo n° 3041828

Titolare: **Aurigene Discovery Technologies Limited**

Titolo: **Derivati di 1,3,4-ossadiazolo e 1,3,4-tiadiazolo come immunomodulatori**

5

DESCRIZIONE

La presente domanda di brevetto rivendica il beneficio del diritto di priorità sulla domanda di brevetto indiano provvisoria n° 4012/CHE/2013, depositata in data 06 settembre 2013, che è qui incorporata per riferimento

CAMPO TECNICO

- 10 La presente invenzione si riferisce a composti di 1,3,4-ossadiazolo e 1,3,4-tiadiazolo terapeuticamente utili come immunomodulatori. L'invenzione si riferisce anche a composizioni farmaceutiche comprendenti i suddetti composti di 1,3,4-ossadiazolo e 1,3,4-tiadiazolo come agenti terapeutici.

SFONDO DELL'INVENZIONE

- 15 Morte cellulare programmata-1 (PD-1) è un membro della superfamiglia di CD28 che veicola segnali negativi all'interazione con i suoi due ligandi, PD-L1 o PD-L2. PD-1 e suoi ligandi sono largamente espressi e esercitano una gamma più ampia di ruoli immunoregolatori nell'attivazione e tolleranza di cellule T rispetto a altri membri CD28. PD-1 e suoi ligandi sono implicati nell'attenuazione di immunità infettiva e immunità tumorale, e nell'agevolare la
- 20 progressione di infezioni croniche e tumori. L'importanza biologica di PD-1 e suo ligando suggerisce il potenziale terapeutico di manipolazione della via (pathway) di PD-1 contro varie malattie umane (Ariel Pedoeem et al., Curr Top Microbiol Immunol. (2011); 350:17-37).

- L'attivazione e la disfunzione di cellule T si basa su recettori diretti e modulati. Sulla base del loro esito funzionale, molecole di co-segnalazione possono essere suddivise come co-stimolatori
- 25 e co-inibitori, che controllano positivamente e negativamente l'innesco, la crescita e la

differenziazione e la maturazione funzionale di una risposta di cellule T (Li Shi, et al., Journal of Hematology & Oncology 2013, 6:74).

Anticorpi terapeutici che bloccano la via (pathway) di checkpoint immunitario di proteina di morte cellulare programmata-1 (PD-1) impediscono la sottoregolazione di cellule T e
5 promuovono risposte immunitarie contro cancro. Numerosi inibitori della via (pathway) di PD-1 hanno mostrato una robusta attività in varie fasi di trial clinici in corso (RD Harvey, Clinical Pharmacology & Therapeutics (2014); 96 2, 214-223).

Morte programmata-1 (PD-1) è un co-recettore che è espresso prevalentemente da cellule T. Il legame di PD-1 a suoi ligandi, PD-L1 o PD-L2, è vitale per la regolazione fisiologica del sistema
10 immunitario. Un ruolo funzionale importante della via (pathway) di segnalazione di PD-1 è l'inibizione di cellule T autoreattive, che servono a proteggere contro malattie autoimmuni. L'eliminazione della via (pathway) di PD-1 può pertanto dare luogo alla rottura di tolleranza immunitaria che può alla fine portare allo sviluppo di autoimmunità patogena. Viceversa, cellule tumorali possono a volte cooptare per la via (pathway) di PD-1 per eludere meccanismi di
15 immunosorveglianza. Pertanto, il blocco della via (pathway) di PD-1 è diventato un attraente bersaglio in terapia contro il cancro. Approcci correnti includono sei agenti che sono anticorpi neutralizzanti mirati a PD-1 e PD-L1 o proteine di fusione. Più di quaranta trial clinici sono in corso per definire meglio il ruolo di blocco di PD-1 in svariati tipi di tumori (Hyun-Tak Jin et al., Clinical Immunology (Amsterdam, Netherlands) (2014), 153(1), 145-152).

20 Le domande di brevetto internazionali WO 01/14557, WO 02/079499, WO 2002/086083, WO 03/042402, WO 2004/004771, WO 2004/056875, WO2006121168, WO2008156712, WO2010077634, WO2011066389, WO2014055897, WO2014059173, WO2014100079 e il brevetto statunitense US08735553 riportano anticorpi inibitori di PD-1 o PD-L1 o proteine di fusione.

Inoltre, le domande internazionali WO2011161699, WO2012/168944, WO2013144704 e WO2013132317 riportano peptidi o composti peptidomimetici che sono in grado di sopprimere e/o inibire la via (pathway) di segnalazione di morte cellulare programmata 1 (PD1).

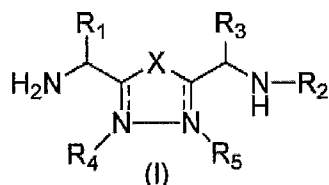
Inoltre, la Domanda di Brevetto Internazionale WO 2015/033299 descrive derivati di 1,2,4-ossadiazolo che sono immunomodulatori della via (pathway) di PD-1. I composti inibiscono un segnale immunosoppressivo indotto dovuto a PD-1, PD-L1 o PD-L2. Inoltre, Ardestani et al. (Experimental Parasitology, 132:116-122, 2012) hanno dimostrato che, sotto condizioni di stress, specie *Leishmania* possono presentare aspetti caratteristici di necrosi o morte cellulare programmata in mammifero. Nitroeteroaril-1,3,4-tiadiazoli inducevano morte cellulare in *Leishmania major*.

Permane tuttavia una esigenza di immunomodulatori più potenti, migliori e/o selettivi della via (pathway) di PD-1. La presente invenzione fornisce composti di 1,3,4-ossadiazolo e 1,3,4-tiadiazolo che sono in grado di sopprimere e/o inibire la via (pathway) di segnalazione di morte cellulare programmata 1 (PD1).

15 SOMMARIO DELL'INVENZIONE

Conformemente alla presente invenzione, sono forniti composti di 1,3,4-ossadiazolo e 1,3,4-tiadiazolo o un sale farmaceuticamente accettabile o uno stereoisomero di essi in grado di sopprimere e/o inibire la via (pathway) di segnalazione di morte cellulare programmata 1 (PD1).

In un aspetto, la presente invenzione fornisce un composto di 1,3,4-ossadiazolo e 1,3,4-tiadiazolo di formula (I):



nella quale

R₁ è una catena laterale di un amminoacido scelto tra Ser, Thr, Phe, Ala o Asn;

X è S o R;

R₂ è idrogeno o -CO-Aaa;

Aaa è un residuo amminoacidico scelto tra Ser, Asn o Thr; in cui una estremità C-terminale di esso è una estremità terminale libera, è ammidata o è esterificata;

5 R₃ è una catena laterale di un amminoacido scelto tra Ser, Ala, Glu, Gln, Asn o Asp;

----- è un legame opzionale;

R₄ e R₅ indipendentemente sono idrogeno o assenti;

o un sale farmaceuticamente accettabile o uno stereoisomero di esso.

10 In un ulteriore aspetto della presente invenzione, essa si riferisce a una composizione farmaceutica comprendente un composto di formula (I) o un sale farmaceuticamente accettabile o uno stereoisomero, e a loro procedimenti di preparazione.

15 In un altro aspetto della presente invenzione, essa fornisce l'uso di composti di 1,3,4-ossadiazolo e 1,3,4-tiadiazolo di formula (I) o un loro sale farmaceuticamente accettabile o uno stereoisomero di essi, che sono in grado di sopprimere e/o inibire la via (pathway) di segnalazione di morte cellulare programmata 1 (PD1).

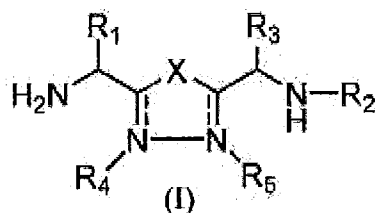
DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

20 La presente invenzione fornisce composti di 1,3,4-ossadiazolo e 1,3,4-tiadiazolo come agenti terapeutici utili per il trattamento di disturbi tramite immunopotenziamento comprendente l'inibizione di segnale immunosoppressivo indotto dovuto a PD-1, PD-L1, o PD-L2 e terapie di utilizzo degli stessi.

25 Ciascuna forma di realizzazione è fornita a titolo esplicativo dell'invenzione, e non a titolo limitativo della stessa. Per esempio, caratteristiche illustrate o descritte come parte di una forma di realizzazione possono essere utilizzate su un'altra forma di realizzazione per ottenere una ulteriore forma di realizzazione. Quindi, resta inteso che la presente invenzione copre tali modifiche e variazioni quando rientrano nella portata delle rivendicazioni allegate. Altri oggetti,

caratteristiche e aspetti della presente invenzione sono descritti nella, o sono evidenti dalla, descrizione dettagliata seguente. Resta sottinteso ad un comune esperto nel ramo che la presente discussione è una descrizione soltanto di forme di realizzazione esemplificative, e non è da intendersi come limitativa degli aspetti più generali della presente invenzione.

- 5 In una forma di realizzazione la presente invenzione si riferisce a composti di formula (I)



nella quale

R₁ rappresenta una catena laterale di un amminoacido scelto tra Ser, Thr, Phe, Ala o Asn;

R₂ è idrogeno o -CO-Aaa;

- 10 Aaa è un residuo amminoacidico scelto tra Ser, Asn o Thr; in cui una estremità C-terminale di esso è una estremità terminale libera, è ammidata o è esterificata;

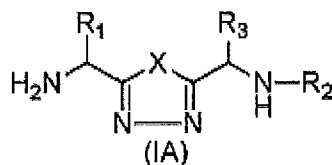
R₃ rappresenta una catena laterale di un amminoacido scelto tra Ser, Ala, Glu, Gln, Asn o Asp;

----- è un legame opzionale;

R₄ e R₅ indipendentemente sono idrogeno o assenti;

- 15 o un loro sale farmaceuticamente accettabile.

In un'altra forma di realizzazione l'invenzione fornisce composti di formula (IA)



o un sale farmaceuticamente accettabile o uno stereoisomero di essi; in cui

R₁ è una catena laterale di un amminoacido scelto tra Ser, Thr, Phe, Ala o Asn;

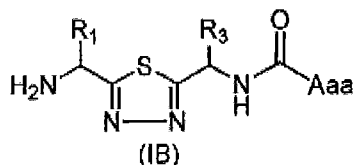
- 20 X è S o O;

R₂ è idrogeno o -CO-Aaa;

R₃ è una catena laterale di un amminoacido scelto tra Ser, Ala, Glu, Gln, Asn o Asp;

Aaa è un residuo amminoacidico scelto tra Ser, Asn o Thr; in cui una estremità C-terminale di esso è una estremità terminale libera, è ammidata o è esterificata.

In una ulteriore forma di realizzazione la presente invenzione fornisce composti di formula (IB)



5

o un sale farmaceuticamente accettabile o uno stereoisomero di essi; in cui

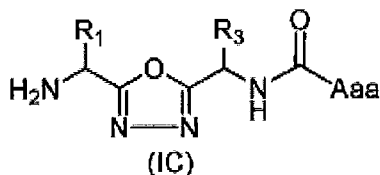
R₁ è una catena laterale di un amminoacido scelto tra Ser, Thr, Phe, Ala o Asn;

R₃ è una catena laterale di un amminoacido scelto tra Ser, Ala, Glu, Gln, Asn o Asp;

Aaa è un residuo amminoacidico scelto tra Ser, Asn o Thr; in cui una estremità C-terminale di

10 esso è una estremità terminale libera, è ammidata o è esterificata.

In ancora un'altra forma di realizzazione la presente invenzione fornisce composti della formula (IC)



o un sale farmaceuticamente accettabile o uno stereoisomero di essi; in cui

15 R₁ è una catena laterale di un amminoacido scelto tra Ser, Thr, Phe, Ala o Asn;

R₃ è una catena laterale di un amminoacido scelto tra Ser, Ala, Glu, Gln, Asn o Asp;

Aaa è un residuo amminoacidico scelto tra Ser, Asn o Thr; in cui una estremità C-terminale di esso è una estremità terminale libera, è ammidata o è esterificata.

In una ulteriore forma di realizzazione, la presente invenzione fornisce composti di formula (I),

20 in cui

R₁ è una catena laterale di Ser o Thr;

R_2 è -CO-Aaa;

Aaa è un residuo amminoacidico Thr o Ser; in cui l'estremità C-terminale è libera;

R_3 è una catena laterale di Asn, Gln, Glu o Asp.

Le forme di realizzazione sotto sono illustrative della presente invenzione e non sono da
5 intendersi come limitative delle rivendicazioni alle specifiche forme di realizzazione
esemplificate.

Secondo una forma di realizzazione sono specificamente forniti composti della formula (I) e
(IA) in cui X è O.

Secondo un'altra forma di realizzazione, sono specificamente forniti composti della formula (I)
10 e (IA) in cui X è S.

Secondo una ulteriore forma di realizzazione sono specificamente forniti composti della
formula (I) e (IA) in cui R_2 è idrogeno.

Secondo ancora un'altra forma di realizzazione sono specificamente forniti composti della
formula (I) in cui R_4 e R_5 sono assenti.

15 Secondo ancora un'altra forma di realizzazione, sono specificamente forniti composti della
formula (I) in cui R_2 è -CO-Ser.

Secondo ancora un'altra forma di realizzazione, sono specificamente forniti composti della
formula (I) in cui R_2 è -CO-Thr.

Secondo ancora un'altra forma di realizzazione, sono specificamente forniti composti della
20 formula (I), (IA), (IB) e (IC) in cui R_1 è la catena laterale di Ser.

Secondo ancora un'altra forma di realizzazione, sono specificamente forniti composti della
formula (I), (IA), (IB) e (IC) in cui R_1 è la catena laterale di Thr.

Secondo ancora un'altra forma di realizzazione, sono specificamente forniti composti della
formula (I), (IA) e (IC) in cui R_1 è la catena laterale di Phe, Ala o Asn.

Secondo ancora un'altra forma di realizzazione, sono specificamente forniti composti della formula (I), (IA), (IB) e (IC) in cui R₃ è la catena laterale di Asn.

Secondo ancora un'altra forma di realizzazione, sono specificamente forniti composti della formula (I), (IA) e (IB) in cui R₃ è la catena laterale di Ser.

- 5 Secondo ancora un'altra forma di realizzazione, sono specificamente forniti composti della formula (I), (IA) e (IC) in cui R₃ è la catena laterale di Gln.

Secondo ancora un'altra forma di realizzazione, sono specificamente forniti composti della formula (I), (IA) e (IC) in cui R₃ è la catena laterale di Glu.

- 10 Secondo ancora un'altra forma di realizzazione, sono specificamente forniti composti della formula (I), (IA) e (IC) in cui R₃ è la catena laterale di Ala o Asp.

Secondo ancora un'altra forma di realizzazione, sono specificamente forniti composti della formula (IB) e (IC) in cui Aaa è Ser.

Secondo ancora un'altra forma di realizzazione, sono specificamente forniti composti della formula (IC) in cui Aaa è Thr.

- 15 Secondo ancora un'altra forma di realizzazione, sono specificamente forniti composti della formula (I), (IA) e (IB) in cui uno, più o tutti gli amminoacidi è/sono amminoacido/i D.

In una forma di realizzazione specifici composti di formula (I), senza alcuna limitazione, sono enumerati nella tabella (1):

Tabella 1

Composto No.	Struttura
1.	
2.	
3.	

Composto No.	Struttura
4.	
5.	
6.	
7.	
8.	
9.	
10.	

11.	
12.	
13.	
14.	
15.	
16.	
17.	
18.	
19.	
20.	

and = e

o un loro sale farmaceuticamente accettabile o uno stereoisomero di essi.

I composti come descritti nella presente invenzione sono formulati per somministrazione farmaceutica.

In una forma di realizzazione la presente invenzione fornisce una composizione farmaceutica
5 comprendente il composto come descritto, e un veicolo o diluente farmaceuticamente accettabile.

In un'altra forma di realizzazione la suddetta composizione farmaceutica comprende inoltre almeno uno tra un agente anticancro, un agente chemioterapico o un composto antiproliferativo.

10 In una forma di realizzazione la presente invenzione fornisce i composti come descritti nella presente invenzione per l'uso come un medicamento.

In un'altra forma di realizzazione, la presente invenzione fornisce composti come descritti nella presente invenzione per l'uso come un medicamento per il trattamento di un cancro o una malattia infettiva.

15 In un'altra forma di realizzazione, la presente invenzione fornisce composti come descritti nella presente invenzione per l'uso come un medicamento per il trattamento di un cancro osseo, cancro della testa e del collo, cancro pancreatico, cancro della pelle, melanoma maligno cutaneo o intraoculare, cancro uterino, cancro ovarico, cancro rettale, cancro della regione anale, cancro dello stomaco, cancro testicolare, cancro uterino, carcinoma delle tube di falloppio, carcinoma
20 dell'endometrio, carcinoma della cervice, carcinoma della vagina, carcinoma della vulva, morbo di Hodgkin, linfoma non-Hodgkin, cancro dell'esofago, cancro dell'intestino tenue, cancro del sistema endocrino, cancro della ghiandola tiroidea, cancro della ghiandola paratiroidea, cancro della ghiandola surrenale, sarcoma di tessuto molle, cancro dell'uretra, cancro del pene, leucemie croniche e acute, inclusa leucemia mieloide acuta, leucemia mieloide cronica, leucemia
25 linfoblastica acuta, leucemia linfocitica cronica, tumori solidi infantili, linfoma linfocitico, cancro

della vescica, cancro del rene o dell'uretere, carcinoma della pelvi renale, neoplasia del sistema nervoso centrale (CNS), linfoma primario del CNS, angiogenesi tumorale, tumore dell'asse spinale, glioma del tronco encefalico, adenoma pituitario, sarcoma di Kaposi, cancro epidermoide, cancro a cellule squamose, linfoma a cellule T, cancri indotti dall'ambiente, inclusi
5 quelli indotti da amianto, e combinazioni dei suddetti cancri.

In un'altra forma di realizzazione, la presente invenzione fornisce i composti come descritti nella presente invenzione per l'uso nel trattamento di cancro.

In un'altra forma di realizzazione la presente invenzione fornisce i composti come descritti nella presente invenzione per l'uso nel trattamento di una malattia infettiva.

10 In una forma di realizzazione, la presente invenzione fornisce i composti come descritti nella presente invenzione per l'uso come un medicamento per il trattamento di una malattia infettiva batterica, una malattia virale o una malattia infettiva fungina.

Si descrive inoltre un metodo di trattamento di cancro, in cui il metodo comprende la somministrazione di una quantità efficace del composto della presente invenzione al soggetto
15 che ne ha necessità.

Si descrive inoltre un metodo di modulazione di una risposta immunitaria mediata dalla via (pathway) di segnalazione di PD-1 in un soggetto, comprendente la somministrazione al soggetto di una quantità terapeutamente efficace del composto della presente invenzione in modo tale che la risposta immunitaria nel soggetto sia modulata.

20 Si descrive inoltre un metodo di inibizione di crescita di cellule tumorali e/o metastasi in un soggetto, comprendente la somministrazione al soggetto di una quantità terapeutamente efficace di composto della presente invenzione in grado di inibire la via (pathway) di segnalazione di morte cellulare programmata 1 (PD1).

Le suddette cellule tumorali includono cancri come, ma non limitati a, cancro osseo, cancro
25 della testa o del collo, cancro pancreatico, cancro della pelle, melanoma maligno cutaneo o

intraoculare, cancro uterino, cancro ovarico, cancro rettale, cancro della regione anale, cancro dello stomaco, cancro testicolare, cancro uterino, carcinoma delle tube di falloppio, carcinoma dell'endometrio, carcinoma della cervice, carcinoma della vagina, carcinoma della vulva, morbo di Hodgkin, linfoma non-Hodgkin, cancro dell'esofago, cancro dell'intestino tenue, cancro del
5 sistema endocrino, cancro della ghiandola tiroidea, cancro della ghiandola paratiroidea, cancro della ghiandola surrenale, sarcoma di tessuto molle, cancro dell'uretra, cancro del pene, leucemie croniche e acute, inclusa leucemia mieloide acuta, leucemia mieloide cronica, leucemia linfoblastica acuta, leucemia linfocitica cronica, tumori solidi infantili, linfoma linfocitico, cancro della vescica, cancro del rene o dell'uretere, carcinoma della pelvi renale, neoplasia del sistema
10 nervoso centrale (CNS), linfoma primario del CNS, angiogenesi tumorale, tumore dell'asse spinale, glioma del tronco encefalico, adenoma pituitario, sarcoma di Kaposi, cancro epidermoide, cancro a cellule squamose, linfoma a cellule T, cancri indotti dall'ambiente, inclusi quelli indotti da amianto, e combinazioni dei suddetti cancri.

Si descrive inoltre un metodo di trattamento di una malattia infettiva in un soggetto
15 comprendente la somministrazione al soggetto di una quantità terapeuticamente efficace del composto presente invenzione in grado di inibire la via (pathway) di segnalazione di morte cellulare programmata 1 (PD1) in modo tale che il soggetto sia trattato per la malattia infettiva.

Si descrive inoltre un metodo di trattamento di infezioni batteriche, virali e fungine in un soggetto comprendente la somministrazione al soggetto di una quantità terapeuticamente
20 efficace del composto della presente invenzione in grado di inibire la via (pathway) di segnalazione di morte cellulare programmata 1 (PD1) in modo tale che il soggetto sia trattato per le infezioni batteriche, virali e fungine.

La malattia infettiva include, ma non è limitata a, HIV, Influenza, Herpes, Giardiasi, Malaria, Leishmaniosi, l'infezione patogena dal virus dell'epatite (A, B, & C), herpes virus (per esempio
25 VZV, HSV-I, HAV-6, HSV-II, e CMV, virus di Epstein Barr), adenovirus, virus influenzale,

- flavivirus, echovirus, rhinovirus, coxsackievirus, cornovirus, virus respiratorio sinciziale, virus della parotite, rotavirus, virus del morbillo, virus della rosolia, parvovirus, vaccinia virus, virus HTLV, virus della dengue, papillomavirus, virus dei molluschi, poliovirus, virus della rabbia, virus JC e virus dell'encefalite arbovirale, infezione patogena dai batteri chlamydia, batteri
- 5 rickettsia, micobatteri, stafilococchi, streptococchi, pneumococchi, meningococchi, e conococchi, klebsiella, proteus, serratia, pseudomonas, E. coli, legionella, diphtheria, salmonella, bacilli, colera, tetano, botulismo, antrace, peste, leptospirosi, e batteri della malattia di Lyme, infezione patogena dai funghi Candida (albicans, krusei, glabrata, tropicalis, etc.), Cryptococcus neoformans, Aspergillus (fumigatus, niger, etc.), Genere Mucorales (mucor, absidia, rhizophus),
- 10 Sporothrix schenkii, Blastomyces dermatitidis, Paracoccidioides brasiliensis, Coccidioides immitis e Histoplasma capsulatum, e infezione patogena dai parassiti Entamoeba histolytica, Balantidium coli, Naegleriafowleri, Acanthamoeba sp., Giardia lamblia, Cryptosporidium sp., Pneumocystis carinii, Plasmodium vivax, Babesia microti, Trypanosoma brucei, Trypanosoma cruzi, Leishmania donovani, Toxoplasma gondi, Nippostrongylus brasiliensis.
- 15 I composti della presente invenzione possono essere utilizzati come singoli farmaci o come una composizione farmaceutica in cui il composto è miscelato con vari materiali farmacologicamente accettabili.
- La composizione farmaceutica è solitamente somministrata per via orale o per via inalatoria, ma può essere somministrata per via di somministrazione parenterale. Nella pratica della presente
- 20 invenzione, composizioni possono essere somministrate, per esempio, per via orale, tramite infusione intravenosa, per via topica, intraperitoneale, intravescicale o intratecale. Esempi della somministrazione parenterale includono, ma non sono limitati a, le vie intraarticolare (nelle articolazioni), intravenosa, intramuscolare, intradermica, intraperitoneale e sottocutanea, includono soluzioni per iniezione sterili isotoniche, acquose e non acquose, che possono
- 25 contenere antiossidanti, tamponi, batteriostatici, e soluti che rendono la formulazione isotonica

con il sangue del ricevente desiderato, e sospensioni sterili acquose e non acquose che possono includere agenti sospendenti, solubilizzanti, agenti addensanti, stabilizzanti e conservanti. Somministrazione orale, somministrazione parenterale, somministrazione sottocutanea e somministrazione intravenosa sono i metodi di somministrazione preferiti.

- 5 Il dosaggio dei composti della presente invenzione varia in funzione dell'età, del peso, del sintomo, dell'efficacia terapeutica, del regime di dosaggio e/o del tempo di trattamento. Generalmente, essi possono essere somministrati per via orale o tramite inalazione, in una quantità da 1 mg a 100 mg per volta, da una volta ogni due giorni, una volta ogni tre giorni, una volta ogni due giorni, d un volta al giorno a due volte al giorno, nel caso di un adulto, o
- 10 somministrati continuamente per via orale o tramite inalazione da 1 a 24 ore al giorno. Dal momento che il dosaggio è influenzato da varie condizioni, una quantità inferiore al dosaggio menzionato sopra può talvolta funzionare sufficientemente bene, oppure in alcuni casi può essere necessario un dosaggio superiore.

- I composti della presente invenzione possono essere somministrati in combinazione con altri
- 15 farmaci per (1) complementazione e/o potenziamento di prevenzione e/o efficacia terapeutica del farmaco preventivo e/o terapeutico della presente invenzione, (2) dinamiche, miglioramento di assorbimento, riduzione di dosaggio del farmaco preventivo e/o terapeutico della presente invenzione e/o (3) riduzione degli effetti collaterali del farmaco preventivo e/o terapeutico della presente invenzione.

- 20 Un medicinale concomitante comprendente i composti della presente invenzione e un altro farmaco può essere somministrato come una preparazione di combinazione in cui entrambi i componenti sono contenuti in una singola formulazione, o somministrati come formulazioni separate. La somministrazione mediante formulazioni separate include somministrazione simultanea e somministrazione con qualche intervallo temporale. Nel caso della
- 25 somministrazione con qualche intervallo temporale il composto della presente invenzione può

essere somministrato per primo, seguito da un altro farmaco, oppure un altro farmaco può essere somministrato per primo, seguito dal composto della presente invenzione. Il metodo di somministrazione dei rispettivi farmaci può essere identico o differente.

5 Il dosaggio dell'altro farmaco può essere scelto appropriatamente, sulla base di un dosaggio che è stato clinicamente utilizzato. Il rapporto di combinazione tra il composto della presente invenzione e l'altro farmaco può essere correttamente scelto secondo l'età e il peso di un soggetto da trattare, il metodo di somministrazione, il tempo di somministrazione, il disturbo da trattare, il sintomo e la combinazione di essi. Per esempio, l'altro farmaco può essere utilizzato in una quantità da 0,01 a 100 parti in massa, sulla base di 1 parte in massa del composto della
10 presente invenzione. L'altro farmaco può essere una combinazione di due o più tipi di farmaci arbitrari in una proporzione appropriata. L'altro farmaco che complementa e/o potenzia l'efficacia preventiva e/o terapeutica del composto della presente invenzione include non soltanto quelli che sono già stati scoperti, ma quelli che saranno scoperti in futuro, sulla base del meccanismo menzionato sopra.

15 Malattie su cui questo uso concomitante esercita un effetto preventivo e/o terapeutico non sono particolarmente limitate. Il medicinale concomitante può essere utilizzato per qualsiasi malattia purché complementi e/o potenzi l'efficacia preventiva e/o terapeutica del composto della presente invenzione.

Il composto (o i composti) della presente invenzione può (possono) essere utilizzato(i) con un
20 chemioterapico esistente in modo concomitante o in una forma di miscela. Esempi del chemioterapico includono un agente di alchilazione, un agente nitrosoarea, un antimetabolita, antibiotici anticancro, un alcaloide di origine vegetale, un inibitore di topoisomerasi, un farmaco ormonale, un antagonista ormonale, un inibitore di aromatasi, un inibitore di P-glicoproteina, un derivato di complesso di platino, altri farmaci immunoterapeutici e altri farmaci anticancro.

25 Inoltre, esso può essere utilizzato con un ausiliario a trattamento di cancro, come un farmaco

per il trattamento di leucopenia (neutropenia), un farmaco per il trattamento di trombocitopenia, un farmaco antiemetico e di intervento sul dolore causato da cancro, in modo concomitante o in una forma di miscela.

- In una forma di realizzazione il composto o i composti della presente invenzione può/possono
- 5 essere utilizzato/i con altri immunomodulatori e/o un agente potenziante in modo concomitante o in una forma di miscela. Esempi dell'immunomodulatore includono varie citochine, vaccini e adiuvanti. Esempi di queste citochine, vaccini e adiuvanti che stimolano risposte immunitarie includono, ma non sono limitati a, GM-CSF, M-CSF, G-CSF, interferone- α , β , o γ , IL-1, IL-2, IL-3, IL-12, Poly (I:C) e C_pG.
- 10 In un'altra forma di realizzazione gli agenti potenzianti includono ciclofosfamide e analoghi di ciclofosfamide, anti-TGF β e Imatinib (Gleevac), un inibitore di mitosi, come paclitaxel, Sunitinib (Sutent) o altri agenti antiangiogenici, un inibitore di aromatasi, come letrozolo, un antagonista di recettori A2a, un inibitore di angiogenesi, antracicline, oxaliplatino, doxorubicina, antagonisti di TLR4, e antagonisti di IL-18.
- 15 Salvo diversa definizione, tutti i termini tecnici e scientifici qui utilizzati hanno lo stesso significato come comunemente inteso da un esperto nel ramo a cui l'argomento appartiene. Come qui utilizzate, le seguenti definizioni sono fornite al fine di facilitare la comprensione della presente invenzione.
- Come qui utilizzato, il termine "composto(i)" si riferisce ai composti divulgati nella presente
- 20 invenzione.
- Come qui utilizzato, il termine "comprendere" o "comprendente" è generalmente adoperato nel senso di includere, vale a dire permettendo la presenza di uno o più elementi o componenti.
- Come qui utilizzato, il termine "includente", così come altre forme, come "includere", "include" e "incluso", non è limitativo.

Come qui utilizzato, il termine "ammino" si riferisce a un gruppo $-NH_2$. Se non esposto o indicato il contrario, tutti i gruppi amminici qui descritti o rivendicati possono essere sostituiti o non sostituiti.

5 Come qui utilizzato, il termine "amminoacido" si riferisce a amminoacidi aventi stechiometria L o D in corrispondenza dell'atomo di carbonio alfa.

"Sale farmaceuticamente accettabile" è inteso significare un principio attivo che comprende un composto della formula (I) nella forma di uno dei suoi sali, in particolare se questa forma salina impartisce migliorate proprietà farmacocinetiche al principio attivo o qualsiasi altra forma salina del principio attivo utilizzato precedentemente. La forma di sale farmaceuticamente accettabile
10 del principio attivo può anche conferire a questo principio attivo per la prima volta una proprietà farmacocinetica desiderata che non aveva precedentemente e può avere anche una influenza positiva sulla farmacocinetica di questo principio attivo rispetto alla sua efficacia terapeutica nel corpo.

"Farmaceuticamente accettabile" significa ciò che è utile nella preparazione di una composizione
15 farmaceutica che è generalmente sicura, non tossica e né biologicamente né altrimenti indesiderabile e include ciò che è accettabile per uso veterinario nonché per uso farmaceutico umano.

Il termine "stereoisomero" si riferisce a qualsiasi enantiomero, diastereoisomero o isomero geometrico dei composti di formula (I), ovunque essi siano chirali o quando portano uno o più
20 doppi legami. Quando i composti della formula (I) e formule correlate sono chirali, essi possono esistere in forma racemica o in forma otticamente attiva. Dal momento che l'attività farmaceutica dei racemi o stereoisomeri dei composti secondo l'invenzione può differire, può essere desiderabile utilizzare gli enantiomeri. In questi casi il prodotto finale o persino gli intermedi possono essere separati in composti enantiomerici mediante misure chimiche o
25 fisiche note alla persona esperta nel ramo o persino impiegati come tali nella sintesi. Nel caso di

- ammine racemiche, diastereomeri sono formati dalla miscela mediante reazione con un agente risolvente otticamente attivo. Esempi di agenti risolventi adatti sono acidi otticamente attivi come le forme R e S di acido tartarico, acido diacetiltartarico, acido dibenzoiltartarico, acido mandelico, acido malico, acido lattico, amminoacidi N-protetti adatti (per esempio N-
5 benzoilprolina o N-benzensolfonilprolina), o i vari acidi canforsolfonici otticamente attivi. È anche vantaggiosa una risoluzione enantiomerica cromatografica con l'ausilio di un agente risolvente otticamente attivo (per esempio dinitrobenzoilfenilglicina, triacetato di cellulosa o altri derivati di carboidrati o polimeri di metacrilato chiralmente derivatizzati immobilizzati su gel di silice).
- 10 Il termine "soggetto" include mammiferi (specialmente esseri umani) e altri animali, come animali domestici (per esempio animali domestici da compagnia inclusi gatti e cani) e animali non domestici (come animali selvatici).
- L'espressione "quantità terapeuticamente efficace" o "quantità efficiente" si riferisce a una quantità sufficiente del o dei composti della presente invenzione che (i) tratta o previene la
15 particolare malattia, disturbo o sindrome, (ii) attenua, migliora o elimina uno o più sintomi della particolare malattia, disturbo o sindrome, o (iii) previene o ritarda l'insorgenza di uno o più sintomi della particolare malattia, disturbo o sindrome qui descritta. Nel caso di cancro, la quantità terapeuticamente efficace del farmaco può diminuire il numero di cellule cancerose; ridurre la dimensione del cancro; inibire (vale a dire rallentare in una qualche misura e in
20 alternativa arrestare) l'infiltrazione di cellule cancerose in organi periferici; sopprimere (vale a dire rallentare in una qualche misura e in alternativa arrestare) metastasi tumorale; inibire, in una qualche misura, la crescita tumorale; e/o alleviare in una qualche misura uno o più dei sintomi associati con il cancro. Nel caso di stati di malattia infettiva la quantità terapeuticamente efficace è una quantità sufficiente a diminuire o alleviare una malattia infettiva, i sintomi di una infezione
25 causata da batteri, virus e funghi.

Amminoacidi di origine naturale sono identificati nel corso dell'intera specificazione con le convenzionali abbreviazioni a tre lettere indicate nella tabella 2 qui sotto:

Tabella 2 (codici di amminoacidi)

Nome	Codice a tre lettere	Nome	Codice a tre lettere
Asparagina	Asn	Glutammina	Gln
Acido aspartico	Asp	Fenilalanina	Phe
Alanina	Ala	Serina	Ser
Acido glutammico	Glu	Treonina	Thr

Le abbreviazioni utilizzate nell'intera specificazione possono essere riepilogate qui sotto con il loro significato particolare.

5 °C (gradi Celsius); δ (delta); % (percentuale); salamoia (soluzione di NaCl); CDI CH₂Cl₂/DCM (Diclorometano); br s (singoletto ampio); Cs₂CO₃ (carbonato di cesio); d (doppietto); DMF (Dimetilformammide); DMSO (Dimetilsolfossido); DMSO-d₆ (DMSO deuterato); EDC.HCl/EDCI (1-(3-Dimetilamminopropil)-3-carbodiimmide cloridrato); Et₂NH
10 (Dietilammina); Fmoc (Cloruro di fluorenilmetilossicarbonile); g o gr (grammo); H o H₂ (Idrogeno); H₂O (Acqua); HOBt/HOBT (1-Idrossibenzotriazolo); HCl (Acido cloridrico); h o hr (ore); Hz (Hertz); HPLC (cromatografia liquida ad alte prestazioni); I₂ (iodio); K₂CO₃ (carbonato di potassio); LCMS (Cromatografia liquida – spettroscopia di massa); MeOH (metanolo); mmol (millimoli); M (Molare); μ l (Microlitro); mL (Millilitro); mg (Milligrammo); m
15 (Multipletto); MHz (Megahertz); MS (ES) (Spettroscopia di massa – elettrospray); min. (minuti); Na (Sodio); NaHCO₃ (Bicarbonato di sodio); NH₂NH₂H₂O (idrazina idrato); NMM (N-metilmorfolina); Na₂SO₄ (Solfato di sodio); N₂ (Azoto); NMR (spettroscopia di risonanza magnetica nucleare); PD-L1 (ligando 1 di morte programmata); PD-L2 (ligando 2 di morte cellulare programmata); prep-HPLC/HPLC preparativa (Cromatografia liquida preparativa ad

alte prestazioni); S (Singoletto); ^tBu (butile terziario); TEA/Et₃N (Trietilammina); TLC (Cromatografia su strato sottile); THF (Tetraidrofurano); TIPS (Triisopropilsilano); TFA/CF₃COOH (Acido trifluoroacetico); t (Tripletto); tR = (tempo di ritenzione); TPP (Trifenilfosfina); etc.

5 SPERIMENTALE

Una forma di realizzazione della presente invenzione fornisce la preparazione di composti di formula (I) secondo le procedure degli esempi seguenti, utilizzando materiali appropriati. Gli esperti nel ramo comprenderanno che variazioni note delle condizioni e dei procedimenti delle procedure di preparazione seguenti possono essere utilizzate per preparare questi composti.

10 Inoltre, utilizzando le procedure descritte in dettaglio, un individuo di ordinaria esperienza nel ramo può preparare composti addizionali della presente invenzione.

I materiali di partenza sono generalmente disponibili da fonti commerciali quali Sigma-Aldrich, USA o Germania; Chem-Impex USA; G.L. Biochem, Cina e Spectrochem, India.

Purificazione e caratterizzazione di composti

15 **Metodo di HPLC analitica:** HPLC analitica era eseguita su una colonna ZIC HILIC 200 A° (4,6 mm x 250 mm, 5 µm), Portata: 1,0 mL / min. Le condizioni di eluizione utilizzate sono: Tampone A: acetato di ammonio 5 mmol, Tampone B: Acetonitrile, Equilibratura della colonna con tampone B al 90% e eluizione mediante un gradiente da 90% a 40% di tampone B durante 30 minuti.

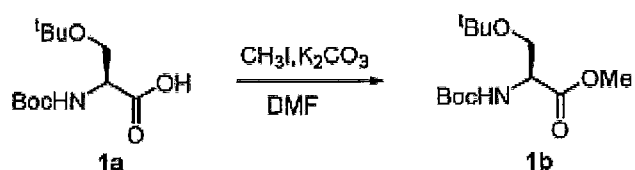
20 **Metodo di HPLC preparativa:** HPLC preparativa era effettuata su una colonna SeQuant ZIC HILIC 200 A° (10 mm x 250 mm, 5 µm), Portata: 5,0 mL/min. Le condizioni di eluizione utilizzate sono: Tampone A: acetato di ammonio 5 mmol (regolato a pH 4 con acido acetico), Tampone B: Acetonitrile, Equilibratura della colonna con tampone B al 90% e eluizione mediante un gradiente da 90% a 40% di tampone B durante 20 minuti.

LCMS era effettuata su API 2000 LC/MS/MS triple quad (Applied bio systems) con HPLC Agilent serie 1100 con G1315 B DAD, utilizzando una colonna Mercury MS o utilizzando Agilent LC/MSD VL single quad con HPLC Agilent serie 1100 con G1315 B DAD, utilizzando una colonna Mercury MS o utilizzando Shimadzu LCMS 2020 single quad con sistema

5 Prominence UFLC con SPD-20 A DAD.

Esempio 1: Sintesi di Composto 1

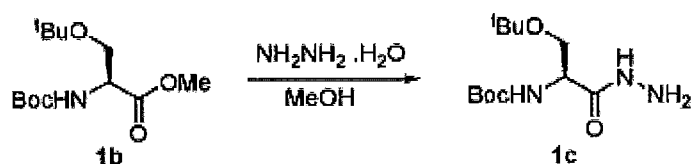
Stadio 1a:



Carbonato di potassio (7,9 g, 57,39 mmol) e ioduro di metile (1,3 mL, 21,04 mmol) sono stati aggiunti a una soluzione di composto **1a** (5,0 g, 19,13 mmol) in DMF (35 mL) e agitati a

10 temperatura ambiente per 2 ore. La completezza della reazione è stata confermata mediante analisi di TLC. La miscela di reazione era partizionata tra acqua e acetato di etile. Lo strato organico è stato lavato con acqua, salamoia, essiccato su Na₂SO₄ e evaporato sotto pressione ridotta per ottenere 5,0 g di composto **1b** (resa: 96,1%). LCMS: 176,1 (M-Boc)⁺.

15 Stadio 1b:



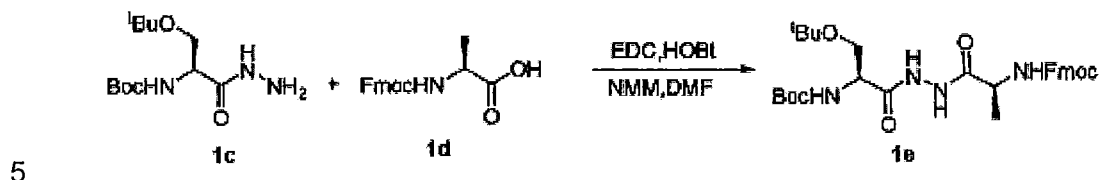
Itrato di idrazina (7,2 mL) è stato aggiunto a una soluzione di composto **1b** (5.0 g, 18.16 mmol) in metanolo (30 mL) e il tutto è stato agitato a temperatura ambiente per 2 ore. La completezza della reazione è stata confermata da analisi di TLC. La miscela di reazione è stata evaporata

20 sotto pressione ridotta, il residuo ottenuto è stato partizionato tra acqua e acetato di etile. Lo

strato organico è stato lavato con acqua, salamoia, essiccato su Na₂SO₄ e evaporato sotto pressione ridotta per ottenere 4,0 g

di composto **1c** (Resa: 80,0%). LCMS: 276,3 (M+H)⁺.

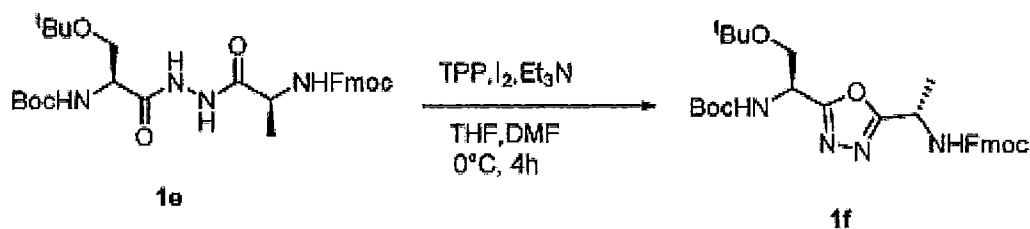
Stadio 1c:



NMM (0,67 ml, 6,52 mmol) è stata aggiunta lentamente a una soluzione agitata di **1c** (1,2 g, 4,35 mmol), **1d** (1,43 g, 4,35 mmol), HOBT (0,7 g, 5,22 mmol) e EDC.HCl (0,99 g, 5,22 mmol) in DMF (15 mL) a 0°C. La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 12 ore.

La completezza della reazione è stata confermata da analisi di TLC. La reazione è stata
10 raffreddata rapidamente con ghiaccio e il solido precipitato è stato filtrato ed essiccato sotto vuoto per ottenere 2,0 g di prodotto puro **1e** (Resa: 83,3%). LCMS: 591,5 (M+Na)⁺.

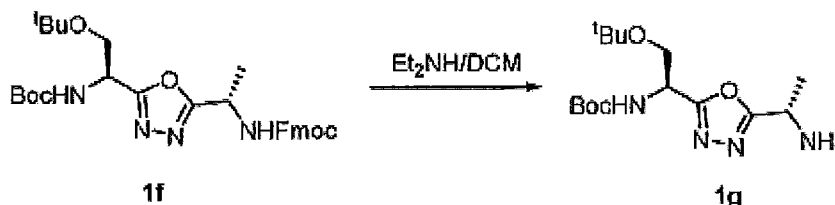
Stadio Id:



A una soluzione agitata di **1e** (1,5 g, 2,63 mmol) in THF anidro (15,0 mL) e DMF (5,0 mL),
15 trifenilfosfina (1,38 g, 5,27 mmol) e iodio (1,33 g, 5,27 mmol) sono stati aggiunti a 0°C. Dopo che lo iodio era completamente disciolto, Et₃N (1,52 mL, 10,54 mmol) è stato aggiunto a questa miscela di reazione a temperatura fredda come ghiaccio. La miscela di reazione è stata lasciata raggiungere la temperatura ambiente e agitata per 4 ore. La completezza della reazione è stata confermata da analisi di TLC. La reazione è stata raffreddata rapidamente con acqua e ghiaccio
20 ed estratta con acetato di etile. Lo strato organico è stato lavato con soluzione satura di

tiosolfato di sodio e salamoia. Lo strato organico separato è stato essiccato su Na_2SO_4 ed evaporato sotto pressione ridotta per ottenere un residuo, che è stato ulteriormente purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (eluente: acetato di etile al 30% in esano) per ottenere 0,8 g di composto **If** (Resa: 55%). LCMS: 551,3 (M+H)⁺.

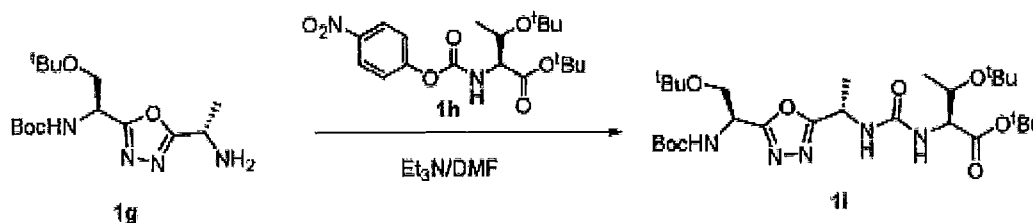
5 **Stadio 1e:**



Il gruppo Fmoc è stato deprotetto mediante l'aggiunta di dietilammina (20,0 mL) a una soluzione di composto **If** (0,8 g, 1,45 mmol) in CH_2Cl_2 (20,0 mL) a 0°C. La reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 2 ore. La soluzione risultante è stata concentrata sotto vuoto per ottenere un residuo gommoso denso. Il composto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di allumina neutra (eluente: 2% metanolo in cloroformio) per ottenere 0,38 g di composto **1g** (Resa: 80,0%): LCMS: 329,4 (M+H)⁺.

10

Stadio If:

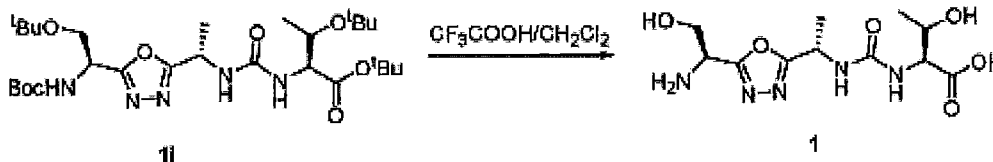


15 Il composto **1g** (0,38 g, 1,16 mmol), TEA (0,33 mL, 2,32 mmol) disciolto in DMF (10 mL) sono stati aggiunti goccia a goccia a una soluzione di **1h** (0,55 g, 1,39 mmol) a 0°C per la formazione di un legame ureico e la miscela è stata utilizzata a temperatura ambiente per 2 ore. La completezza della reazione è stata confermata da analisi di TLC. La reazione è stata raffreddata rapidamente con acqua e ghiaccio, il solido precipitato è stato filtrato ed essiccato sotto vuoto per ottenere un composto grezzo, che è stato ulteriormente purificato mediante

20

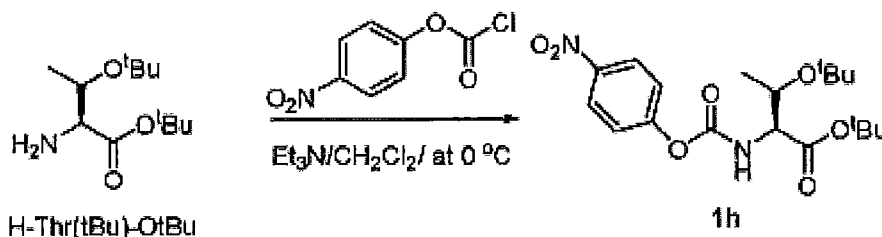
cromatografia su colonna di gel di silice (eluente: 0-35% acetato di etile in esano) per ottenere 0,4 g di prodotto **1i** (Resa: 59,7%). LCMS: 586,4 (M+H)⁺.

Stadio 1g:



- 5 A una soluzione di composto **1i** (0,4 g, 0,68 mmol) in CH₂Cl₂ (5 mL), acido trifluoroacetico (5 mL) e una quantità catalitica di triisopropilsilano sono stati aggiunti e agitati a temperatura ambiente per 3 ore per rimuovere i gruppi protettivi sensibili agli acidi. La soluzione risultante è stata concentrata sotto azoto e il materiale solido è stato purificato mediante il metodo di HPLC preparativa come descritto sotto condizioni sperimentali (Resa: 0,05 g). LCMS: 318,0 (M+H)⁺;
- 10 HPLC: t_R = 10,96 min.

Sintesi di composto **1h** (NO₂-C₆H₄-OCO-Thr(tBu)-O^tBu):

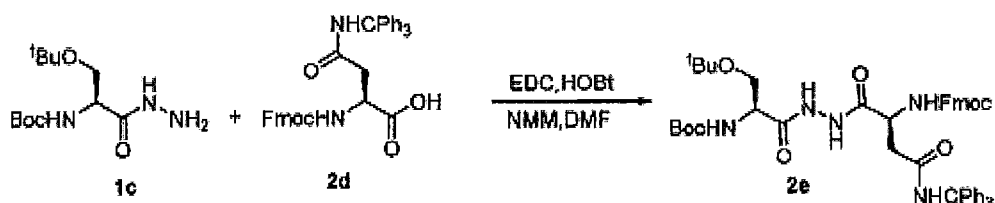


- A una soluzione di 4-nitrofenilcloroformiato (4,79 g, 23,77 mmol) in DCM (25,0 mL) è stata aggiunta una soluzione di H-Thr(tBu)-OtBu (5,0 g, 21,61 mmol), TEA (6,2 mL, 43,22 mmol) in
- 15 CH₂Cl₂ (25 mL) lentamente a 0°C e il tutto è stato lasciato agitare per 30 minuti. Il completamento della reazione è stato confermato mediante analisi di TLC. Dopo il completamento della reazione, essa è stata diluita con DCM e lavata con 1,0 M di acido citrico, seguito da una soluzione 1,0 M di carbonato di sodio. Lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄ ed evaporato sotto pressione ridotta per ottenere il composto **1h** grezzo, che è stato
- 20 ulteriormente purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (eluente: 0-5% acetato di etile in esano) per ottenere 3,0 g di prodotto **1h**. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 1,17

(s, 9H), 1,28 (d, 3H), 1,50 (s, 9H), 4,11 (m, 1H), 4,28 (m, 1H), 5,89 (d, 1H), 7,37 (d, 2H), 8,26 (d, 2H).

Esempio 2: Sintesi di composto 2

Stadio 2a:



5

NMM (1,8 mL, 18,15 mmol) è stata aggiunta lentamente a una soluzione agitata di 1c (2,0 g, 7,26 mmol), 2d (4,3 g, 7,26 mmol), HOBT (1,17 g, 8,7 mmol) e EDC.HCl (1,66 g, 8,7 mmol) in DMF (15 mL) a 0°C. La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 12 ore. La completezza della reazione è stata confermata da analisi di TLC. La reazione è stata raffreddata rapidamente con ghiaccio, il solido precipitato è stato filtrato ed essiccato sotto vuoto per ottenere 3,7 g di prodotto puro 2e (Resa: 59,6%). LCMS: 854,4 (M+H)⁺.

10

Stadio 2b:



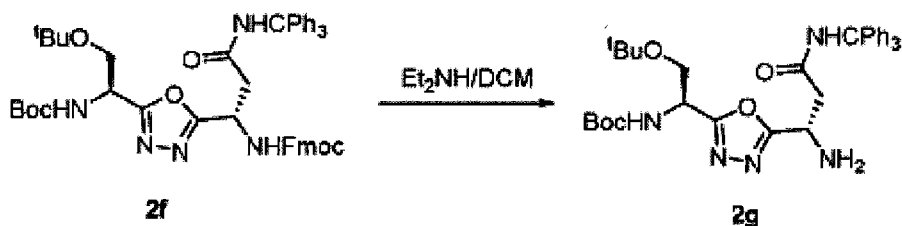
15

A una soluzione agitata di 2e (3,7 g, 4,33 mmol) disciolta in THF anidro (25,0 mL) e DMF (10,0 mL), trifetilfosfina (2,28 g, 8,66 mmol) e iodio (2,2 g, 8,66 mmol) sono stati aggiunti a 0°C. Dopo che lo iodio è stato completamente disciolto, Et₃N (2,5 mL, 17,32 mmol) è stato aggiunto alla stessa temperatura. La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 4 ore. La completezza della reazione è stata confermata da analisi di TLC. La reazione è stata raffreddata rapidamente con acqua e ghiaccio ed estratta con acetato di etile. Lo strato organico è stato lavato con soluzione satura di tiosolfato di sodio e salamoia. Lo strato organico è stato

20

essiccato su Na_2SO_4 ed evaporato sotto pressione ridotta, e il tutto è stato ulteriormente purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (eluente: 30% acetato di etile in esano) per ottenere 2,0 g di composto **2f** (Resa: 55%). LCMS: 858,4 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺.

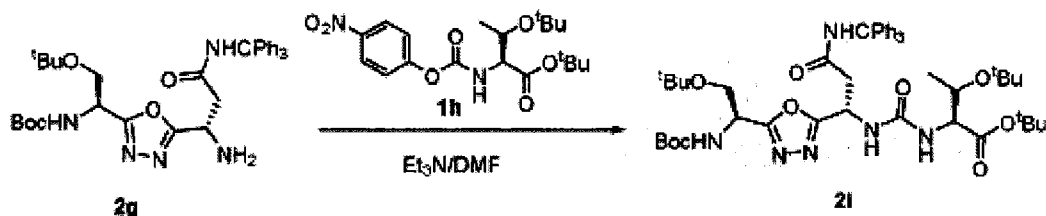
Stadio 2c:



Dietilammina (30,0 mL) è stata aggiunta a una soluzione di composto **2f** (2,0 g, 1,17 mmol) in CH_2Cl_2 (30,0 mL) a 0°C. La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 1 ora. La soluzione risultante è stata concentrata sotto vuoto per ottenere un residuo gommoso denso.

10 Il composto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di allumina neutra (eluente: 2% metanolo in cloroformio) per ottenere 1,0 g di composto **2g** (Resa: 71,4%). LCMS: 614,5 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Stadio 2d:

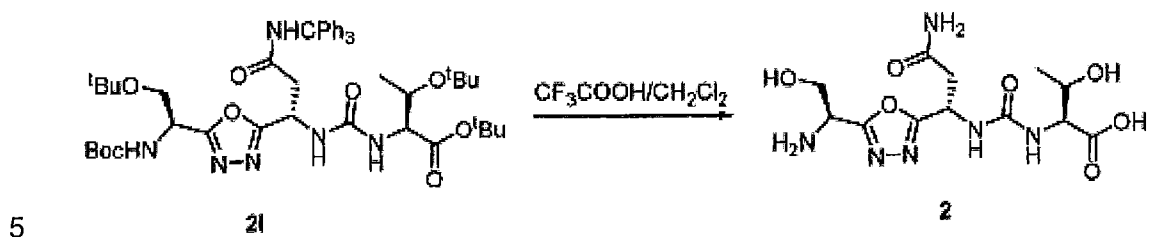


15 Composto **2g** (1,0 g, 1,63 mmol) e TEA (0,47 mL, 3,2 mmol) disciolti in DMF (10 mL) sono stati aggiunti goccia a goccia a una soluzione di **1h** (0,7 g, 1,79 mmol) a 0°C. La miscela di reazione è stata lasciata raggiungere la temperatura ambiente e l'agitazione è stata continuata per 2 ore. La completezza della reazione è stata confermata da analisi di TLC. La reazione è stata raffreddata rapidamente con acqua e ghiaccio, il solido precipitato è stato filtrato ed essiccato sotto vuoto. Il composto grezzo ottenuto è stato ulteriormente purificato mediante

cromatografia su colonna di gel di silice (eluente: 0-30% acetato di etile in esano) per ottenere 0,8 g di prodotto **2i** (Resa: 57,1%).

LCMS: 871,6 (M+H)⁺.

Stadio 2e:

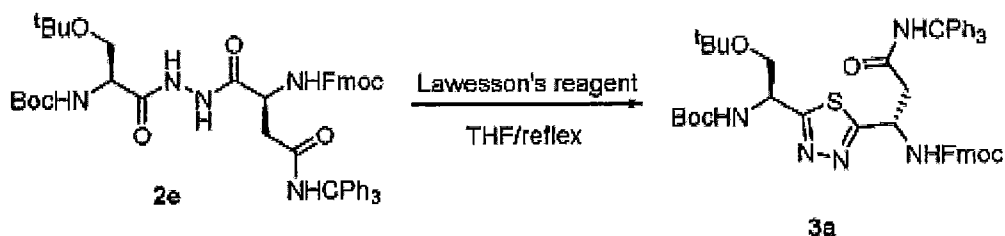


A una soluzione di composto **2i** (0,8 g, 0,92 mmol) in CH₂Cl₂ (6 mL) sono stati aggiunti acido trifluoroacetico (6 mL) e una quantità catalitica di triisopropilsilano, e il tutto è stato agitato a temperatura ambiente per 3 ore. La soluzione risultante è stata concentrata sotto azoto e il materiale solido è stato purificato mediante il metodo di HPLC preparativa descritto sotto

10 condizioni sperimentali (Resa: 0,065 g). HPLC: t_R = 12,01 min.; LCMS: 361,34 (M+H)⁺.

Esempio 3: Sintesi di composto 3

Stadio 3a:



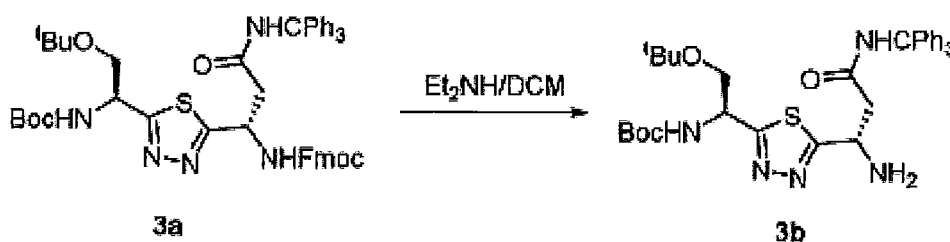
(Lawesson's reagent – reagente di Lawesson; reflux – riflusso)

15 Reagente di Lawesson (2,85 g, 7,03 mmol) è stato aggiunto a una soluzione di composto **2e** (4 g, 4,68 mmol) in THF (40 mL) e agitato a 75°C per 4 ore. La completezza della reazione è stata confermata da analisi di TLC. La miscela di reazione è stata evaporata sotto pressione ridotta e il residuo ottenuto è stato partizionato tra acqua-ghiaccio e acetato di etile. Lo strato organico è stato lavato con soluzione di NaHCO₃ seguita da soluzione di salamoia. Lo strato organico è

20 stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato ed evaporato sotto pressione ridotta per ottenere un residuo

che è stato ulteriormente purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (eluente: 0-5% acetato di etile in esano) per ottenere 2,7 g di composto **3a** (Resa: 67,66%). LCMS: 852,3 (M+H)⁺.

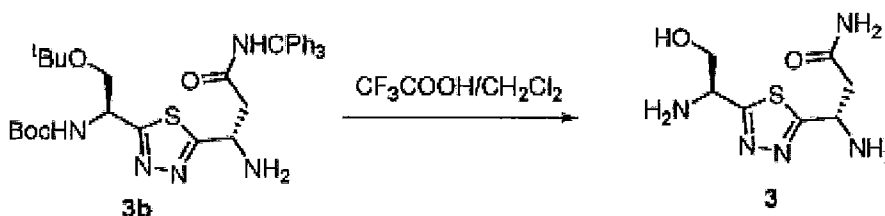
Stadio 3b:



Il gruppo Fmoc su composto **3a** è stato deprotetto aggiungendo dietilammina (3,8 mL) alla soluzione di composto **3a** (1 g, 1,17 mmol) in CH₂Cl₂ (3,8 mL). La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 30 minuti. La soluzione risultante è stata concentrata sotto vuoto per ottenere un residuo gommoso denso. Il composto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di allumina neutra (eluente: 0-50% acetato di etile in esano e poi 0-5% metanolo in cloroformio) per ottenere 0,62 g di composto **3b**. LCMS: 630,5 (M+H)⁺.

10

Stadio 3c:



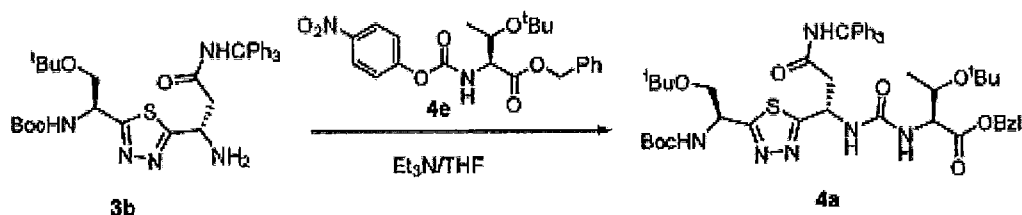
A una soluzione di composto **3b** (0,6 g) in CH₂Cl₂ (7,5 mL), acido trifluoroacetico (2,5 mL) e una quantità catalitica di triisopropilsilano sono stati aggiunti e agitati a temperatura ambiente per 3 ore. La soluzione risultante è stata concentrata sotto vuoto per ottenere 0,13 g di composto **3** che è stato purificato mediante il metodo di HPLC preparativa descritto sotto condizioni sperimentali.

15

LCMS: 232,3 (M+H)⁺.

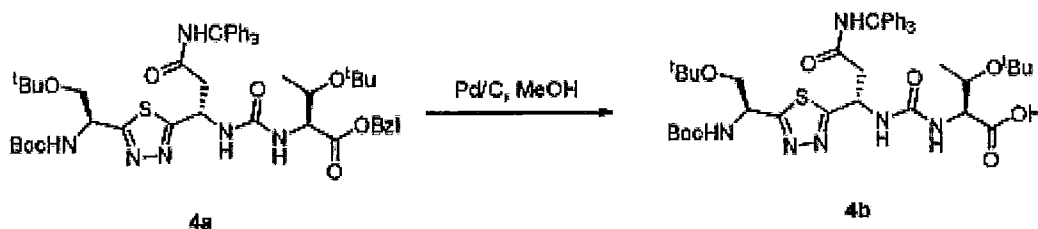
20 **Esempio 4: Sintesi di composto 4**

Stadio 4a:



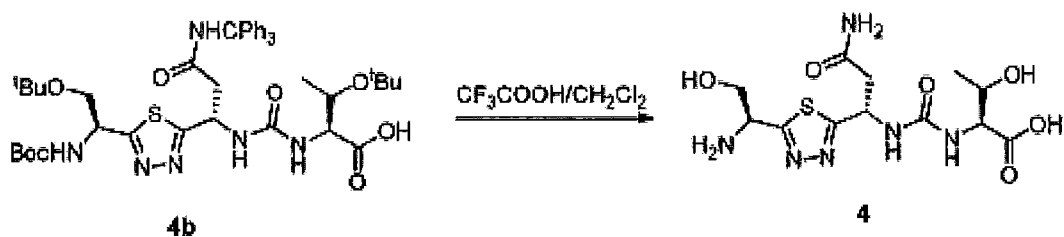
Il legame ureico è stato ottenuto mediante accoppiamento del composto **3b** (0,5 g, 7,9 mmol) in THF (10 mL) a temperatura ambiente con composto **4e** (0,34 g, 7,9 mmol). L'accoppiamento è stato iniziato mediante l'aggiunta di TEA (0,16 g, 15,8 mmol) in THF (10 mL) e la miscela risultante è stata agitata a temperatura ambiente. Dopo 12 ore THF è stato evaporato dalla massa di reazione, e partizionato tra acqua e acetato di etile. Lo strato organico è stato lavato con acqua, salamoia, essiccato su Na₂SO₄ ed evaporato sotto pressione ridotta per ottenere **4a**, che è stato ulteriormente purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (eluente: 0-50% acetato di etile in esano) per ottenere 0,45 g di prodotto **4a** (Resa: 61,64%). LCMS: 921,8 (M+H)⁺.

Stadio 4b:



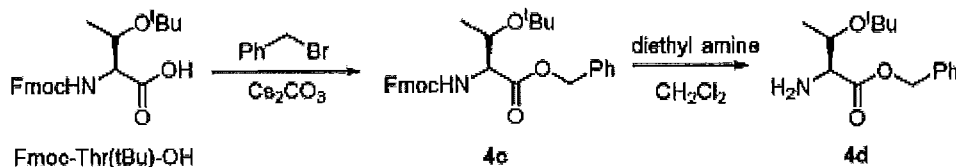
A una soluzione di composto **4a** (0,55 g) in metanolo (20 mL) è stato aggiunto 10% Pd-C (0,15 g) sotto atmosfera inerte. La miscela è stata agitata per 1 ora sotto atmosfera di H₂. Il completamento della reazione è stato confermato mediante analisi di TLC. Il catalizzatore Pd-C è stato poi rimosso mediante filtrazione attraverso un tampone di Celite® e lavato con 20 mL di metanolo. Il filtrato organico combinato con evaporazione sotto pressione ridotta dava luogo all'isolamento del prodotto **4b** (Resa: 0,42 g, 85,71%). LCMS: 831,5 (M+H)⁺.

20 Stadio 4c:



A una soluzione di composto **4b** (0,2 g, 0,3 mmol) in CH_2Cl_2 (5 mL), acido trifluoroacetico (5 mL) e una quantità catalitica di triisopropilsilano sono stati aggiunti e agitati a temperatura ambiente per 3 ore. La soluzione risultante è stata concentrata sotto vuoto e il materiale solido è stato purificato mediante il metodo di HPLC preparativa descritto sotto condizioni sperimentali (Resa: 0,065 g). HPLC: $t_R = 14,1$ min.; LCMS: 377,3 (M+H)⁺.

Sintesi di composto 4e, ($\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-OCO-Thr(O}^t\text{Bu)-Bzl}$):



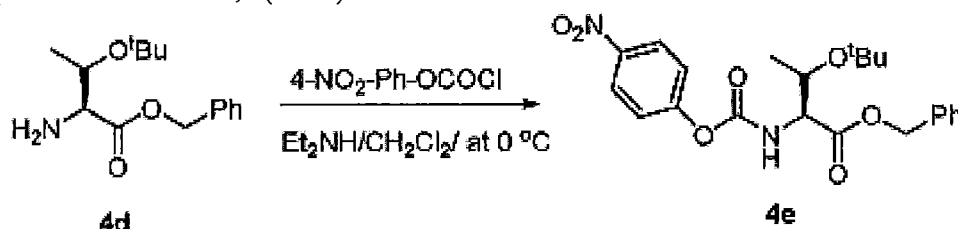
diethyl amine = dietil amina

A una soluzione di composto Fmoc-Thr(tBu)-OH (15 g, 37,73 mmol) in 100 mL di DMF è stato aggiunto Cs_2CO_3 (14,75 g, 45,2 mmol), e la miscela risultante è stata raffreddata a 0°C. Alla miscela di reazione raffreddata è stato aggiunto bromuro di benzile (7,74 g, 45,2 mmol) e la soluzione è stata agitata a temperatura fredda come ghiaccio per 30 minuti e poi a temperatura ambiente per 12 ore. La miscela di reazione è stata concentrata sotto pressione ridotta e diluita con acetato di etile. Lo strato organico è stato lavato con acqua, seguita da soluzione di salamoia, ed essiccato su Na_2SO_4 . La soluzione filtrata è stata concentrata e purificata mediante cromatografia su colonna di gel di silice (eluente: 0-30% acetato di etile in esano) per ottenere 18 g di **4c** come solido bianco.

LCMS: 433,1 (M-O^tBu)⁺, 397,2 (M-OBzl)⁺.

Il gruppo Fmoc sul composto **4c** (25 g, 51,3 mmol) è stato deprotetto mediante l'aggiunta di dietilammina (100 mL) al composto **4d** (25 g, 51,3 mmol) in CH_2Cl_2 (100 mL) per 1 ora con

agitazione a temperatura ambiente. La soluzione risultante è stata concentrata sotto vuoto e il residuo denso è stato purificato mediante cromatografia su colonna di allumina neutra (eluente: 0-50% acetato di etile in esano e poi 0-5% metanolo in cloroformio) per ottenere 10,6 g di composto **4d**. LCMS: 266,5 (M+H)⁺.



A una soluzione di composto **4d** (1,5 g, 5,65 mmol) in CH₂Cl₂ (25 mL) è stato aggiunto TEA (1,14 g, 11,3 mmol) e la soluzione è stata agitata a temperatura ambiente per 5-10 minuti. A questa miscela è stata aggiunta una soluzione di cloroformiato di 4-nitrofenil (1,4 g, 6,78 mmol) in CH₂Cl₂ (10 mL) e la miscela risultante è stata agitata a temperatura ambiente per 12 ore. Il completamento della reazione è stato confermato mediante analisi di TLC. Dopo il completamento della reazione, il tutto è stato diluito con DCM e lavato con soluzione 1,0 M di bisolfato di sodio, seguita da soluzione 1,0M di carbonato di sodio. Lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato ed evaporato sotto pressione ridotta per ottenere il composto grezzo **4e**, che è stato ulteriormente purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (eluente: 0-20% acetato di etile in esano) per ottenere 0,7 g di prodotto **4e**. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 1,04 (s, 9H), 1,16 (d, 3H), 4,11 (m, 1H), 5,11 (m, 3H), 6,91 (d, 2H), 7,40 (m, 5H), 8,10 (d, 2H), 8,26 (br s, 1H).

10

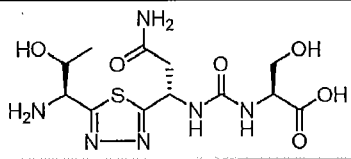
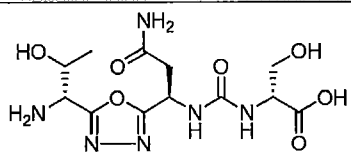
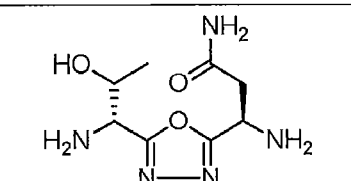
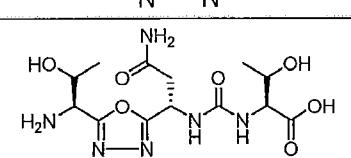
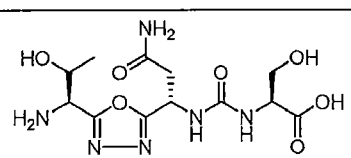
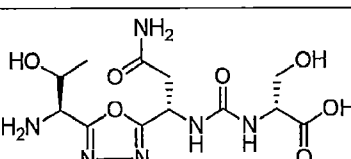
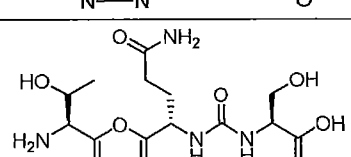
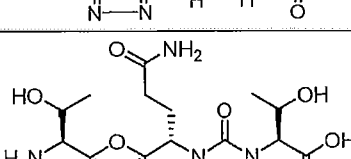
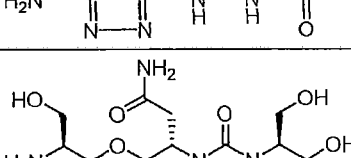
15

I composti nella tabella 3 sotto sono stati preparati sulla base delle procedure sperimentali descritte sopra.

20

Tabella 3

Composto No.	Struttura	LCMS (M+H) ⁺	HPLC t _R in min
5.		391.1	12.43

Composto No.	Struttura	LCMS (M+H) ⁺	HPLC t _R in min
6.		377.1	-
7.		361.1	12.21
8.		230.1	12.95
9.		375.4	11.55
10.		361.2	11.91
11.		361.1	12.08
12.		375.2	11.5
13.		389.1	11.10
14.		347.1	12.58

Composto No.	Struttura	LCMS (M+H) ⁺	HPLC t _R in min
15.		376.1	12.20
16.		375.2	11.91
17.		361.2	12.34
18.		362.1	12.50
19.		348.1	12.83
20.		391.1	-

I composti mostrati sotto nella tabella 4, che possono essere preparati mediante la seguente procedura simile a come descritto sopra con modificazione adatta nota all'esperto nel ramo, sono anch'essi inclusi nella portata della presente domanda.

Tabella 4

Composto No.	Struttura	Composto No.	Struttura
21.		26.	

Composto No.	Struttura	Composto No.	Struttura
22.		27.	
23.		28.	
24.		29.	
25.			-

Salvataggio di proliferazione di splenociti di topo in presenza di PD-L1/PD-L2 ricombinante

PD-L1 di topo ricombinante (tm-PDL-1, cat n°: 1019-B7-100; R&D Systems) sono stati utilizzati come fonte di PD-L1.

5 Requisiti:

- Splenociti di topo raccolti da topi C57 BL6 di 6-8 settimane di età; RPMI 1640 (GIBCO, Cat # 11875); DMEM con elevato contenuto di glucosio (GIBCO, Cat # D6429); siero bovino fetale [Hyclone, Cat # SH30071.03]; Penicillina (10000unità/mL)-Streptomicina (10.000µg/mL) Liquido (GIBCO, Cat # 15140-122); soluzione di Piruvato di Sodio MEM 100mM (100x),
10 Liquido (GIBCO, Cat # 11360); amminoacido non essenziale (GIBCO, Cat # 11140); L-Glutammina (GIBCO, Cat # 25030); anticorpo anti-CD3 (eBiosciences - 16-0032); anticorpo anti-CD28 (eBiosciences - 16-0281); tampone di lisi ACK (1mL) (GIBCO, Cat # - A10492); Histopaque (densità 1,083 gm/mL) (SIGMA 10831); soluzione di blu di tripano

- (SIGMAT8154); siringa Norm Ject Luer Lock da 2 mL (Sigma 2014-12); setaccio cellulare in nylon da 40 µm (BD FALCON 35230); Emacitometro (Bright line-SIGMA Z359629); tampone FACS (PBS/0,1% BSA): soluzione salina tamponata con fosfato (PBS) pH 7,2 (HiMedia TS1006) con albumina di siero bovino (BSA) 0,1% (SIGMA A7050) e azoturo di sodio
- 5 (SIGMA 08591); soluzione stock 5 mM di CFSE: soluzione stock di CFSE è stata preparata diluendo CFSE liofilizzato con 180 µL di dimetilsolfossido (DMSO C₂H₆SO, SIGMA-D-5879) e ripartita in aliquote in provette per uso ulteriore. Concentrazioni operative sono state titolate da 10 µM a 1 µM. (eBioscience-650850-85); Tripsina 0,05% e EDTA 0,02% (SIGMA 59417C); piastre ELISA di formato a 96 pozzetti (Corning CLS3390); calibro BD FACS (E6016);
- 10 Chimera B7-H1/PDL1 Fc di topo ricombinante, (rm-PD-L1 cat no: 1019-B7-100).

Protocollo

Preparazione e coltura di splenociti:

- Splenociti raccolti in una provetta Falcon da 50 mL schiacciando milza di topo in un setaccio cellulare da 40 µm sono stati ulteriormente trattati con 1 mL di tampone di lisi di ACK per 5
- 15 minuti a temperatura ambiente. Dopo lavaggio con 9 mL di mezzo completo RPMI, le cellule sono state risospese in 3 mL di 1xPBS in una provetta da 15 mL. 3 mL di Histopaque sono stati aggiunti attentamente al fondo della provetta senza alterare la sospensione sovrastante di splenociti. Dopo centrifugazione a 800xg per 20 minuti a temperatura ambiente, lo strato opaco di splenociti è stato raccolto attentamente senza alterare/mischiare gli strati. Splenociti sono
- 20 stati lavati due volte con 1xPBS fredda, e poi sottoposti a conta di cellule totali utilizzando il metodo di esclusione con blu tripano e utilizzati ulteriormente per saggi basati su cellule.

Splenociti sono stati coltivati in mezzo completo RPMI (RPMI + siero fetale bovino al 10% + piruvato di sodio 1 mM + penicillina 10.000unità/mL e streptomina 10.000µg/mL) e mantenuti in un incubatore a CO₂ con CO₂ 5% a 37°C.

- 25 **Saggio di proliferazione di CFSE:**

CFSE è un colorante che si diffonde passivamente in cellule e si lega a proteine intracellulari. 1×10^6 cellule/mL di splenociti raccolti sono stati trattati con $5 \mu\text{M}$ di CFSE in soluzione preriscaldata di $1 \times \text{PBS}/0,1\%$ BSA per 10 minuti a 37°C . CFSE in eccesso è stato raffreddato rapidamente utilizzando 5 volumi di mezzo di coltura raffreddato in ghiaccio alle cellule e

5 incubato su ghiaccio per 5 minuti. Splenociti marcati con CFSE sono stati ulteriormente sottoposti a tre lavaggi con mezzo RPMI completo raffreddato in ghiaccio. 1×10^5 splenociti marcati con CFSE aggiunti a pozzetti contenenti cellule MDA-MB231 (1×10^5 cellule coltivate in mezzo DMEM ad alto contenuto di glucosio) o PDL-1 umano ricombinante (100 ng/mL) e composti da testare. Splenociti sono stati stimolati con anticorpo anti-CD3 di topo e anticorpo

10 anti-CD28 di topo ($1 \mu\text{g/mL}$ ciascuno), e la coltura è stata ulteriormente incubata per 72 ore a 37°C con CO_2 5%. Cellule sono state raccolte e lavate tre volte con tampone di FACS raffreddato in ghiaccio e la percentuale di proliferazione è stata analizzata mediante citometria a flusso con filtri di eccitazione a 488 nm e di emissione a 521 nm.

Compilazione, elaborazione di dati e inferenza:

15 La percentuale di proliferazione di splenociti è stata analizzata utilizzando il programma FACS cell quest e la percentuale di salvataggio di proliferazione di splenociti con composto è stata stimata dopo la deduzione della percentuale di valore di proliferazione di fondo e normalizzazione a percentuale di proliferazione di splenociti stimolati (controllo positivo) come 100%.

20 Splenociti stimolati: Splenociti + stimolazione con anti-CD3/CD28

Proliferazione di fondo: Splenociti + anti-CD3/CD28 + PD-L1

Proliferazione con composto: Splenociti + anti-CD3/CD28 + PD-L1 + Composto

L'effetto del composto è esaminato aggiungendo la concentrazione necessaria di composto a splenociti stimolati con anti-CD3/CD28 in presenza di ligando (PDL-1)

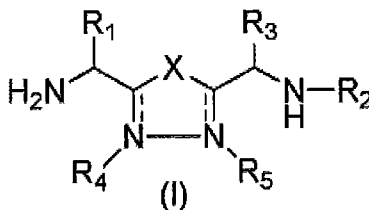
25

Tabella 5

Composto n°	Percentuale di salvataggio di proliferazione di splenociti a una concentrazione di composto di 100 nM	Compound No.	Percentuale di salvataggio di proliferazione di splenociti a una concentrazione di composto di 100 nM
1	61.2	13	75
2	80.3	14	53
3	48.4	15	69
4	60	16	56
9	74	17	53
10	58	18	68
12	92	-	-

RIVENDICAZIONI

1. Composto di formula (I)



5

nella quale

R₁ rappresenta una catena laterale di un amminoacido scelto tra Ser, Thr, Phe, Ala o Asn;

X è S o R;

R₂ è idrogeno o -CO-Aaa;

10 Aaa è un residuo amminoacidico scelto tra Ser, Asn e Thr; in cui una estremità C-terminale di esso è una estremità terminale libera, è amidata o è esterificata;

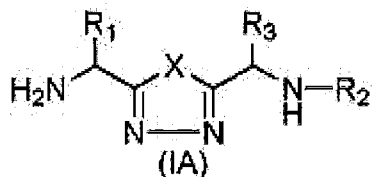
R₃ rappresenta una catena laterale di un amminoacido scelto tra Ser, Ala, Glu, Gln, Asn e Asp;

----- è un legame opzionale; e

R₄ e R₅ indipendentemente sono idrogeno o assenti;

15 o un sale farmaceuticamente accettabile di esso.

2. Composto secondo la rivendicazione 1, avente una struttura di formula (IA):

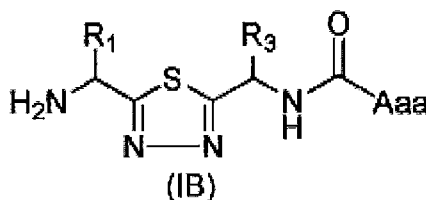


3. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui X è S.

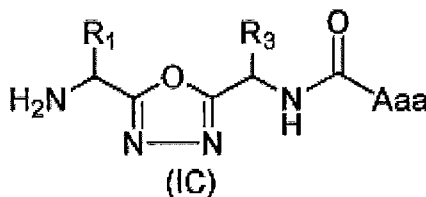
4. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui X è O.

5. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R₂ è idrogeno.

6. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la struttura di formula (IB):



7. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la struttura di formula (IC):



10. 8. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R₂ è -CO-Aaa.

9. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui Aaa è il residuo amminoacidico scelto tra Ser e Thr; in cui l'estremità C-terminale è una estremità terminale libera.

10. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R₁ rappresenta la catena laterale di un residuo amminoacidico Ser o Thr.

15. 11. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R₃ rappresenta la catena laterale di un residuo amminoacidico scelto tra Glu, Gin, Asn, e Asp.

12. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui:

R₁ rappresenta la catena laterale del residuo amminoacidico Ser e Thr;

R_2 è -CO-Aaa;

Aaa è il residuo amminoacidico scelto tra Ser e Thr; in cui l'estremità C-terminale è una estremità terminale libera; e

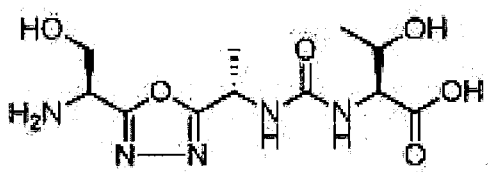
R_3 rappresenta la catena laterale del residuo amminoacidico scelto tra Glu, Gin, Asn, e Asp.

- 5 **13.** Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R_1 rappresenta la catena laterale del residuo amminoacidico Ser.
- 14.** Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R_1 rappresenta la catena laterale del residuo amminoacidico Thr.
- 15.** Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R_1 rappresenta la catena laterale del residuo
10 amminoacidico Phe.
- 16.** Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R_1 rappresenta la catena laterale del residuo amminoacidico Ala.
- 17.** Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R_1 rappresenta la catena laterale del residuo amminoacidico Asn.
- 15 **18.** Composto secondo la rivendicazione 1, in cui Aaa è Thr.
- 19.** Composto secondo la rivendicazione 1, in cui Aaa è Ser.
- 20.** Composto secondo la rivendicazione 1, in cui Aaa è Asn.
- 21.** Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R_3 rappresenta la catena laterale del residuo amminoacidico Glu.
- 20 **22.** Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R_3 rappresenta la catena laterale del residuo amminoacidico Gin.
- 23.** Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R_3 rappresenta la catena laterale del residuo amminoacidico Asn.
- 24.** Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R_3 rappresenta la catena laterale del residuo
25 amminoacidico Asp.

25. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R₃ rappresenta la catena laterale del residuo amminoacidico Ser.

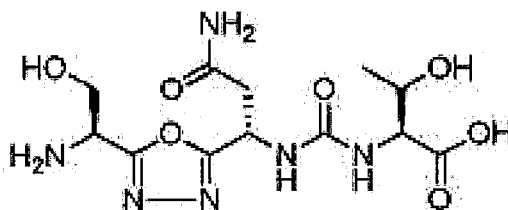
26. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R₃ rappresenta la catena laterale del residuo amminoacidico Ala.

5 27. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



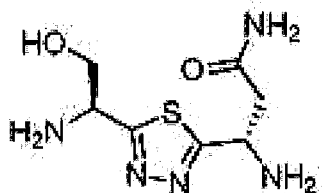
o il suo sale farmaceuticamente accettabile.

28. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



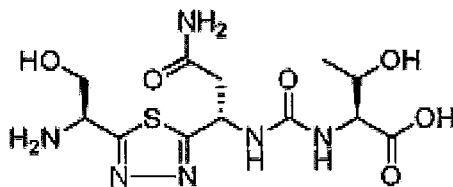
10 o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

29. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

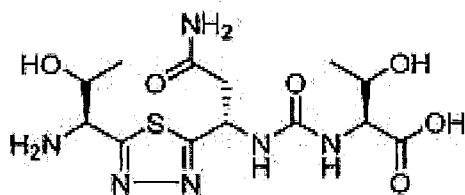
30. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



15

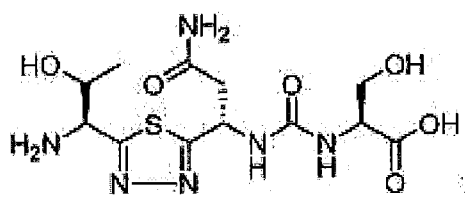
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

31. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

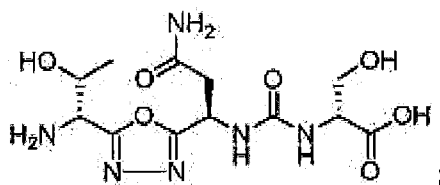
32. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



5

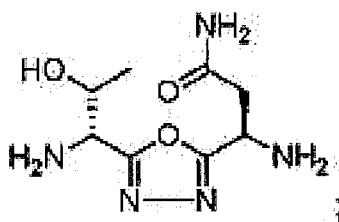
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

33. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



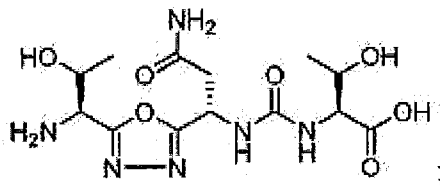
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

10 34. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



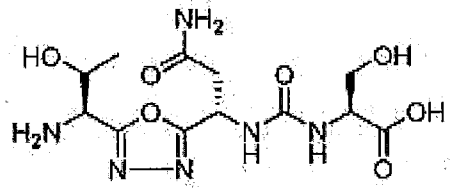
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

35. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



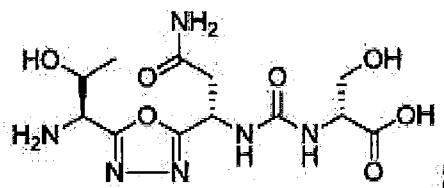
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

36. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



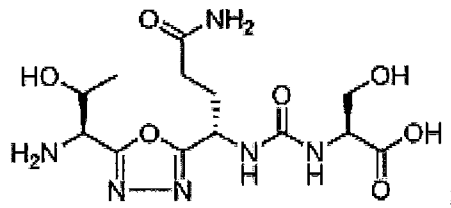
5 o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

37. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

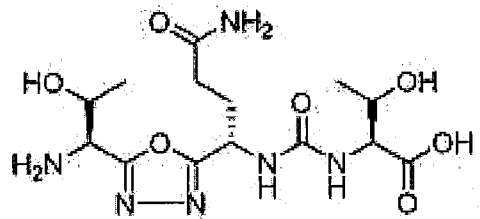
38. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



10

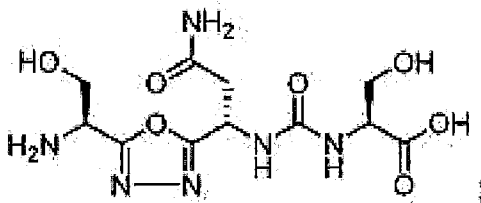
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

39. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



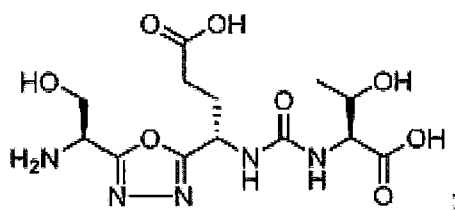
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

40. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



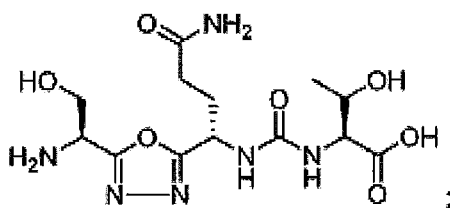
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

5 41. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



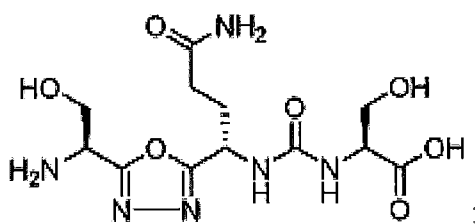
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

42. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



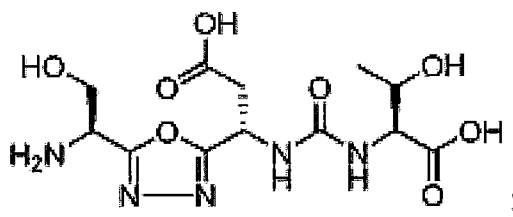
10 o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

43. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



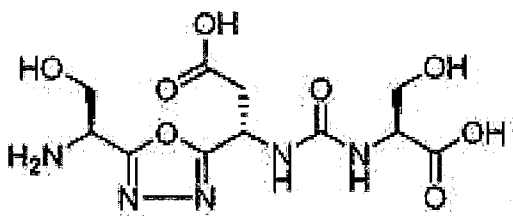
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

44. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



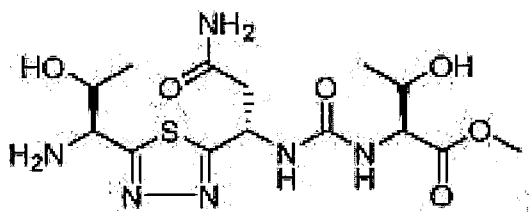
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

45. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



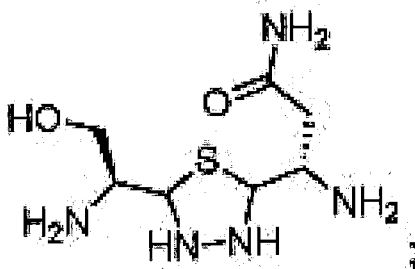
5 o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

46. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

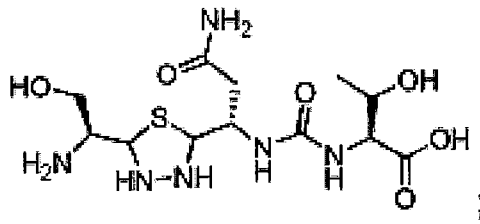
47. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



10

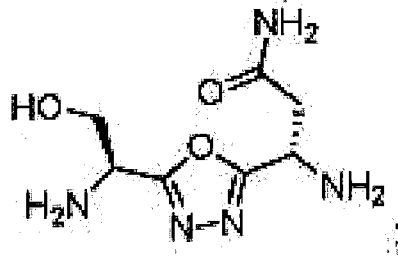
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

48. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



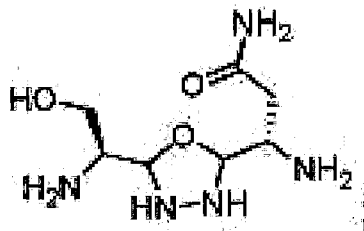
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

49. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



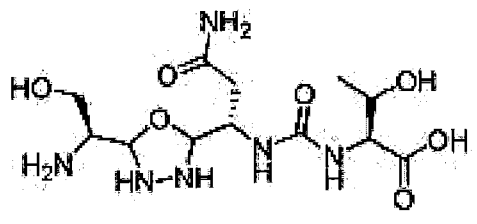
5 o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

50. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

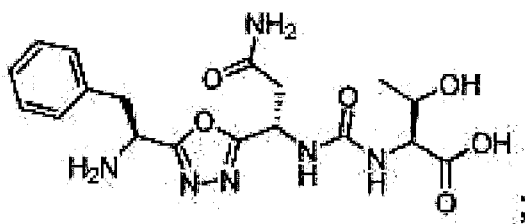
51. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



10

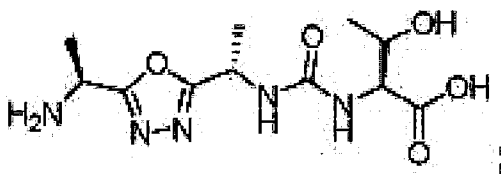
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

52. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



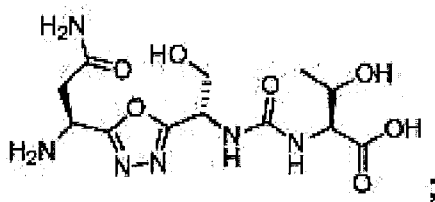
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

53. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



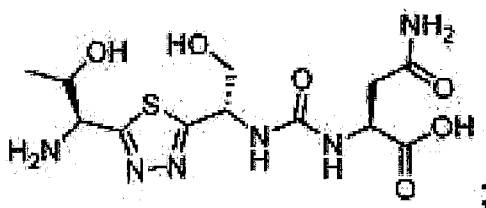
5 o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

54. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

55. Composto secondo la rivendicazione 1, avente la seguente struttura:



10

o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

56. Composizione farmaceutica comprendente almeno un composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 55 o un suo sale farmaceuticamente accettabile e un veicolo o un eccipiente farmaceuticamente accettabile.

57. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 56, comprendente inoltre almeno un agente farmaceutico scelto tra un agente anticancro, un agente chemioterapico e un composto antiproliferativo.
58. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 55 o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso nella modulazione di una risposta immunitaria mediata dalla via (pathway) di segnalazione di PD-1.
59. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 55 o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso nel trattamento di un cancro.
60. Composto per l'uso nella rivendicazione 59, in cui il cancro è scelto tra cancro osseo, cancro della testa o del collo, cancro pancreatico, cancro della pelle, melanoma maligno cutaneo o intraoculare, carcinoma dell'endometrio, carcinoma della cervice, carcinoma della vagina, carcinoma della vulva, morbo di Hodgkin, linfoma non-Hodgkin, cancro dell'esofago, cancro dell'intestino tenue, cancro del sistema endocrino, cancro della ghiandola tiroidea, cancro della ghiandola paratiroidea, cancro della ghiandola surrenale, sarcoma di tessuto molle, cancro dell'uretra, cancro del pene, leucemie croniche e acute, inclusa leucemia mieloide acuta, leucemia mieloide cronica, leucemia linfoblastica acuta, leucemia linfocitica cronica, tumori solidi infantili, linfoma linfocitico, cancro della vescica, cancro del rene o dell'uretere, carcinoma della pelvi renale, neoplasia del sistema nervoso centrale (CNS), linfoma primario del CNS, angiogenesi tumorale, tumore dell'asse spinale, glioma del tronco encefalico, adenoma pituitario, sarcoma di Kaposi, cancro epidermoide, cancro a cellule squamose, linfoma a cellule T, cancro indotti dall'ambiente, inclusi quelli indotti da amianto, e combinazioni dei suddetti cancro.
61. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 55 o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso nel trattamento di una malattia infettiva.
62. Composto per uso secondo la rivendicazione 61, in cui la malattia infettiva è una malattia infettiva batterica, una malattia infettiva virale o una malattia infettiva fungina.

63. Composto per uso secondo la rivendicazione 62, in cui la malattia infettiva è scelta tra HIV, Influenza, Herpes, Giardiasi, Malaria, Leishmaniosi, l'infezione patogena dal virus dell'epatite (A, B, e C), herpes virus (per esempio VZV, HSV-I, HAV-6, HSV-II, e CMV, virus di Epstein Barr), adenovirus, virus influenzale, flavivirus, echovirus, rhinovirus, coxsackievirus, coronavirus,
- 5 virus respiratorio sinciziale, virus della parotite, rotavirus, virus del morbillo, virus della rosolia, parvovirus, vaccinia virus, virus HTLV, virus della dengue, papillomavirus, virus dei molluschi, poliovirus, virus della rabbia, virus JC e virus dell'encefalite arbovirale, infezione patogena dai batteri *chlamydia*, batteri rickettsia, micobatteri, stafilococchi, streptococchi, pneumococchi, meningococchi, e conococchi, *klebsiella*, *proteus*, *serratia*, *pseudomonas*, *E. coli*, *legionella*, difterite,
- 10 *salmonella*, bacilli, colera, tetano, botulismo, antrace, peste, leptosirosi, e batteri della malattia di Lyme, infezione patogena dai funghi *Candida* (*albicans*, *krusei*, *glabrata*, *tropicalis*, etc.), *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger*, etc.), genere *Mucorales* (*mucor*, *absidia*, *rhizophus*), *Sporothrix schenckii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* e *Histoplasma capsulatum*, e infezione patogena dai parassiti *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*,
- 15 *Acanthamoeba* sp., *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* sp., *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii*, o *Nippostrongylus brasiliensis*.