

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **035817**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.08.14

(21) Номер заявки
201791999

(22) Дата подачи заявки
2016.03.09

(51) Int. Cl. **A61K 39/12** (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01)
C07H 21/02 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ АКТИВАЦИИ СИГНАЛИНГА, ЗАВИСИМОГО ОТ "ГЕНА СТИМУЛЯТОРА ИНТЕРФЕРОНА"

(31) **62/131,235**

(32) **2015.03.10**

(33) **US**

(43) **2018.02.28**

(86) **PCT/US2016/021597**

(87) **WO 2016/145102 2016.09.15**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АДУРО БАЙОТЕК, ИНК. (US)

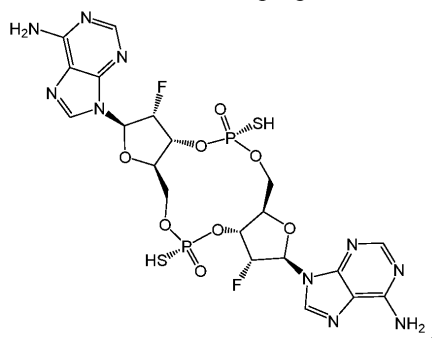
(72) Изобретатель:
**Катибах Джордж Эдвин, Канн
Дэвид, Сунг Леонард, Готье Келси,**

**Гликман Лаура Хикс, Леонг Джастин,
Макуэртер Сара М., Дубенски, мл.
Томас У. (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) **US-A1-20080286296
US-A1-20140205653
US-B2-7592326
US-B2-7709458**

(57) Изобретение представляет высокоактивный циклический динуклеотидный (CDN) иммунный стимулятор, который активирует DC через недавно обнаруженный цитоплазматический рецептор, известный как STING (Stimulator of Interferon Genes-стимулятор генов интерферона). В частности, CDN по данному изобретению индуцирует человеческую STING-зависимую продукцию интерферона I типа и представляет собой 2',2"-diF-Rp,Rp,бис-3',5'CDN, имеющий структуру



или его фармацевтически приемлемую соль. Изобретение также представляет фармацевтические композиции, содержащие заявленное соединение или его фармацевтически приемлемую соль, способы лечения, а также применение соединения или его фармацевтически приемлемой соли для лечения заболевания, выбранного из группы, состоящей из рака, острого отторжения трансплантата органа, сахарного диабета I типа, ревматоидного артрита, псориаза, болезни Крона, рестеноза и аллергической астмы.

B1**035817****035817****B1**

Перечень последовательностей

Данная заявка содержит перечень последовательностей, который был представлен в формате ASCII через EFS-Web и полностью включен в данный документ посредством ссылки. Указанная копия ASCII, созданная 9 марта 2016, названа ANZ1004PCT_SeqListing.txt и составляет 22 килобайта по размеру.

Уровень техники

Нижеследующее описание уровня техники по данному изобретению предоставляется исключительно для того, чтобы помочь читателю понять изобретение и не принято для описания или формирования предшествующего уровня техники данного изобретения.

Новое понимание механизмов, лежащих в основе иммунного ускользания, наряду с комбинированными схемами лечения, которые потенцируют эффективность терапевтической вакцинации - прямо или косвенно - путем комбинации с ингибиторами иммунной контрольной точки или другими видами терапии, послужило основой для разработки вакцин или иммунных модуляторов, которые могут вызывать или повышать эффективный адаптивный иммунный ответ, состоящий из опухолеспецифических CD4+ и CD8+Т-клеток, специфичных к целевой злокачественной опухоли, что приводит к противоопухолевому ответу и клинической пользе. Как врожденная иммунная система, задействована целевыми лигандами, формирует развитие адаптивного ответа и поддается разработке вакцин и иммуномодуляторов (Reed et al., Trends Immunol., 30: 23-32, 2009; Dubensky and Reed, Semin. Immunol., 22: 155-61, 2010; Kastenmuller et al., J. Clin. Invest., 121: 1782-1796, 2011; Coffman et al., Immunity, 33: 492-503, 2010).

Циклические динуклеотиды CDN циклический-ди-АМФ (продуцируемые *Listeria monocytogenes* и другими бактериями) и его аналоги циклический-ди-ГМФ и циклический-ГМФ-АМФ (цГАМФ) распознаются клеткой-хозяином как патоген-ассоциированный молекулярный паттерн (PAMP), которые связываются с рецептором распознавания патогенов (PRR), известным как стимулятор генов интерферона (STING). STING является адаптерным белком в цитоплазме клеток-хозяев млекопитающих, который активирует TANK связывающую киназу (TBK1)-IRF3 и NF-κB, что приводит к индукции IFN-β и других продуктов генов, которые выражено активируют врожденный иммунитет. В данное время признано, что STING является компонентом цитозольного контрольного пути хозяина (Vance et al., 2009), который воспринимает инфекцию внутриклеточными патогенами и в ответ индуцирует продуцирование IFN-β, что приводит к развитию адаптивного защитного патоген-специфического иммунного ответа, состоящего как из антигенспецифических Т-клеток CD4 и CD8, так и патоген-специфических антител. Примеры циклических пуриновых динуклеотидов описаны, в частности, в патентах США № 7709458 и 7592326; заявках на патент WO 2007/054279, WO 2014/093936 и WO 2014/189805; и Yan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 18: 5631 (2008).

Сообщалось, что неохарактеризованный ген мыши со значительной структурной гомологией с каталитическим доменом олигоаденилат синтазы циклической ГМФ-АМФ-синтазы человека является ферментом, ответственным за продуцирование STING-связывающих CDN в клетках млекопитающих. Sun et al., Science 339(6121):786-91, 2013. Названная циклическая ГМФ-АМФ-синтаза (цГАС), этот фермент катализирует синтез цГАМФ из АТФ и ГТФ в присутствии ДНК. Этот цГАМФ затем функционирует как второй мессенджер, который связывается со STING и активирует его. Эти цГАС-продуцируемые CDN структурно отличались от продуцируемых бактериями CDN, поскольку они обладают необычной фосфодиэфирной связью. Таким образом, хотя продуцируемые бактериями CDN содержат бис-3',5' связь между двумя нуклеотидами, CDN млекопитающих содержат одну 2',5' связь и одну 3',5' связь или так называемую "смешанную связь" (ML) или неканонические CDN. Эти молекулы 2',5'-3',5' связывают STING с нМ аффинностью, примерно в 300 раз лучше, чем бактериальный ц-ди-ГМФ.

Человеческий STING (hSTING) также имеет известные полиморфизмы, включая аллели, кодирующие гистидин в положении 232, которые являются рефракторными по отношению к бис-3',5' (каноническим) CDN, но не 2',5'-3',5' (неканоническая, смешанная связь) CDN (Diner et al., Cell Reports 3, 1355-61, 2013; Jin et al., Genes and Immunity, 12: 263-9, 2011). Сообщалось, что одинарные нуклеотидные полиморфизмы в гене hSTING влияют на чувствительность к каноническим CDN бактериального происхождения (Diner et al., 2013; Gao et al., Cell 154, 748-762, 2013; Conlon et al., J. Immunol. 190: 5216-5225, 2013). Сообщалось о пяти гаплотипах hSTING (WT, REF, HAQ, AQ и Q аллелях), которые различаются в положениях аминокислот 71, 230, 232 и 293 (Jin et al., 2011; Yi et al., PLOS One 8: E77846, 2013). Сообщалось, что клетки, экспрессирующие hSTING, плохо реагируют на стимуляцию бактериальными CDN цГАМФ, ц-ди-АМФ и ц-ди-ГМФ с бис-(3',5') связями, но реагируют на эндогенно продуцируемый продукт цГАС, ML цГАМФ (Diner et al., 2013). Таким образом, было высказано предположение, что молекулы 2',5'-3',5' представляют гораздо более сильные физиологические лиганды с точки зрения таргетирования hSTING (Zhang et al., Mol. Cell. 51:226-35, 2013; Xiao and Fitzgerald, Mol. Cell 51: 135-39, 2013).

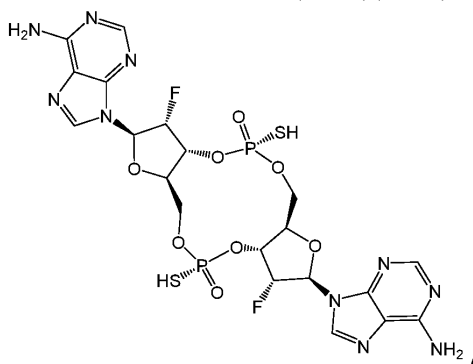
Краткое описание сущности изобретения

Целью изобретения является создание композиций и способов, которые модулируют иммунные реакции в ответ на заболевания. Еще одной целью изобретения является создание композиций и способов, которые обеспечивают циклический динуклеотидный аналог пурина, который проявляет улучшенные характеристики при использовании для активации STING млекопитающих, а предпочтительно человека.

Еще одной дополнительной целью изобретения является создание композиций и способов лечения рака.

Настоящее изобретение представляет соединение или фармацевтически приемлемые соли, которые связываются со стимулятором генов интерферона ("STING") и стимулируют STING-зависимую выработку интерферона I типа при концентрациях, по меньшей мере, в 10 раз ниже, чем один или более (и предпочтительно каждый из) из бис-3',5' ц-ди-ГМФ (т.е. 3'3'-(G) (G)), бис-3',5' ц-ди-АМФ (т.е. 3'3'-(A)(A) или CDA) или бис-3',5' ц-ГМФ-АМФ (т.е. 3'3'-(G)(A) или цГМФ) при измерении с использованием по меньшей мере одного человеческого аллеля STING. Предпочтительно, это измеряется с использованием аллеля hSTING (REF), описанного в Ishikawa H. and Barber, GN (2008). Nature 455, 674-678, белковой последовательностью которого является эталонная последовательность NCBI NP 938023 (SEQ ID NO: 1; фиг. 6). Это наиболее предпочтительно измеряется *in vitro* с использованием клеточной линии млекопитающих (например, клеток HEK293T), которая не экспрессирует функциональный STING эндогенно, но была модифицирована, чтобы стабильно экспрессировать аллель hSTING (REF), как описано ниже (например, см. пример 12).

В первом аспекте представлено соединение 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A), имеющее структуру



или его фармацевтически приемлемая соль.

В некоторых вариантах реализации вышеуказанного аспекта ди-F-CDN соединение включает его фармацевтически приемлемые соли. В некоторых вариантах реализации фармацевтически приемлемая соль выбрана из группы, состоящей из натрия, калия, кальция, магния, цинка, алюминия, аммония, диэтиламина, оламина, бензатина, бенатамина, трометамин (2-амино-2-(гидроксиметил)пропан-1,3-диол), морфолина, эпоамина, пиперидина, пиколина, дициклогексиламина, N,N'-дибензилэтилендиамина, 2-гидроксиэтиламина, три-(2-гидроксиэтил)амина, хлорпрокаина, холина, деанола, имидазола, диэтанолламина, этилендиамина, меглума (N-метилглюкамин), прокаина, дибензилпиперидина, дегидроабетиламина, глюкамина, коллидина, хинина, хинолона, эрбумина, лизина и соли аргинина.

В одном варианте реализации вышеуказанного аспекта ди-F-CDN соединение представлено в виде его натриевой соли.

Во втором аспекте настоящее изобретение представляет фармацевтические композиции, содержащие ди-F-CDN-соединение, как описано в первом аспекте и любых его вариантах реализации, как описано выше, включая любые его фармацевтически приемлемые соли и фармацевтически приемлемый наполнитель.

В третьем аспекте настоящее изобретение представляет фармацевтические композиции, содержащие ди-F-CDN-соединение, как описано в первом аспекте и любых его вариантах реализации, как описано выше, включая любые его фармацевтически приемлемые соли, другое терапевтическое средство и фармацевтически приемлемый наполнитель, где другое терапевтическое средство выбрано из соединения, как описано в табл. 2.

В четвертом аспекте изобретение представляет способ лечения индивидуума, страдающего от рака, причем способ включает непарентеральное или парентеральное введение индивидууму эффективного количества ди-F-CDN-соединения, как описано в первом аспекте и любых их вариантах реализации, как описано выше, включая любые его фармацевтически приемлемые соли. В некоторых вариантах реализации введение представляет собой подкожное, внутримышечное, внутрикожное, в слизистую, вагинальное, цервикальное, периопухолевое, внутриопухолевое или непосредственно в дренирующий лимфоузел (узлы) около опухоли. В некоторых вариантах реализации введение представляет собой введение в слизистую оболочку, предпочтительно орально.

В первом варианте реализации четвертого аспекта индивидуум, получающий такое лечение, может страдать от рака, выбранного из группы, состоящей из колоректального рака, воздушно-пищеварительного плоскоклеточного рака, рака легкого, рака мозга, рака печени, рак желудка, рак мочевого пузыря, рака щитовидной железы, рака надпочечников, рака желудочно-кишечного тракта, рака ротоглотки, рака пищевода, рака головы и шеи, рака яичников, рака матки, рака шейки матки, рака эндометрия, рака молочной железы, меланомы, рака предстательной железы, карциномы поджелудочной железы, карциномы почек, саркомы, лейкемии, лимфомы и множественной миеломы.

Во втором варианте реализации четвертого аспекта и его первого варианта реализации способ лече-

ния индивидуума, страдающего от рака, дополнительно включает назначение одного или нескольких дополнительных способов лечения рака. В некоторых вариантах реализации один или несколько дополнительных методов лечения рака выбраны из группы, состоящей из лучевой терапии, хирургии, химиотерапии или иммунотерапии (например, без ограничения, иммуномодулятор, ингибитор иммунной контрольной точки, клеточную иммунотерапию или противораковую вакцину). В некоторых вариантах реализации один или несколько дополнительных методов лечения рака включают инактивированную опухолевую клетку, которая экспрессирует и секретирует один или несколько цитокинов или один или несколько белков теплового шока. В некоторых вариантах реализации цитокин выбран из группы, состоящей из GM-CSF, CCL20, CCL3, IL-12p70 и FLT-3-лиганда. В некоторых вариантах реализации белок теплового шока представляет собой gp96-Ig-белок. В некоторых вариантах реализации способ включает применение одного или нескольких дополнительных методов лечения рака, выбранных из группы, состоящей из химиотерапевтического агента; ингибитора иммунной контрольной точки; агониста TLR; вакцины, выбранной для стимуляции иммунного ответа на один или несколько антигенов рака, терапевтического антитела, которое индуцирует антителозависимую клеточную цитотоксичность; иммуномодулирующей клеточной линии; инактивированных или аттенуированных бактерий, которые индуцируют врожденный иммунитет; антигена, выбранного с целью индуцирования иммунного ответа, и композиции, которая опосредует врожденную иммунную активацию через Toll-подобные рецепторы (TLR), (NOD)-подобные рецепторы (NLR), I-подобные рецепторы на основе гена (RIG), индуцируемого ретиноиновой кислотой (RLR), лектиновые рецепторы C-типа (CLR) или связанные с патогенами молекулярные структуры ("PAMP"). В некоторых вариантах реализации ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело против PD-1, антитело против PD-L1, антитело против CTLA-4, антитело против TIM-3, антитело против BTLA или антитело анти-LAG-3. В некоторых вариантах реализации изобретения агонист TLR является CpG или монофосфорилипидом A. В некоторых вариантах реализации терапевтическое антителом, которое индуцирует антитело-зависимую клеточную цитотоксичность является ритуксимаб, ибритумаб, тозитумаб, цетуксимаб, трастузумаб, брентуксимаб ведотин, алемтузумаб, онколим, ибилиумаб, витаксин или бевацизумаб.

В пятом аспекте изобретение относится к способу лечения заболевания у индивидуума, включающему введение индивидууму, нуждающемуся в этом, i) эффективного количества ди-F-CDN соединения, как описано в первом аспекте и любых их вариантах реализации, как описано выше, включая любые его фармацевтически приемлемые соли; и ii) эффективного количества одного или нескольких терапевтических антител, которые индуцируют антителозависимую клеточную цитотоксичность, при этом заболевание выбрано из группы, состоящей из рака, острого отторжения трансплантата органа, сахарного диабета I типа, ревматоидного артрита, псориаза, болезни Крона, рестеноза и аллергической астмы. В некоторых вариантах реализации рак выбран из группы, состоящей из лимфомы (например, В-клеточной лимфомы), рака молочной железы, хронического лимфоцитарного лейкоза, колоректального рака, меланомы, немелкоклеточной карциномы легкого, мелкоклеточного рака легкого, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы и других солидных опухолей. В некоторых вариантах реализации терапевтическое антитело выбрано из группы, состоящей из муромонаба-CD3, инфликсимаба, даклизумаба, омализумаба, абциксимаба, ритуксимаба, ибритумаба, тозитумаба, цетуксимаба, трастузумаба, брентуксимаба ведотина, алемтузумаба, онколима, ибилиумаба, витаксина и бевацизумаба.

Соединение ди-F-CDN, как описано в первом аспекте и любых его вариантах реализации, как описано выше, включая любые его фармацевтически приемлемые соли, или его композиции, как описано во втором и третьем аспектах, и любых их вариантах реализации, как описано выше, могут вводиться нуждающимся в них индивидууму, как описано в способах четвертого и пятого аспектов и любых их вариантах реализации, как описано выше, с помощью множества парентеральных и непарентеральных путей в композициях, содержащих фармацевтически приемлемые наполнители (например, преносчики, адъюванты, носители и тому подобное).

Предпочтительные непарентеральные пути включают пути введения в слизистые оболочки (например, оральный, вагинальный, назальный, цервикальный и т.д.). Предпочтительные парентеральные пути включают, но не ограничиваются ими, одно или несколько подкожных, внутривенных, внутримышечных, внутриартериальных, внутрикожных, интратекальных и эпидуральных введений.

Предпочтительно введение осуществляют подкожным, внутриопухолевым или периопухолевым путями, более предпочтительно подкожным введением.

В шестом аспекте настоящее изобретение представляет применение ди-F-CDN соединения, как описано в первом аспекте и любых его вариантах реализации, как описано выше, включая любые его фармацевтически приемлемые соли, при лечении рака. В некоторых вариантах реализации рак выбран из группы, состоящей из колоректального рака, воздушно-пищеварительного плоскоклеточного рака, рака легкого, рака мозга, рака печени, рак желудка, рак мочевого пузыря, рака щитовидной железы, рака надпочечников, рака желудочно-кишечного тракта, рака ротоглотки, рака пищевода, рака головы и шеи, рака яичников, рака матки, рака шейки матки, рака эндометрия, рака молочной железы, меланомы, рака предстательной железы, карциномы поджелудочной железы, карциномы почек, саркомы, лейкемии, лимфомы и множественной миеломы.

В седьмом аспекте настоящее изобретение представляет применение ди-F-CDN соединения, как описано в первом аспекте и любых его вариантах реализации, как описано выше, включая любые его фармацевтически приемлемые соли, при лечении заболевания, выбранного из группы, состоящей из рака, острого отторжения трансплантата органа, сахарного диабета I типа, ревматоидного артрита, псориаза, болезни Крона, рестеноза и аллергической астмы.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 2 показано связывание ди-F CDN с человеческим STING REF белком;
 на фиг. 3 - связывание ди-F CDN с человеческим STING WT белком;
 на фиг. 4 - последовательность белка hSTING (REF);
 на фиг. 5A-B - кратная индукция IFN β -люциферазного репортера с помощью hSTING (WT) в клетках HEK293T в диапазоне доз (5A) и при 6,25 мкМ CDN (5B);
 на фиг. 6A-B - кратная индукция IFN β -люциферазного репортера с помощью hSTING (REF) в клетках HEK293T в диапазоне доз (6A) и при 6,25 мкМ CDN (6B);
 на фиг. 7A-B - относительная экспрессия IFN β с помощью STING^{WT/WT} hPBMC в диапазоне доз (7A) и при 6,25 мкМ CDN (7B);
 на фиг. 8A-B - относительная экспрессия IFN β с помощью STING^{REF/REF} hPBMC в диапазоне доз (8A) и при 6,25 мкМ CDN (8B);
 на фиг. 9A-B - нормализованная экспрессия IFN β в hPBMC с hSTING (WT) (9A) или REF hSTING (REF) (9B) обработанных CDN;
 на фиг. 10A-B - нормализованная экспрессия TNF α в hPBMC с hSTING (WT) (10A) или REF hSTING (REF) (10B) обработанных CDN;
 на фиг. 11A-B - нормализованная экспрессия IL-6 hPBMC с hSTING (WT) (11A) или REF hSTING (REF) (11B) обработанных CDN;
 на фиг. 12A-B - нормализованная экспрессия IFN γ в hPBMC с hSTING (WT) (12A) или REF hSTING (REF) (12B) обработанных CDN;
 на фиг. 13A-B - нормализованная экспрессия IL-12p40 hPBMC с hSTING (WT) (13A) или REF hSTING (REF) (13B) обработанных CDN;
 на фиг. 14A-B - объем опухоли (14A) и процент SIY+CD8+T клеток (14B) в модели мышинной меланомы B16-SIY после внутриопухолевой инъекции CDN;
 на фиг. 15A-B показан объем опухоли в модели мышинной меланомы B16 (15A) или карциномы толстой кишки MC38 (15B) - внутриопухолевой инъекции CDN;
 на фиг. 16A-B - CD4+T-клеточный ответ специфический к антигену HIVgag p55 (15A) или CD8+T-клеточный ответ (15B) у мышей, которым вводили CDN и белок HIVgag p55.

Подробное описание сущности изобретения

Изобретение относится к производству и применению дифторзамещенного бис-3',5'-циклического динуклеотидного (ди-F-CDN) иммунного стимулятора, который активирует DC через цитоплазматический рецептор, известный как STING (стимулятор генов интерферона). В частности, CDN по настоящему изобретению предоставлен в виде композиции, содержащей дитио Rp,Rp ди-F-CDN.

Консервативные микробные структуры, известные как связанные с патогеном молекулярные структуры (PAMP), распознаются рецепторами распознавания структур клеток-хозяев (PRR с зародышевой кодированной специфичностью), вызывая каскад сигнальной передачи по ходу транскрипции, приводящий к индукции цитокинов и хемокинов, и инициирование специфического адаптивного иммунного ответа (Iwasaki and Medzhitov, Science 327, 291-5, 2010). Как врожденная иммунная система вовлеченная с помощью PAMP, представленных от инфекционного агента, формирует развитие адаптивного ответа, подходящего для борьбы с заражающим патогеном от возникновения болезни.

Одной из целей при разработке иммуномодуляторов и адъювантов является выбор определенных PAMP или синтетических молекул, которые активируют обозначенные PRR и иницируют требуемый ответ. Адъюванты, такие как монофосфорилипид A (MPL) и CpG представляют собой PAMP, полученные из микробов, распознаваемые Toll-подобными рецепторами (TLR), класс PRR, которые сигнализируют через MyD88 и TRIF-адаптивные молекулы и опосредуют индукцию NF- κ B-зависимых провоспалительных цитокинов (Pandey et al., Cold Spring Harb. Perspect Biol. 2015, 7: a016246). MPL (агонист TLR-4) и CpG (агонист TLR-9) являются наиболее клинически продвинутыми адъювантами и являются компонентами вакцин, одобренных или ожидающих утверждения по FDA (Einstein et al., Human Vaccines, 5: 705-19, 2009; Ahmed et al., Nature Immunol. 12: 509-17, 2011). В то время как TLR, присутствующие на поверхности клетки (например, TLR-4) и эндосомы (например, TLR-9), чувствительны к внеклеточным и вакуолярным патогенам, в цитозоле происходит цикл продуктивного роста нескольких патогенов, включая вирусы и внутриклеточные бактерии. Компартментализация внеклеточного, вакуолярного и цитозольного PRR привело к гипотезе о том, что врожденная иммунная система может воспринимать продуктивную репликацию патогенных микробов путем мониторинга цитозоля (Vance et al. Cell Host & Microbe 6: 10-21, 2009). Это обеспечивает обоснование использования агонистов, которые активируют PRR, включающие цитозольный путь наблюдения, и могут быть эффективной стратегией для разработки эф-

фективных вакцин для выявления клеточного иммунитета, иммунного коррелята защиты от внутриклеточных патогенов и терапевтического преимущества при раке.

Интерфероны I типа (IFN- α , IFN- β) являются сигнатурными цитокинами, индуцированными двумя различными TLR-независимыми цитозольными сигнальными путями. В первом пути различные формы одноцепочечной и двухцепочечной (ds) РНК узнаются РНК-геликазами, включая индуцируемый ретиновой кислотой ген I (RIG-I) и связанный с дифференцировкой меланомы ген 5 (MDA-5), и через IFN- β промотор-стимулятор 1 (IPS-1) адаптерный белок опосредуют фосфорилирование фактора транскрипции IRF-3, что приводит к индукции IFN- β (Iretton and Gale, *Viruses* 3: 906-19, 2011). IPS-1^{-/-} дефицитные мыши повышают восприимчивость к инфицированию РНК-вирусами. Датчики, которые сигнализируют по пути IPS-1, непосредственно нацелены на инактивацию различными вирусными белками, демонстрируя потребность в этом пути защиты цитозольного хозяина для контроля продуктивной вирусной инфекции. Синтетическая дцРНК, такая как полиинозиновая: полицитидиловая кислота (поли (I:C) и поли-ICLC, аналог, который составлен с полилинией L-лизина для защиты от расщепления РНКазой, является агонистом как для путей TLR3, так и для MDA5, является мощным индуктором IFN- β , и в данное время оценивается в нескольких различных клинических условиях (Caskey et al., *J. Exp. Med.* 208: 2357-77, 2011).

STING (Стимулятор генов интерферона) является центральным медиатором второго цитозольного пути, который запускает интерферон типа 1 в ответ на распознавание цитозольной двухцепочечной ДНК от инфекционных патогенов или aberrантных клеток-хозяев (Danger Associated Molecular Patterns, DAMPS) (Barber, *Immunol. Rev* 243: 99-108, 2011). Известно, что TMEM173, MITA, ERIS и MPYS, STING был обнаружен с использованием методов клонирования экспрессии кДНК в качестве независимого от MyD88 фактора защиты клетки-хозяина, выраженного в макрофагах, дендритных клетках (DC) и фибробластах, индуцирующих экспрессию IFN- β и NF- κ B-зависимых провоспалительных цитокинов в ответ на чувствительную цитоплазматическую ДНК, в ответ на заражение вирусом простого герпеса (Ishikawa and Barber, *Nature* 455: 674-79, 2008).

Циклические динуклеотиды (CDN) изучались как вездесущие маленькие молекулы вторичных мессенджеров, синтезируемые бактериями, которые регулируют различные процессы, включая подвижность и образование биопленок (Romling et al., *Micrb. Mol. Biol. Rev.*, 77: 1-52, 2013). CDN также представляют собой лиганд для STING (Burdette et al., *Nature* 478: 515-18, 2011). В ответ на связывание CDN STING активирует сигнализацию через ось TBK-1/IRF-3 и NF- κ B и индуцирует экспрессию IFN- β и других совместно регулируемых генов (Burdette and Vance, *Nat. Immunol.* 14: 19-26, 2013; McWhirter et al., *J. Exp. Med.* 206: 1899-1911, 2009). Циклический (ц)-ди-АМФ секретируется эффлюксными насосами с множественной лекарственной устойчивостью из внутриклеточных бактерий *Listeria monocytogenes* в цитозоль инфицированных клеток-хозяев антигена, и коррелирует с опосредованной CD4⁺ и CD8⁺ T-клеточной защитой в модели листериоза мыши (Woodward et al., *Science* 328, 1703-05, 2010; Crimmins et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 10191-10196, 2008). Индукция IFN- β в Lm-инфицированных макрофагах зависит от активации сигнального пути STING, а уровень IFN типа I, индуцированного с помощью ц-ди-АМФ в макрофагах из MyD88^{-/-} Trif^{-/-} или C57BL/6 родительских мышей неразличимы (Leber et al., *PLoS Pathog* 4 (1): e6. doi: 10.1371, 2008; Witte et al., *mBio* 4: e00282-13, 2012). Напротив, IFN- β не индуцируется CDN в макрофагах, полученных из мышей goldenticket (gt), кодирующих нефункциональный мутантный белок STING (Sauer et al., *Infect. Immun.* 79: 688-94, 2011). Внеклеточная бактерия *Vibrio cholera* продуцирует гибридную молекулу ц-ГМФ-АМФ (цГАМФ), которая также индуцирует путь STING (Davies et al., *Cell* 149: 358-70, 2012). Активация врожденного иммунитета этими вездесущими вторичными мессенджерами предполагает, что распознавание CDN может быть неотъемлемой частью защиты организма от бактериальной инфекции.

Хотя STING был обнаружен как критический датчик для индукции продуцирования IFN- β в ответ на заражение вирусом простого герпеса, ДНК из этого вирусного патогена была обнаружена в цитоплазме, изначально оставалась неуловимой. Эта головоломка была решена с открытием циклической ГМФ-АМФ-синтазы (цГАС), нуклеотидилтрансферазы клеток-хозяев, которая непосредственно связывает дцДНК, и в ответ синтезирует вторичный мессенджер, циклический ГМФ-АМФ (цГАМФ), который активирует путь STING и индуцирует экспрессию IFN- β (Sun et al., *Science* 339: 786-91, 2013; Wu et al., *Science* 339: 826-30, 2013). Клетки без функциональной цГАС не могут экспрессировать IFN- β в ответ на стимуляцию цитозольной ДНК. Позднее было показано, что клетки, экспрессирующие специфический аллель STING, не реагируют на стимуляцию CDN, но реагируют на стимуляцию дцДНК в зависимости от цГАС и TLR9 (MyD88) - независимом пути (Diner et al., 2013). Это наблюдение несовместимо с механизмом, определяемым цГАС синтезом STING активирующихся CDN лигандов в ответ на распознавание цитозольной дцДНК. Этот очевидный парадокс был разрешен несколькими независимыми исследователями, которые продемонстрировали, что цГАС продуцирует неканонический CDN (ц-ГМФ-АМФ, цГАМФ), который активирует аллели STING, которые не реагируют на канонические CDN (Civril et al., *Nature* 498: 332-37, 2013, Diner et al., 2013, Gao et al., 2013, Ablasser et al., *Nature* 498: 380-84, 2013, Kranzusch et al., *Cell Reports* 3: 1362-68, 2013, Zhang et al., *Mol. Cell.* 51: 226-35, 2013). цГАМФ, таким образом, функционирует как вторичный мессенджер, который связывается со STING и активирует его. В от-

личие от вторичных мессенджеров CDN, продуцируемых бактериями, в которых два пуриновых нуклеотида соединены фосфатным мостиком с бис-(3',5') связями, межнуклеотидный фосфатный мостик в циклическом ГМФ-АМФ, синтезированном цГАС, соединен неканоническими 2',5' и 3',5' связями (альтернативно называемые "смешанными" связями или ML), представленные в виде с $[G(2',5')pA(3',5')p]$. Эти молекулы 2',5'-3',5' связывают STING с нМ аффинностью, примерно в 300 раз лучше, чем бактериальный ц-ди-ГМФ. Таким образом, было высказано предположение, что молекулы 2',5'-3',5' представляют гораздо более сильные физиологические лиганды с точки зрения таргетирования STING. Zhang et al., 2013; смотрите также, Xiao and Fitzgerald, Mol. Cell 51: 135-39, 2013. Различия в структурах межнуклеотидных фосфатных мостиков между CDN, продуцируемыми бактериями [канонические бис-(3',5') связи] и цГАС клеток-хозяев (неканонические 2',5' и 3',5' связи), указывают на то, что рецептор STING развился, чтобы различать CDN, продуцируемые бактериями, или цГАС клетки-хозяина.

Человеческий STING имеет известные полиморфизмы, включая аллели, кодирующие гистидин в положении 232, которые являются рефракторными по отношению к каноническим CDN, но не к неканоническим CDN (Diner et al., 2013, Jin et al., 2011). Было показано, что одинарные нуклеотидные полиморфизмы в гене hSTING влияют на чувствительность к каноническим CDN бактериального происхождения (Diner et al., 2013; Gao et al., 2013; Conlon et al., 2013). Были определены пять гаплотипов hSTING (WT, REF, HAQ, AQ и Q аллелях), которые различаются в положениях аминокислот 71, 230, 232 и 293 (Jin et al., 2011; Yi et al., 2013). Клетки, экспрессирующие hSTING, плохо реагируют на стимуляцию бактериальными CDN цГАМФ, ц-ди-АМФ и ц-ди-ГМФ с бис-(3',5') связями, но реагируют на эндогенно продуцируемый продукт цГАС, ML цГАМФ (Diner et al., 2013). Удивительно, что дифторзамещенный бис-3',5' связанный CDN по данному изобретению стимулирует аллель hSTING REF по сравнению с эндогенно продуцируемым ML цГАМФ. Примеры циклических пуриновых динуклеотидов описаны более подробно, например, в патентах США 7709458 и 7592326; WO 2007/054279, WO 2014/093936 и WO 2014/189805; и Yan et al., Bioorg. Med. Chem Lett. 18: 5631 (2008).

Нативные молекулы CDN чувствительны к деградации фосфодиэстеразами, которые присутствуют в клетках-хозяевах, например в антигенпредставляющих клетках, которые принимают препараты вакцин, которые содержат указанные нативные молекулы CDN. Эффективность определенного адъюванта может уменьшаться при такой деградации, так как адъювант не сможет связывать и активировать определенную целевую группу PRR. Более низкую адъювантную активность можно было бы измерить, например, при меньшем количестве индуцированной экспрессии молекулы, характерной для врожденного иммунитета (например, IFN- β), коррелированной с более слабой активностью вакцины, как определено величиной измеренного антигенспецифического иммунного ответа.

В настоящем изобретении предоставлено практически чистое дитиодифосфатное производное дифторсодержащих CDN. Процесс синтеза указанных дитиодифосфатных производных молекул ц-ди-АМФ, ц-ГАМФ и ц-ди-ГМФ приводит к получению смеси диастереомеров, включая молекулы Rp, Rp, Sp, Sp, SpRp и Rp, Sp дитиодифосфатов. Эти отдельные виды могут быть разделены и проявлять существенные различия в их фармацевтических характеристиках, где Rp,Rp диастереомер является предпочтительным.

Определения.

"Введение", как используется в данном документе в отношении человека, млекопитающего, субъекта млекопитающего, животного, ветеринарного субъекта, субъекта плацебо, субъекта исследования, экспериментального субъекта, клетки, ткани, органа или биологической жидкости, относится, без ограничения, к контакту экзогенного лиганда, реагента, плацебо, малой молекулы, фармацевтического агента, терапевтического агента, диагностического агента или композиции с субъектом, клеткой, тканью, органом или биологической жидкостью и тому подобное. "Введение" может относиться, например, к терапевтическим, фармакокинетическим, диагностическим, исследовательским, плацебо и экспериментальным методам. Обработка клетки охватывает контакт реагента с клеткой, а также контакт реагента с жидкостью, при этом жидкость находится в контакте с клеткой. "Введение" также охватывает обработку клетки *in vitro* и *ex vivo*, например, реагентом, диагностической, связывающей композицией или другой клеткой. Под "вводимым вместе" или "совместно вводимым" подразумевается, что два или более агента вводят в виде единой композиции. Хотя введение в качестве единственной композиции рассматривается в данном изобретении, такие агенты могут доставляться одному субъекту в виде отдельных назначений, которые могут быть в одно и то же или разное время и которые могут быть одним и тем же путем или разными путями введения. Под "одновременным введением" подразумевается, что два или более агентов вводят практически в одно и то же время, но не обязательно вводят в виде единой композиции или по тому же пути введения.

"Агонист", относящийся к лиганду и рецептору, содержит молекулу, комбинацию молекул, комплекс или комбинацию реагентов, стимулирующих рецептор. Например, агонист рецептора гранулоцит макрофагального колониестимулирующего фактора (GM CSF) может включать GM CSF, мутеин или производное GM CSF, пептидный миметик GM CSF, небольшую молекулу, которая имитирует биологическую функцию GM CSF или антитело, которое стимулирует GM CSF-рецептор.

"Антагонист", поскольку он относится к лиганду и рецептору, содержит молекулу, комбинацию

молекул или комплекс, который ингибирует, противодействует, подавляет регуляцию и/или дезактивирует рецептор. "Антагонист" охватывает любой реагент, который ингибирует конститутивную активность рецептора. Конститутивная активность - это та, которая проявляется в отсутствии взаимодействия лиганд/рецептор. "Антагонист" также охватывает любой реагент, который ингибирует или предотвращает стимулированную (или регулируемую) активность рецептора. В качестве примера, антагонист GM-CSF-рецептора включает, без каких-либо ограничений, антитело, которое связывается с лигандом (GM-CSF) и предотвращает его связывание с рецептором, или антитело, которое связывается с рецептором и препятствует связыванию лиганда с рецептором, или когда антитело блокирует рецептор в неактивной конформации.

Используемый в данном документе термин "антитело" относится к пептиду или полипептиду, полученному из, смоделированному или практически кодируемому геном иммуноглобулина или генами иммуноглобулина или его фрагментами, способными специфически связывать антиген или эпитоп. См., например *Fundamental Immunology*, 3rd Edition, W.E. Paul, ed., Raven Press, N.Y. (1993); Wilson (1994); *J. Immunol. Methods* 175:267-273; Yarmush (1992) *J. Biochem. Biophys. Methods* 25:85-97. Термин антитело включает антигенсвязывающие части, т.е. "сайты связывания антигена" (например, фрагменты, подпоследовательности, области определения комплементарности (CDR)), которые сохраняют способность связывать антиген, включая (i) фрагмент Fab, моновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1; (ii) фрагмент F(ab')₂, двухвалентный фрагмент, содержащий два Fab-фрагмента, соединенных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) фрагмент Fd, состоящий из доменов VH и CH1; (iv) фрагмент Fv, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела, (v) фрагмент dAb (Ward et al., (1989) *Nature* 341: 544-546), который состоит из домена VH; и (vi) изолированную область определения комплементарности (CDR).

Одноцепочечные антитела также включены путем ссылки в термин "антитело".

Термин "ди-ОН эталонное соединение", как используется в данном документе, относится к известному соединению CDN, в котором отсутствует какой-либо 2'- и/или 2'-фтор-заместитель ди-F-CDN соединения, как описано в данном документе, с заместителем ОН в этих положениях. Предпочтительно, известное ди-ОН-эталонное соединение для ди-F соединения CDN, как описано в данном документе, имеет те же основания, что и ди-F-CDN соединение, и имеют ту же фосфодиэфирную связь (например, фосфодиэфир или аналог тиофосфата). Например, ди-ОН эталонное соединение для 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A) представляет собой 3'3'-RR(A)(A) ди-ОН эталонное соединение 3'3'-RR-(A)(A) описано, например, в публикации PCT WO 2014/093936.

Термин "агент, который усиливает проницаемость" или "агент, который усиливает поглощение", используемый в данном документе, поскольку он относится к проницаемости клеток или поглощению соединения клетками, является агентом, который усиливает проницаемость клетки к соединению или усиливает поглощение соединения клеткой либо *in vitro*, либо *in vivo*. Ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, или ди-ОН эталонное соединение можно сравнить в анализе на основе клеток *in vitro*, где анализ может проводиться с или без агента, такого как дигитонин, который позволяет поглощать соединение клеткой. Ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, является неожиданно активным в таких клеточных анализах без необходимости в таком агенте, который повышает проницаемость клетки или усиливает поглощение соединения клеткой, например, в анализе клеток THP-1, как описано в данном документе. Композиции, содержащие ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, могут быть составлены без агента, который усиливает проницаемость клетки или усиливает поглощение соединения клеткой, например без носителя, который усиливает проницаемость клетки или усиливает клеточное поглощение. Такие добавки или носители для доставки включают, без ограничения, липидные или липидоподобные адъюванты, липосомы, мультиламеллярные липидные везикулы со сшивками между липидными бислоями, наноносители, наночастицы и тому подобное, такие как наночастицы, содержащие поли(молочную кислоту) (PLA), поли(гликолевую кислоту) (PGA) и/или их сополимеры, такие как биоразлагаемые поли(D, L-молочно-со-гликолевая кислота) на основе [PLGA] или полиангидридные наночастицы или микрочастицы.

Под "практически очищенным" в отношении CDN согласно изобретению подразумевается, что определенный вид составляет по меньшей мере 50%, чаще всего составляет не менее 60%, как правило, составляет по меньшей мере 70%, более типично составляет по меньшей мере 75%, как правило, составляет не менее 80%, как правило, составляет не менее 85%, как правило, составляет не менее 90%, как правило, обычно составляет не менее 95% и обычно составляет не менее 98% по массе или выше, активности CDN, присутствующей в композиции. В определении чистоты обычно не используются значения веса воды, буферов, солей, детергентов, восстановителей, ингибиторов протеазы, стабилизаторов (включая добавленный белок, такой как альбумин) и эксципиентов.

"Специфически" или "избирательно" связывается, когда речь идет о лиганде/рецепторе, нуклеиновой кислоте/комплементарной нуклеиновой кислоте, антителе/антигене или другой связывающей паре (например, цитокине к рецептору цитокинов) (каждый обычно упоминается в данном документе как "целевая биомолекула" или "мишень"), указывает на реакцию связывания, которая связана с присутствием мишени в гетерогенной популяции белков и других биологических веществ. Специфическое связывание

может означать, например, что связывающее соединение, лиганд нуклеиновой кислоты, антитело или связывающая композиция, полученная из антигенсвязывающего сайта антитела, рассматриваемого способа связывается с его мишенью с аффинностью, которая часто составляет по меньшей мере на 25% больше, чаще по меньшей мере на 50% больше, чаще всего по меньшей мере на 100% (2-кратно) больше, обычно по меньшей мере в десять раз больше, более обычно по меньшей мере в 20 раз больше и наиболее обычно по меньшей мере в 100 раз больше, чем сродство с молекулой, не являющейся мишенью.

"Лиганд" относится к небольшой молекуле, нуклеиновой кислоте, пептиду, полипептиду, сахариду, полисахариду, гликану, гликопротеину, гликолипиду или их комбинациям, который связывается с целевой биомолекулой. Хотя такие лиганды могут быть агонистами или антагонистами рецептора, лиганд также охватывает связующий агент, который не является агонистом или антагонистом и не обладает свойствами агониста или антагониста. Специфическое связывание лиганда с его родственной мишенью часто выражается в терминах "близости". В предпочтительных вариантах лиганды данного изобретения связывают с аффинностью от около 10^4M^{-1} до около 10^8M^{-1} . Аффинность вычисляется как

$$K_d = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$$

k_{off} - константа скорости диссоциации; k_{on} - константа скорости ассоциации; K_d - константа равновесия).

Аффинность может быть определена в равновесии путем измерения связанной фракции (r) меченого лиганда в различных концентрациях (c). Данные показаны на графике с использованием уравнения Скатчарда

$$r/c = K(n-r)$$

где r - моли связанного лиганда/моль рецептора в равновесии; c - концентрация свободного лиганда в равновесии; K - константа ассоциации равновесия; и n - количество сайтов связывания лигандов на молекулу рецептора.

По графическому анализу r/c строится по оси Y по сравнению с r на оси X , что таким образом позволяет получить график Скатчарда. Измерение аффинности методом Скатчарда хорошо известно в данной области. См., например, van Eyr et al., J. Immunoassay 12: 425-43, 1991; Nelson and Griswold, Comput. Methods Programs Biomed. 27: 65-8, 1988. В альтернативном случае аффинность можно измерить с помощью изотермической титровальной калориметрии (ИТС). В типичном эксперименте ИТС раствор лиганда титруют в раствор его родственной мишени. Теплота, выделяемая при их взаимодействии (ΔH), отслеживается с течением времени. Поскольку последующие количества лиганда титруют в ячейку ИТС, количество тепла, поглощаемого или высвобождаемого, прямо пропорционально количеству связывания. По мере того, как система достигает насыщения, тепловой сигнал уменьшается до тех пор, пока не будет наблюдаться теплота только разведения. Затем кривую связывания получают из графика теплоты каждой инъекции относительно отношения лиганда и связывающего партнера в ячейке. Кривую связывания анализируют с помощью соответствующей модели связывания для определения K_B , n и ΔH . Заметим, что $K_B = 1/K_d$.

Используемый в данном документе термин "пролекарство" относится к модификации предполагаемых соединений, где модифицированное соединение обладает меньшей фармакологической активностью (по сравнению с модифицированным соединением) и где модифицированное соединение превращается в пределах организма (например, в клетке-мишени или целевом органе) обратно в немодифицированную форму посредством ферментативных или неферментативных реакций. В некоторых вариантах реализации гидроксил на одной рибозе содержит пролекарственную замещаемую группу. Пролекарства могут модифицировать физико-химические, биофармацевтические и фармакокинетические свойства лекарств. Традиционные пролекарства классифицируются как препараты, которые активируются путем трансформации *in vivo* с образованием активного лекарственного средства. Причинами развития пролекарства являются, как правило, плохая водная растворимость, химическая нестабильность, низкая биодоступность полости рта, отсутствие проникновения через гематоэнцефалитический барьер и высокий метаболизм первого прохода, связанный с исходным лекарственным средством. Подходящие пролекарственные фрагменты описаны, например, в "Prodrugs and Targeted Delivery," J. Rautico, Ed., John Wiley & Sons, 2011. Примеры включают, но не ограничиваются ими, замещаемые группы, удаленные клеточными эстеразами, сложный эфир жирной кислоты с C6 по C18, миритоиловый эфир, пентаноиловый эфир, гексаноиловый эфир и гептаноиловый эфир. Например, соединения моно-2'-F-CDN, как описано в данном документе, могут включать замену на оставшемся 2'-гидроксиле с образованием таких сложных эфиров.

Используемый в данном документе термин "субъект" или "индивидуум" относится к человеческому или нечеловеческому организму. Таким образом, описанные в данном документе способы и композиции применимы как к заболеваниям людей, так и к ветеринарии. В некоторых вариантах реализации субъектами являются "пациенты", т.е. живые люди, которые получают медицинскую помощь для лечения заболевания или состояния. Сюда входят лица, не имеющие определенного заболевания, которых исследуют на признаки патологии. Предпочтительными являются субъекты, у которых есть существующий диагноз конкретного рака, который таргетируется композициями и способами данного изобретения. Предпочтительные виды рака для лечения композициями, описанными в данном документе, включают, но не ограни-

чиваются ими, рак предстательной железы, карциному почек, меланому, рак поджелудочной железы, рак шейки матки, рак яичников, рак толстой кишки, рак головы и шеи, рак легких и рак молочной железы.

"Терапевтически эффективное количество" определяется как количество реагента или фармацевтической композиции, которое является достаточным для проявления пользы для пациента, т.е. для уменьшения, профилактики или улучшения симптомов состояния, подлежащего лечению. Когда агент или фармацевтическая композиция содержит диагностический агент, "диагностически эффективное количество" определяется как количество, которое является достаточным для получения сигнала, изображения или другого диагностического параметра. Эффективные количества фармацевтической композиции будут варьировать в зависимости от таких факторов, как степень восприимчивости человека, возраст, пол и вес человека, а также индивидуальные ответы индивидуума. "Эффективное количество" включает, без ограничений, количество, которое может улучшить, обратить вспять, смягчить, предотвратить или диагностировать симптом или признак состояния здоровья или расстройства или их причинного процесса. Если не указано иначе, явно или по контексту, "эффективное количество" не ограничивается минимальным количеством, достаточным для улучшения состояния.

"Лечение" или "терапия" (в отношении состояния или заболевания) представляет собой подход для получения полезных или желаемых результатов, включая и предпочтительно клинические результаты. Для целей данного изобретения полезные или желаемые результаты в отношении заболевания включают (но не ограничиваются ими) одно или несколько из следующего: предотвращение заболевания, улучшение состояния, связанного с заболеванием, лечение болезни, уменьшение тяжести, задержка прогрессирования заболевания, облегчение одного или нескольких симптомов, связанных с заболеванием, повышение качества жизни больного страдающего от заболевания и/или продление выживания. Аналогично, для целей данного изобретения полезные или желаемые результаты в отношении состояния включают (но не ограничиваются ими) одно или несколько из следующего: предотвращение состояния, улучшение состояния, излечение состояния, уменьшение тяжести состояния, задержка прогрессирования состояния, облегчение одного или нескольких симптомов, связанных с состоянием, повышение качества жизни человека, страдающего от состояния, и/или продление жизни. Например, в вариантах реализации, где композиции, описанные в данном документе, используются для лечения рака, полезные или желаемые результаты, включают (но не ограничиваясь ими) одно или несколько из следующего: снижение пролиферации (или разрушение) неопластических или раковых клеток, снижение метастазов неопластических клеток, обнаруженных при раках, уменьшение размера опухоли, уменьшение симптомов, вызванных раком, повышение качества жизни людей, страдающих от рака, снижение дозы других лекарств, необходимых для лечения болезни, задержка прогрессирования рака и/или продление выживания пациентов, страдающих раком. В зависимости от контекста "лечение" субъекта может означать, что субъект нуждается в лечении, например, в ситуации, когда субъект включает расстройство, которое, как ожидается, будет улучшено путем введения реагента.

"Вакцина" охватывает профилактические вакцины. Вакцина также охватывает терапевтические вакцины, например вакцину, вводимую млекопитающему, которое включает состояние или расстройство, связанное с антигеном или эпитопом, предусмотренным вакциной.

Циклические пуриновые динуклеотиды.

Прокариотические, а также эукариотические клетки используют различные малые молекулы для клеточной передачи сигналов и внутри- и межклеточной коммуникации. Известно, что циклические нуклеотиды, такие как цГМФ, цАМФ и т.д., имеют регуляторную и иницирующую активность в про- и эукариотических клетках. В отличие от эукариотических клеток, прокариотические клетки также используют циклические пуриновые динуклеотиды в качестве регуляторных молекул. В прокариотах конденсация двух молекул ГТФ катализируется ферментом дигуанилатциклазой (DGC) с получением ц-дигМФ, который представляет собой важный регулятор в бактериях.

Недавняя работа предполагает, что циклические дигМФ или их аналоги могут также стимулировать или усиливать иммунный или воспалительный ответ у пациента или могут усиливать иммунный ответ на вакцину, выступая в качестве адъюванта у млекопитающих. Цитозольное обнаружение ДНК, полученной из патогена, требует передачи сигналов через TANK-связывающую киназу 1 (TBK1) и ее транскрипционный фактор по ходу транскрипции, IFN- β регуляторный фактор 3 (IRF3). Трансмембранный белок, называемый STING (стимулятор генов IFN, также известный как MITA, ERIS, MPYS и TMEM173), функционирует как сигнальный рецептор для этих циклических пуриновых динуклеотидов, вызывая стимуляцию сигнальной оси TBK1-IRF3 и ответа интерферона I типа зависящего от STING. Burdette et al., Nature 478: 515-18, 2011 демонстрирует, что STING связывается непосредственно с циклическим дигуанилатмонофосфатом, но не с другими неродственными нуклеотидами или нуклеиновыми кислотами.

Циклические пуриновые динуклеотиды для использования в качестве предшественников для получения CDN по данному изобретению описаны более подробно, например, в Gao et al., Cell (2013) 153: doi: 10.1016/j.cell.2013.04.046; патентах США № 7709458 и 7592326; WO 2007/054279, WO 2014/093936 и WO 2014/189805; и Yan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 18: 5631 (2008). Эти CDN могут быть модифицированы с использованием стандартных методов органической химии для получения CDN по данному

изобретению.

ди-F-CDN соединение по данному изобретению, как описано в данном документе, является сильным агонистом STING и демонстрирует неожиданное улучшение по сравнению с известными неферро-замещенными CDN соединениями, такими как RR-(A)(A) или эндогенно цГАС продуцируемый продукт ML цГАМФ. ди-F-CDN соединение по данному изобретению сравнивают с известными соединениями, которые отличаются замещением в положении 2' и 2'', например ди-ОН эталонным соединением, такое как 3'3'-RR-(A)(A). Свойства ди-F-CDN соединения продемонстрированы в примерах 11-17 ниже, причем соединение демонстрирует улучшение по сравнению с эталонным соединением ди-ОН как имеющее один или несколько из: i) более высокого сдвига T_m в анализе DSF, как описано в примере 11, для одного или более hSTING (WT), hSTING (HAQ) или hSTING (REF); ii) более высокой относительной экспрессии транскрипта IFN- β в анализе hPBMC, как описано в примере 13, для одного или нескольких hSTING (WT), hSTING (HAQ) или hSTING (REF); или iii) более низкой EC_{50} в анализе клеток THP1, как описано в примере 14, где предпочтительно анализ THP1 проводят в отсутствие дигитонина. В некоторых вариантах реализации ди-F-CDN демонстрирует улучшение по сравнению с эталонным соединением ди-ОН как имеющее два или более из i) более высокого сдвига T_m в анализе DSF, как описано в примере 11, для одного или более hSTING (WT), hSTING (HAQ) или hSTING (REF); ii) более высокой относительной экспрессии транскрипта IFN- β в анализе hPBMC, как описано в примере 13, для одного или нескольких hSTING (WT), hSTING (HAQ) или hSTING (REF); или iii) более низкой EC_{50} в анализе клеток THP1, как описано в примере 14, где предпочтительно анализ THP1 проводят в отсутствие дигитонина. В некоторых вариантах реализации ди-F-CDN демонстрирует улучшение по сравнению с эталонным соединением ди-ОН как имеющее каждое из i) более высокого сдвига T_m в анализе DSF, как описано в примере 11, для одного или более hSTING (WT), hSTING (HAQ) или hSTING (REF); ii) более высокой относительной экспрессии транскрипта IFN- β в анализе hPBMC, как описано в примере 13, для одного или нескольких hSTING (WT), hSTING (HAQ) или hSTING (REF); или iii) более низкой EC_{50} в анализе клеток THP1, как описано в примере 14, где предпочтительно анализ THP1 проводят в отсутствие дигитонина. В некоторых вариантах реализации ди-F-CDN соединения, как описано в данном документе, ди-F-CDN соединение имеет по меньшей мере 2-кратное, по меньшей мере 5-кратное, по меньшей мере 10-кратное, по меньшей мере 50-кратное, по меньшей мере 100-кратное, по меньшей мере 500-кратное или по меньшей мере в 1000-кратное повышение относительной экспрессии транскрипта IFN- β в анализе hPBMC, как описано в примере 13, для hSTING REF-аллеля по сравнению с 3'3'-RR-(A)(A). В некоторых вариантах реализации ди-F-CDN соединение имеет EC_{50} в анализе THP1, описанном в примере 14, без добавления дигитонина, которая по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 3 раза, по меньшей мере в 4 раза, по меньшей мере в 5 раз, по меньшей мере в 6 раз, по меньшей мере в 7 раз или по меньшей мере в 8 раз ниже, чем EC_{50} ди-ОН-эталонного соединения. В некоторых вариантах реализации ди-F-CDN соединение имеет EC_{50} в анализе клеток THP1 без добавления агента, который усиливает проницаемость соединения к клетке или агенту, который усиливает поглощение соединения клеткой, которая составляет менее 40 мкМ, менее 30 мкМ, менее 20 мкМ, менее 15 мкМ или менее 10 мкМ. В некоторых вариантах реализации ди-F-CDN соединение имеет EC_{50} в анализе THP1, описанном в примере 14, без добавления дигитонина, которая составляет менее 40 мкМ, менее 30 мкМ, менее 20 мкМ, менее 15 мкМ или менее 10 мкМ.

Фосфоротиоатная связь по своей сути является хиральной. Специалисту в данной области будет понятно, что фосфаты в этой структуре могут существовать в форме R или S. Таким образом, возможны формы Rp, Rp, Sp, Sp, Rp и Rp, Sp для CDN. Ди-F-CDN по данному изобретению представляет собой практически чистый Rp, Rp стереоизомер.

Термин "практически чистый", используемый в данном документе в отношении дитиодифосфатных циклических пуриновых динуклеотидов, относится к форме Rp,Rp или Rp,Sp, которая по меньшей мере на 75% чистая по сравнению с другими возможными стереохимическими структурами в хиральных центрах фосфора, указанных в ди-F-RR-CDN соединении, как описано в данном документе. В качестве примера, "практически чистый 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A)" будет по меньшей мере на 75% чистым по отношению к формам Rp, Sp и Sp, Sp, т.е. по отношению к 3'3'-RS-(2'F-A)(2'F-A) и 3'3'-SS-(2'F-A)(2'F-A). В предпочтительных вариантах реализации практически чистый циклический пуриновый динуклеотид является по меньшей мере на 85% чистым, по меньшей мере на 90% чистым, по меньшей мере на 95% чистым, по меньшей мере на 97% чистым и по меньшей мере на 99% чистым. Хотя, по существу, чистый циклический пуриновый динуклеотидный препарат по изобретению является "стереохимически чистым", это не означает, что CDN в препарате, имеющем конкретную стереохимическую структуру в этих хиральных центрах, в остальном идентичен. Например, практически чистый циклический пуриновый динуклеотидный препарат может содержать комбинацию 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A) и 3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-A) и по-прежнему представлять собой практически чистый циклический пуриновый динуклеотидный препарат.

Ди-F-CDN соединение и его композиции, описанные в данном документе, могут быть введены хозяину либо отдельно, либо в комбинации с фармацевтически приемлемым эксципиентом в количестве, достаточном для индукции, модификации или стимуляции соответствующего иммунного ответа. Иммунный ответ может включать, без ограничения, специфический иммунный ответ, неспецифический им-

мунный ответ, как специфический, так и неспецифический ответ, врожденный ответ, первичный иммунный ответ, адаптивный иммунитет, вторичный иммунный ответ, иммунный ответ памяти, активацию иммунных клеток, иммунную клеточную пролиферацию, дифференцировку иммунных клеток и экспрессию цитокинов.

Способы совместного введения с дополнительным терапевтическим агентом хорошо известны в данной области (Hardman et al. (eds.) (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed., McGraw-Hill, New York, NY; Poole and Peterson (eds.) (2001) Pharmacotherapeutics for Advanced Practice: A Practical Approach, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., PA; Chabner and Longo (eds.) (2001) Cancer Chemotherapy and Biotherapy, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., PA). Как правило, совместное введение или введение вместе указывает на лечение субъекта двумя или более агентами, при этом агенты могут вводиться одновременно или в разное время. Например, агенты могут быть доставлены одному субъекту в виде отдельных введений, которые могут быть, по существу, в одно и то же время или в разное время и которые могут быть одним и тем же путем или разными путями введения. Такие агенты могут быть доставлены одному субъекту в одном и том же введении (например, в том же составе), так что их вводят одновременно одним и тем же способом введения.

Из-за адъювантных свойств соединений по данному изобретению их применение может также сочетаться с другими терапевтическими модальностями, включая другие вакцины, адъюванты, антиген, антитела и иммуномодуляторы. Примеры приведены ниже.

Адъюванты.

В дополнение к ди-F-CDN соединению и его композициям, описанным в данном документе, композиции или способы по данному изобретению могут дополнительно содержать одно или несколько дополнительных веществ, которые по своей природе могут действовать, чтобы стимулировать или иным образом использовать иммунные системы для реагирования на раковые антигены, присутствующие в целевой опухолевой клетке (клетках). Такие адъюванты включают, но не ограничиваются ими, липиды, липосомы, инактивированные бактерии, которые индуцируют врожденный иммунитет (например, инактивированный или ослабленный *Listeria monocytogenes*), композиции, которые опосредуют врожденную иммунную активацию через Toll-подобные рецепторы (TLR), (NOD)-подобные рецепторы (NLR), I-подобные рецепторы на основе гена (RIG), индуцируемого ретиноиновой кислотой (RLR), лектиновые рецепторы С-типа (CLR) и/или связанные с патогенами молекулярные структуры ("PAMPS"). Примеры PAMP включают липопротеины, липополипептиды, пептидогликаны, зимозан, липополисахарид, порин нейсерии, флагеллин, профиллин, галактоцерамид, мурамилдипептид. Пептидогликаны, липопротеины и липотейхоевые кислоты являются компонентами клеточной стенки грамположительных бактерий. Липополисахариды экспрессируются большинством бактерий, причем одним из примеров является MPL. Флагеллин относится к структурному компоненту бактериальных жгутиков, который секретируется патогенными и комменсальными бактериями, α -галактосилцерамид (α -GalCer) является активатором натуральных киллеров Т (NKT). Мурамиловый дипептид является биоактивным пептидогликановым мотивом, общим для всех бактерий. Этот список не предназначен для ограничения. Предпочтительные адъювантные композиции описаны ниже.

Ингибиторы иммунной контрольной точки.

ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, может быть использовано в комбинации с ингибитором иммунной контрольной точки, таким как ингибитор иммунной контрольной точки, выбранный из группы, состоящей из антагониста пути CTLA-4, антагониста пути PD-1, антагониста пути Tim-3, антагониста пути Vista, антагониста пути BTLA, антагониста пути LAG-3 или антагониста пути TIGIT. В некоторых вариантах реализации ингибитор иммунной контрольной точки выбирают из группы, состоящей из антитела против CTLA-4, антитела против PD-1, антитела против Tim-3, антитела против Vista, антитела против BTLA, антитела против LAG-3 или антитела против TIGIT.

Соединение ди-F-CDN, описанное в данном документе, может быть использовано в комбинации с антагонистами пути CTLA-4. В некоторых вариантах реализации комбинация используется для лечения солидной опухоли или гематологической злокачественной опухоли. CTLA-4 считается важным отрицательным регулятором адаптивного иммунного ответа. Активированные Т-клетки активируют CTLA-4, который связывает CD80 и CD86 с антигенпредставляющими клетками с более высоким сродством, чем CD28, тем самым ингибируя стимуляцию Т-клеток, экспрессию гена IL-2 и пролиферацию Т-клеток. Противоопухолевые эффекты блокады CTLA4 наблюдались в мышинных моделях рака толстой кишки, метастатического рака предстательной железы и метастатической меланомы. В некоторых вариантах реализации антагонист пути CTLA-4 представляет собой молекулу антитела против CTLA-4, выбранную из группы, состоящей из тремелиумаба и ипилиумаба. В некоторых вариантах реализации антитело против CTLA-4 представляет собой антитело против CTLA-4, как описано, например, в патенте США № 5811097.

Ипилиумаб (Yervoy™, антитело CTLA-4, также известное как MDX-010, CAS № 477202-00-9) и тремелиумаб (моноклональное антитело IgG2, доступное от Pfizer, ранее известное как тицилиумаб, CP-675,206), представляют собой гуманизированные моноклональные антитела, которые связываются с

человеческим CTLA4 и препятствуют его взаимодействию с CD80 и CD86. Исследования фазы I и II с использованием ипилимумаба и тремлиумаба продемонстрировали клиническую активность у больных раком. Другими отрицательными иммунными регуляторами, которые могут быть нацелены аналогичной стратегией, являются аттенуатор запрограммированной клеточной смерти 1 (PD-1), В и Т-лимфоцитов, трансформирующий фактор роста бета β , интерлейкин-10 и фактор роста эндотелия сосудов.

В некоторых вариантах реализации ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, может быть использовано в комбинации с антителом против CTLA-4 и анти-PD-1. В одном варианте реализации комбинация включает молекулу антитела против PD-1, например, как описано в данном документе, и антитело против CTLA-4, например, ипилимумаба. Типичные дозы, которые могут быть использованы, включают дозу молекулы антитела против PD-1 около от 1 до 10 мг/кг, например 3 мг/кг, и дозу антитела против CTLA-4, например ипилимумаба около 3 мг/кг.

Соединение ди-F-CDN, описанное в данном документе, может быть использовано в комбинации с антагонистами пути PD-1. В некоторых вариантах реализации комбинация используется для лечения солидной опухоли или гематологической злокачественной опухоли. PD-1 является еще одним отрицательным регулятором адаптивного иммунного ответа, который экспрессируется на активированных Т-клетках. PD-1 связывается с B7-H1 и B7-DC, а включение PD-1 подавляет активацию Т-клеток. Противоопухолевые эффекты были продемонстрированы с помощью блокады PD-1. В литературе сообщалось, что молекулы антител против PD-1 (например, ниволумаб (Opdivo™), пембролизумаб (Keytruda™) и пидилизумаб) и AMP-224 являются примерами блокаторов путей PD-1, которые могут найти применение в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации антагонист пути PD-1 представляет собой молекулу антитела против PD-1, выбранную из группы, состоящей из ниволумаба, пембролизумаба или пидилизумаба.

В некоторых вариантах реализации антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. Альтернативные названия для ниволумаба включают MDX-1106, MDX-1106-04, ONO-4538 или BMS-936558. В некоторых вариантах реализации антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб (CAS регистрационный номер: 946414-94-4). Ниволумаб является полностью человеческим IgG4 моноклональным антителом, которое специфически блокирует PD1. Ниволумаб (клон 5C4) и другие человеческие моноклональные антитела, которые специфически связываются с PD1, описаны в патенте США 8008449 и WO 2006/121168. В одном варианте реализации ингибитор PD-1 представляет собой ниволумаб и имеющий описанную в данном документе последовательность (или последовательность, практически идентичную или сходную с ней, например, последовательность по меньшей мере на 85, 90, 95% или более идентичную определенной последовательности).

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи ниволумаба выглядит следующим образом:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYYADSV
KGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCS
RSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTK
TYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVQLHQLDNLNGKEYKCKVSNKG
LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID
NO: 2)

Аминокислотная последовательность легкой цепи ниволумаба выглядит следующим образом:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTATGIPARFSG
SGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 3)

В некоторых вариантах реализации антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб (также называемый лабролизумаб, MK-3475, MK03475, SCH-900475 или KEYTRUDA®, Merck) представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG4, которое связывается с PD-1. Пембролизумаб и другие гуманизированные анти-PD-1 антитела описаны в Hamid O. et al. (2013) New England Journal of Medicine 369 (2): 134-44, США 8354509 и WO 2009/114335. В одном варианте реализации ингибитор PD-1 представляет собой пембролизумаб и имеющий описанную в данном документе последовательность (или последовательность, практически идентичную или сходную с ней, например, последовательность по меньшей мере на 85, 90, 95% или более идентичную определенной последовательности).

Аминокислотные последовательности тяжелой цепи пембролизумаба выглядят следующим образом:

QVQLVQSGVE	VKKPGASVKV	SCKASGYTFT	NYMYWVRQA	PGQGLEWMGG	50
INPSNGGTNF	NEKFKNRVTL	TTDSSTTTAY	MELKSLQFDD	TAVYYCARRD	100
YRFDMGFDYW	GQGTITVTSS	ASTKGPSVFP	LAPCSRSTSE	STAALGCLVK	150
DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV	HTFPAVLQSS	GLYSLSSVVT	VPSSSLGTKT	200
YTCNVDPKPS	NTKVDKRVES	KYGPPCPPCP	APEFLGGPSV	FLFPPKPKDT	250
LMISRTPEVT	CVVVDVSQED	PEVQFNWYVD	GVEVHNAKTK	PREEQFNSTY	300
RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKGLPS	SIEKTISKAK	GQPREPQVYT	350
LPPSQEEMTK	NQVSLTCLVK	GFYPDSIAVE	WESNGQPENN	YKTTTPVLDS	400
DGSFFLYSRL	TVDKSRWQEG	NVFSCSVME	ALHNHYTQKS	LSLSLGK	447

(SEQ ID NO:

4)

Аминокислотные последовательности легкой цепи пембролизумаба выглядят следующим образом:

EIVLTQSPAT	LSLSPGERAT	LSCRASKGVS	TSGYSYLHWY	QQKPGQAPRL	50
LIYLAAYLES	GVPARFSGSG	SGTDFTLTIS	SLEPEDFAVY	YCQHSRDLPL	100
TFGGGTKEVI	KRTVAAPSVF	IFPPSDEQLK	SGTASVVCCL	NNFYPREAKV	150
QWKVDNALQS	GNSQESVTEQ	DSKDSTYSL	STLTLSKADY	EKHKVYACEV	200
THQGLSSPVT	KSFNRGEC	(SEQ ID NO: 5)			218

В некоторых вариантах реализации антитело против PD-1 представляет собой пидилизумаб. Пидилизумаб (CT-011; Cure Tech) представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG1k, которое связывается с PD-1. Пидилизумаб и другие гуманизированные анти-PD-1 моноклональные антитела описаны в WO 2009/101611.

В некоторых вариантах реализации антитело против PD-1 представляет собой AMP 514 (Amplimmune) или антитело против PD-1, как описано в патенте США № 8609089, в патенте США № 2010028330 и/или в патенте США № 20120114649.

В некоторых вариантах реализации антагонист пути PD-1 представляет собой молекулу антитела против PD-1, раскрытую в патенте США № 2015/0210769, опубликованном 30 июля 2015 года, озаглавленном "Молекулы антител к PD-1 и их использование".

В одном варианте реализации молекула антитела против PD-1 содержит по меньшей мере один или два переменных домена тяжелой цепи (необязательно включающие константную область), по меньшей мере один или два переменных домена легкой цепи (необязательно включающий константную область) или оба, включая аминокислотную последовательность BAP049-Clone-A, BAP049-Clone-B, BAP049-Clone-C, BAP049-Clone-D или BAP049-Clone-E; или как описано в табл. 1 в патенте США № 2015/0210769, или кодируется нуклеотидной последовательностью в табл. 1 там же; или последовательностью, практически идентичную (например, по меньшей мере на 80, 85, 90, 92, 95, 97%, 98, 99% идентичности или выше) любой из вышеуказанных последовательностей. Молекула антитела анти PD-1, необязательно, содержит лидерную последовательность из тяжелой цепи, легкой цепи или того и другого, как показано в табл. 4 в патенте США № 2015/0210769; или последовательность, практически идентичную ей. Раскрытие изобретения в патенте США № 2015/0210769 включено сюда посредством ссылки, поскольку оно относится к аминокислотным последовательностям и нуклеотидным последовательностям в табл. 4 в нем.

В еще одном варианте реализации молекула антитела против PD-1 содержит по меньшей мере одну, две или три области комплементарности (CDR) из переменной области тяжелой цепи и/или переменной области легкой цепи антитела, описанной в патенте США № 2015/0210769, например, антитело, выбранное из любого из BAP049-hum01, BAP049-hum02, BAP049-hum03, BAP049-hum04, BAP049-hum05, BAP049-hum06, BAP049-hum07, BAP049-hum08, BAP049-hum09, BAP049-hum10, BAP049-hum11, BAP049-hum12, BAP049-hum13, BAP049-hum14, BAP049-hum15, BAP049-hum16, BAP049-Clone-A, BAP049-Clone-B, BAP049-Clone-C, BAP049-Clone-D или BAP049-Clone-E; или как описано в табл. 1 в нем, или кодируется нуклеотидной последовательностью в табл. 1 в нем; или последовательностью, практически идентичной (например, по меньшей мере на 80, 85, 90, 92, 95, 97, 98, 99% идентичной или выше) любой из вышеуказанных последовательностей.

В еще одном варианте реализации молекула антитела против PD-1 содержит по меньшей мере один, два или три CDR (или все CDR вместе) из переменной участка тяжелой цепи, содержащего аминокислотную последовательность, указанную в таб. 1 в патенте США № 2015/0210769 или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1 в нем. В одном варианте реализации один или несколько CDR (или все CDR вместе) имеют одну, две, три, четыре, пять, шесть или более замен, например аминокислотные замены или делеции, относительно указанной аминокислотной последовательности в табл. 1, или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1 в нем.

В еще одном варианте реализации молекула антитела против PD-1 содержит по меньшей мере один, два или три CDR (или все CDR вместе) из варибельного участка легкой цепи, содержащего аминокислотную последовательность, указанную в табл. 1 в патенте США № 2015/0210769 или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1 в нем. В одном варианте реализации один или несколько CDR (или все CDR вместе) имеют одну, две, три, четыре, пять, шесть или более замен, например аминокислотные замены или делеции, относительно указанной аминокислотной последовательности в табл. 1, или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1 в нем. В некоторых вариантах реализации молекула антитела против PD-1 включает замену в CDR легкой цепи, например, одну или несколько замен в CDR1, CDR2 и/или CDR3 легкой цепи. В одном варианте реализации молекула антитела против PD-1 включает замену в CDR3 легкой цепи в положении 102 области варибельного участка, например замена цистеина на тирозин или цистеина на сериновый остаток, в положении 102 области варибельного участка в соответствии с табл. 1 (например, SEQ ID NO: 16 или 24 для мышинных или химерных, немодифицированных; или любой из SEQ ID NO: 34, 42, 46, 54, 58, 62, 66, 70, 74 или 78 для модифицированной последовательности).

В другом варианте реализации молекула антитела против PD-1 содержит по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть CDR (или все вместе CDR) из варибельной области тяжелой и легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл. 1 из патента США № 2015/0210769 или кодируется нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1 в нем. В одном варианте реализации один или несколько CDR (или все CDR вместе) имеют одну, две, три, четыре, пять, шесть или более замен, например аминокислотные замены или делеции, относительно указанной аминокислотной последовательности в табл. 1, или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1 в нем.

В одном варианте реализации молекула антитела против PD-1 содержит: (a) варибельный участок тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность VHCDR1 из SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 из SEQ ID NO: 5 и аминокислотную последовательность VHCDR3 из SEQ ID NO: 3; и варибельный участок легкой цепи (VL), содержащий аминокислотную последовательность VLCDR1 из SEQ ID NO: 13, аминокислотную последовательность VLCDR2 из SEQ ID NO: 14 и аминокислотную последовательность VLCDR3 из SEQ ID NO: 33, каждая из которых раскрыта в табл. 1 патента США № 2015/0210769; (b) VH, содержащий аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 1; аминокислотную последовательность VHCDR2 из SEQ ID NO: 2; и аминокислотную последовательность VHCDR3 из SEQ ID NO: 3; и VL, содержащий аминокислотную последовательность VLCDR1 из SEQ ID NO: 10, аминокислотную последовательность VLCDR2 из SEQ ID NO: 11 и аминокислотную последовательность VLCDR3 из SEQ ID NO: 32, каждая из которых раскрыта в табл. 1 патента США № 2015/0210769; (c) VH, содержащий аминокислотную последовательность VHCDR1 из SEQ ID NO: 224, аминокислотную последовательность VHCDR2 из SEQ ID NO: 5 и аминокислотную последовательность VHCDR3 из SEQ ID NO: 3; и VL, содержащий аминокислотную последовательность VLCDR1 из SEQ ID NO: 13, аминокислотную последовательность VLCDR2 из SEQ ID NO: 14 и аминокислотную последовательность VLCDR3 из SEQ ID NO: 33, каждая из которых раскрыта в табл. 1 патента США № 2015/0210769; или (d) VH, содержащий аминокислотную последовательность VHCDR1 из SEQ ID NO: 224; аминокислотную последовательность VHCDR2 из SEQ ID NO: 2; и аминокислотную последовательность VHCDR3 из SEQ ID NO: 3; и VL, содержащий аминокислотную последовательность VLCDR1 из SEQ ID NO: 10, аминокислотную последовательность VLCDR2 из SEQ ID NO: 11 и аминокислотную последовательность VLCDR3 из SEQ ID NO: 32, каждая из которых раскрыта в табл. 1 патента США № 2015/0210769.

В другом варианте реализации молекула антитела против PD-1 содержит (i) варибельный участок тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 4, или SEQ ID NO: 224; аминокислотную последовательность VHCDR2 из SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5; и аминокислотную последовательность VHCDR3 из SEQ ID NO: 3; и (ii) варибельный участок легкой цепи (VL), содержащий аминокислотную последовательность VLCDR1 из SEQ ID NO: 10 или SEQ ID NO: 13, аминокислотную последовательность VLCDR2 из SEQ ID NO: 11 или SEQ ID NO: 14 и аминокислотную последовательность VLCDR3 из SEQ ID NO: 32 или SEQ ID NO: 33, каждая из которых раскрыта в табл. 1 патента США № 2015/0210769.

В некоторых вариантах реализации антагонист пути PD-1 представляет собой иммуноадгезин (например, иммуноадгезин, содержащий внеклеточную или PD-1 связывающую часть PD-L1 или PD-L2) слит с константным участком (например, Fc-область последовательности иммуноглобулина). В некоторых вариантах реализации ингибитор PD-1 представляет собой AMP-224 (B7-DCIg, Amplimmune, например, раскрытый в WO 02010/027827 и WO 2011/066342) представляет собой растворимый в плазме рецептор PD-L2 Fc, который блокирует взаимодействие между PD-1 и B7-H1.

В некоторых вариантах реализации антагонист пути PD-1 представляет собой ингибитор PD-L1 или PD-L2. В некоторых вариантах реализации ингибитор PD-L1 или PD-L2 представляет собой антитело против PD-L1 или антитело против PD-L2. В некоторых вариантах реализации ингибитор против PD-L1 выбирают из YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C или MDX-1105. В некоторых ва-

риантах реализации ингибитор PD-L1 представляет собой антитело против PD-L1 MSB0010718C. MSB0010718C (также называемый A09-246-2, Merck Serono) представляет собой моноклональное антитело, которое связывается с PD-L1. MSB0010718C и другие гуманизированные антитела против PD-L1 раскрыты в WO 2013/079174 и имеют описанную в нем последовательность (или последовательность, практически идентичную или сходную с ней, например, последовательность по меньшей мере 85, 90, 95% идентичную указанной последовательности или выше).

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи (SEQ ID NO: 24, как описано в WO 2013/079174) из MSB0010718C содержит, по меньшей мере, следующее:

EVQLLESGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGITFYADKG
RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTVDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID
NO: 6)

Аминокислотная последовательность легкой цепи (SEQ ID NO: 25, как описано в WO 2013/079174) из MSB0010718C содержит, по меньшей мере, следующее:

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSNRPSGVSNR
SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTQVTVL (SEQ ID NO: 7)

В одном варианте реализации ингибитор PD-L1 представляет собой YW243.55.S70. Антитело YW243.55.S70 представляет собой антитело против PD-L1, как описано в WO 2010/077634 (последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепей, показанные в SEQ ID NO: 20 и 21 соответственно) и имеющее последовательность, раскрытую там (или последовательность, практически идентичную или сходную с ней, например, последовательность, по меньшей мере, на 85, 90, 95% идентичную указанной последовательности или выше).

В одном варианте реализации ингибитор PD-L1 представляет собой MDX-1105. MDX-1105, также известен как BMS-936559, представляет собой антитело против PD-L1, раскрытое в WO 2007/005874 и с описанной в нем последовательностью (или последовательностью, практически идентичной или сходной с ней, например, последовательностью по меньшей мере на 85, 90, 95% или выше идентичной указанной последовательности).

В одном варианте реализации ингибитор PD-L1 представляет собой MDPL3280A (Genentech/Roche). MDPL3280A представляет собой человеческое Fc-оптимизированное моноклональное антитело IgG1, которое связывается с PD-L1. MDPL3280A и другие человеческие моноклональные антитела к PD-L1 раскрыты в патенте США № 7943743 и публикации на патент № 20120039906.

В других вариантах реализации ингибитор PD-L2 представляет собой AMP-224. AMP-224 представляет собой Fc слитый растворимый в плазме рецептор PD-L2, который блокирует взаимодействие между PD1 и B7-H1 (B7-DCIg, Amplimmune, например, как описано в WO 2010/027827 и WO 2011/066342).

Соединение ди-F-CDN, описанное в данном документе, может быть использовано в комбинации с антагонистами пути TIM-3. В некоторых вариантах реализации комбинация используется для лечения солидной опухоли или гематологической злокачественной опухоли. В некоторых вариантах реализации антагонист пути TIM-3 представляет собой антитела против TIM-3. В некоторых вариантах молекулы антитела против TIM-3, раскрыты в патенте США № 2015/0218274, опубликованном 6 августа 2015 года, озаглавленном "Antibody Molecules to TIM-3 and Uses Thereof".

В одном варианте реализации молекула антитела против TIM-3 содержит по меньшей мере один или два вариабельных домена тяжелой цепи (необязательно включающие константную область), по меньшей мере один или два вариабельного домена легкой цепи (необязательно включающий константную область) или оба, включая аминокислотную последовательность ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; или как описано в табл. 1-4 в патенте США № 2015/0218274, или кодируется нуклеотидной последовательностью из табл. 1-4 там же; или последовательностью, практически идентичной (например, по меньшей мере на 80, 85, 90, 92, 95, 97, 98, 99% или выше идентичности) любой из вышеуказанных последовательностей. Молекула антитела против TIM-3, необязательно, содержит лидерную последовательность из тяжелой цепи, легкой цепи или того и другого, как показано в патенте США № 2015/0218274; или последовательность, практически идентичную ей. Раскрытие изобретения в патенте США № 2015/0218274 включено в данном документе посредством ссылки, поскольку оно относится к аминокислотным последовательностям и нуклеотидным последовательностям в табл. 1-4 в нем.

В еще одном варианте реализации молекула антитела против TIM-3 содержит по меньшей мере одну, две или три области комплементарности (CDR) из вариабельной области тяжелой цепи и/или вариабельной области легкой цепи антитела, описанной в патенте США № 2015/0218274, например антитело, выбранное из любого из ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-

hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; или как описано в табл. 1-4 в патенте США 2015/0218274; или кодируется нуклеотидной последовательностью в табл. 1-4 в нем; или последовательностью, практически идентичной (например, по меньшей мере на 80, 85, 90, 92, 95, 97, 98, 99% идентичной или выше) любой из вышеуказанных последовательностей.

В еще одном варианте реализации молекула антитела против TIM-3 содержит по меньшей мере один, два или три CDR (или все CDR вместе) из варибельного участка тяжелой цепи, содержащего аминокислотную последовательность, указанную в табл. 1-4 в патенте США № 2015/0218274 или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1-4 в нем. В одном варианте реализации один или несколько CDR (или все CDR вместе) имеют одну, две, три, четыре, пять, шесть или более замен, например аминокислотные замены или делеции, относительно указанной аминокислотной последовательности в табл. 1-4, или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1-4 в нем.

В еще одном варианте реализации молекула антитела против TIM-3 содержит по меньшей мере один, два или три CDR (или все CDR вместе) из варибельного участка легкой цепи, содержащего аминокислотную последовательность, указанную в табл. 1-4 в патенте США № 2015/0218274 или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1-4 в нем. В одном варианте реализации один или несколько CDR (или все CDR вместе) имеют одну, две, три, четыре, пять, шесть или более замен, например, аминокислотные замены или делеции, относительно указанной аминокислотной последовательности в табл. 1-4, или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1-4 в нем. В некоторых вариантах реализации молекула антитела против TIM-3 включает замену в CDR легкой цепи, например одну или несколько замен в CDR1, CDR2 и/или CDR3 легкой цепи.

В другом варианте реализации молекула антитела против TIM-3 содержит по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть CDR (или все вместе CDR) из варибельной области тяжелой и легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл. 1-4 из патента США № 2015/0218274 или кодируется нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1-4 в нем. В одном варианте реализации один или несколько CDR (или все CDR вместе) имеют одну, две, три, четыре, пять, шесть или более замен, например, аминокислотные замены или делеции, относительно указанной аминокислотной последовательности в табл. 1-4, или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1-4 в нем.

В одном варианте реализации молекула антитела против TIM-3 содержит:

(a) варибельный участок тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 из SEQ ID NO: 10; и аминокислотную последовательность VHCDR3 из SEQ ID NO: 5; и варибельный участок легкой цепи (VL), содержащий аминокислотную последовательность VLCDR1 из SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 из SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 из SEQ ID NO: 14, каждая из которых раскрыта в табл. 1-4 патента США № 2015/0218274;

(b) VH, содержащий аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3; аминокислотную последовательность VHCDR2 из SEQ ID NO: 4; и аминокислотную последовательность VHCDR3 из SEQ ID NO: 5; и аминокислотную последовательность VLCDR1 из SEQ ID NO: 6, аминокислотную последовательность VLCDR2 из SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность VLCDR3 из SEQ ID NO: 8, каждая из которых раскрыта в табл. 1-4 патента США № 2015/0218274;

(c) VH, содержащий аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 из SEQ ID NO: 25; и аминокислотную последовательность VHCDR3 из SEQ ID NO: 5; и аминокислотную последовательность VLCDR1 из SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 из SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 из SEQ ID NO: 14, каждая из которых раскрыта в табл. 1-4 патента США № 2015/0218274;

(d) VH, содержащий аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3; аминокислотную последовательность VHCDR2 из SEQ ID NO: 24; и аминокислотную последовательность VHCDR3 из SEQ ID NO: 5; и аминокислотную последовательность VLCDR1 из SEQ ID NO: 6, аминокислотную последовательность VLCDR2 из SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность VLCDR3 из SEQ ID NO: 8, каждая из которых раскрыта в табл. 1-4 патента США № 2015/0218274;

(e) VH, содержащий аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 из SEQ ID NO: 31; и аминокислотную последовательность VHCDR3 из SEQ ID NO: 5; и VL, содержащий аминокислотную последовательность VLCDR1 из SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 из SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 из SEQ ID NO: 14, каждая из которых раскрыта в табл. 1-4 патента США № 2015/0218274;

(f) VH, содержащий аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3; аминокислотную последовательность VHCDR2 из SEQ ID NO: 30; и аминокислотную последовательность VHCDR3 из SEQ ID NO: 5; и VL, содержащий аминокислотную последовательность VLCDR1 из SEQ ID NO: 6, аминокислотную последовательность VLCDR2 из SEQ ID NO: 7 и аминокислотную по-

следовательность VLCDR3 из SEQ ID NO: 8, каждая из которых раскрыта в табл. 1-4 патента США № 2015/0218274.

В некоторых вариантах реализации антагонист пути TIM-3 представляет собой антитела антитела раскрытые в патенте США № 8552156, WO 2011/155607, EP 2581113 или публикации патента США №: 2014/044728.

Соединение ди-F-CDN, описанное в данном документе, может быть использовано в комбинации с антагонистами пути LAG-3. В некоторых вариантах реализации комбинация используется для лечения солидной опухоли или гематологической злокачественной опухоли. В некоторых вариантах реализации антагонист пути LAG-3 представляет собой антитела антитела к-LAG-3. В некоторых вариантах молекулы антитела против LAG-3, раскрыты в патенте США № 2015/0259420, поданном 13 марта 2015 года, озаглавленном "Antibody Molecules to LAG-3 and Uses Thereof".

В одном варианте реализации молекула антитела против LAG-3 содержит по меньшей мере один или два переменных домена тяжелой цепи (необязательно включающие константную область), по меньшей мере один или два переменного домена легкой цепи (необязательно включающий константную область) или оба, включая аминокислотную последовательность любой из BAP050-hum01, BAP050-hum02, BAP050-hum20, hum03, BAP050-hum04, BAP050-hum05, BAP050-hum06, BAP050-hum07, BAP050-hum08, BAP050-hum09, BAP050-hum10, BAP050-hum11, BAP050-hum12, BAP050-hum13, BAP050-hum14, BAP050-hum15, BAP050-hum16, BAP050-hum17, BAP050-hum18, BAP050-hum19, BAP050-hum20, BAP050 - huBAP050(Ser) (например, BAP050-hum01-Ser, BAP050-hum02-Ser, BAP050-hum03-Ser, BAP050-hum04-Ser, BAP050-hum05-Ser, BAP050-hum06-Ser, BAP050-hum07-Ser, BAP050-hum08-Ser, BAP050-hum09-Ser, BAP050-hum10-Ser, BAP050-hum11-Ser, BAP050-hum12-Ser, BAP050-hum13-Ser, BAP050-hum14-Ser, BAP050-hum15-Ser, BAP050-hum18-Ser, BAP050-hum19-Ser или BAP050-hum20-Ser), BAP050-Clone-F, BAP050-Clone-G, BAP050-Clone-H, BAP050-Clone-I или BAP050-Clone-J; или как описано в табл. 1 в патенте США № 2015/0259420, или кодируется нуклеотидной последовательностью из табл. 1 там же; или последовательностью, практически идентичной (например, по меньшей мере, на 80, 85, 90, 92, 95, 97, 98, 99% или выше идентичности) любой из вышеуказанных последовательностей. Раскрытие изобретения в патенте США № 2015/0259420 включено сюда посредством ссылки, поскольку оно относится к аминокислотным последовательностям и нуклеотидным последовательностям в табл. 1 в нем.

В еще одном варианте реализации молекула антитела против LAG-3 содержит по меньшей мере одну, две или три области комплементарности (CDR) из переменной области тяжелой цепи и/или переменной области легкой цепи антитела, описанной в данном документе, например, антитело выбрано из любого из BAP050-hum01, BAP050-hum02, BAP050-hum20, hum03, BAP050-hum04, BAP050-hum05, BAP050-hum06, BAP050-hum07, BAP050-hum08, BAP050-hum09, BAP050-hum10, BAP050-hum11, BAP050-hum12, BAP050-hum13, BAP050-hum14, BAP050-hum15, BAP050-hum16, BAP050-hum17, BAP050-hum18, BAP050-hum19, BAP050-hum20, BAP050 - huBAP050(Ser) (например, BAP050-hum01-Ser, BAP050-hum02-Ser, BAP050-hum03-Ser, BAP050-hum04-Ser, BAP050-hum05-Ser, BAP050-hum06-Ser, BAP050-hum07-Ser, BAP050-hum08-Ser, BAP050-hum09-Ser, BAP050-hum10-Ser, BAP050-hum11-Ser, BAP050-hum12-Ser, BAP050-hum13-Ser, BAP050-hum14-Ser, BAP050-hum15-Ser, BAP050-hum18-Ser, BAP050-hum19-Ser или BAP050-hum20-Ser), BAP050-Clone-F, BAP050-Clone-G, BAP050-Clone-H, BAP050-Clone-I или BAP050-Clone-J; или как описано в табл. 1 в патенте США № 2015/0259420, или кодируется нуклеотидной последовательностью из табл. 1 там же; или последовательностью, практически идентичной (например, по меньшей мере, на 80, 85, 90, 92, 95, 97, 98, 99% или выше идентичности) любой из вышеуказанных последовательностей.

В еще одном варианте реализации молекула антитела против LAG-3 содержит по меньшей мере один, два или три CDR (или все CDR вместе) из переменного участка тяжелой цепи, содержащего аминокислотную последовательность, указанную в табл. 1 в патенте США № 2015/0259420 или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1 в нем. В одном варианте реализации один или несколько CDR (или все CDR вместе) имеют одну, две, три, четыре, пять, шесть или более замен, например аминокислотные замены или делеции, относительно указанной аминокислотной последовательности в табл. 1, или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1 в нем.

В еще одном варианте реализации молекула антитела против LAG-3 содержит по меньшей мере один, два или три CDR (или все CDR вместе) из переменного участка легкой цепи, содержащего аминокислотную последовательность, указанную в табл. 1 в патенте США № 2015/0259420 или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1 в нем. В одном варианте реализации один или несколько CDR (или все CDR вместе) имеют одну, две, три, четыре, пять, шесть или более замен, например аминокислотные замены или делеции, относительно указанной аминокислотной последовательности в табл. 1, или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1 в нем. В некоторых вариантах реализации молекула антитела против PD-L1 включает замену в CDR легкой цепи, например, одну или несколько замен в CDR1, CDR2 и/или CDR3 легкой цепи.

В другом варианте реализации молекула антитела против LAG-3 содержит по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть CDR (или все вместе CDR) из переменной области тяжелой и легкой

цепи, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл. 1 из патента США № 2015/0259420 или кодируется нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1 в нем. В одном варианте реализации один или несколько CDR (или все CDR вместе) имеют одну, две, три, четыре, пять, шесть или более замен, например аминокислотные замены или делеции, относительно указанной аминокислотной последовательности в табл. 1, или кодируется нуклеотидной последовательностью, указанной в табл. 1 в нем.

В одном варианте реализации молекула антитела против LAG-3 содержит: (i) вариабельный участок тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 286; аминокислотную последовательность VHCDR2 из SEQ ID NO: 2; и аминокислотную последовательность VHCDR3 из SEQ ID NO: 3, каждая из которых раскрыта в табл. 1 патента США № 2015/0259420; и (ii) вариабельный участок легкой цепи (VL), содержащий аминокислотную последовательность VLCDR1 из SEQ ID NO: 10, аминокислотную последовательность VLCDR2 из SEQ ID NO: 11 и аминокислотную последовательность VLCDR3 из SEQ ID NO: 12, каждая из которых раскрыта в табл. 1 патента США № 2015/0259420.

В другом варианте реализации молекула антитела против LAG-3 содержит:

(i) вариабельный участок тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 286; аминокислотную последовательность VHCDR2 из SEQ ID NO: 5 и аминокислотную последовательность VHCDR3 из SEQ ID NO: 3, каждая из которых раскрыта в табл. 1 патента США № 2015/0259420; и

(ii) вариабельный участок легкой цепи (VL), содержащий аминокислотную последовательность VLCDR1 из SEQ ID NO: 13, аминокислотную последовательность VLCDR2 из SEQ ID NO: 14 и аминокислотную последовательность VLCDR3 из SEQ ID NO: 15, каждая из которых раскрыта в табл. 1 патента США № 2015/0259420.

В одном варианте реализации молекула антитела против LAG-3 содержит аминокислотную последовательность VHCDR1 из SEQ ID NO: 1 как раскрыто в табл. 1 патента США № 2015/0259420. В другом варианте реализации молекула антитела против LAG-3 содержит аминокислотную последовательность VHCDR1 из SEQ ID NO: 4 как раскрыто в табл. 1 патента США № 2015/0259420. В еще одном варианте реализации молекула антитела против LAG-3 содержит аминокислотную последовательность VHCDR1 из SEQ ID NO: 286 как раскрыто в табл. 1 патента США № 2015/0259420.

В некоторых вариантах реализации антитело против LAG-3 представляет собой BMS-986016. BMS-986016 (также называемый BMS986016, Bristol-Myers Squibb) представляет собой моноклональное антитело, которое связывается с LAG-3. BMS-986016 и другие гуманизированные антитела против LAG-3 раскрыты в патенте США 2011/0150892, WO 2010/019570 и WO 2014/008218.

Агонисты рецепторов Т-клеток.

Соединение ди-F-CDN, как описано в данном документе, может быть использовано в комбинации с агонистом рецептора Т-клеток, таким как агонист CD28, агонист OX40, агонист GITR, агонист CD137, агонист CD27 или агонист HVEM.

Соединение ди-F-CDN, описанное в данном документе, может быть использовано в комбинации с агонистом CD27. Типичные агонисты CD27 включают анти-CD27-агонистическое антитело, например, как описано в публикации PCT № WO 2012/004367.

Соединение ди-F-CDN, описанное в данном документе, может быть использовано в комбинации с агонистом GITR. В некоторых вариантах реализации комбинация используется для лечения солидной опухоли или гематологической злокачественной опухоли. Типичные агонисты GITR включают, например, слитые белки GITR и антитела против GITR (например, двухвалентные антитела анти-GITR), такие как гибридный белок GITR, описанный в патенте США № 6111090, Европейском патенте № 0920505 B1, патенте США № 8586023, PCT публикации № WO 2010/003118 и 2011/090754 или антитело против GITR, описанное, например, в патенте США № 7025962, Европейском патенте № 1947183 B1, патенте США № 7812135, патенте США № 8388967, патенте США № 8591886, Европейском патенте № EP 1866339, PCT публикации № WO 2011/028683, патенте США № 8709424, PCT публикации № WO 2013/039954, международной публикации № WO 2013/039954, публикации США № US 2014/0072566, международной публикации № WO 2015/026684, PCT публикации № WO 2005/007190, PCT публикации № WO 2007/133822, PCT публикации № WO 2005/055808, PCT публикации № WO 99/40196, PCT публикации № WO 2001/03720, PCT публикации № WO 99/20758, публикации США № 6689607, PCT публикации № WO 2006/083289, PCT публикации № WO 2005/115451, патенте США № 7618632, PCT публикации № WO 2011/051726, Международной публикации № WO 2004060319 и Международной публикации № WO 2014012479.

В другом варианте реализации соединение ди-F-CDN, как описано в данном документе, используют в комбинации с агонистом GITR, используемым в комбинации с агонистом TLR например, как описано в WO 2004060319 и Международной публикации № WO 2014012479.

TLR агонисты.

Соединение ди-F-CDN, как описано в данном документе, может быть использовано в комбинации с агонистом Toll-подобного рецептора. Термин "Toll-подобный рецептор" (или "TLR"), используемый в

данном документе, относится к члену семейства белков Toll-подобных рецепторов или его фрагменту, который воспринимает микробный продукт и/или инициирует адаптивный иммунный ответ. В одном варианте реализации TLR активирует дендритную клетку (DC). Toll-подобные рецепторы (TLR) представляют собой семейство рецепторов распознавания образов, которые первоначально были идентифицированы как сенсоры врожденной иммунной системы, которые распознают микробные патогены. TLR содержат семейство консервативных мембранных молекул, содержащих эктодомен богатых лейцином повторов, трансмембранного домена и внутриклеточного домена TIR (Toll/IL-1R). TLR распознают различные структуры в микробах, часто называемые "PAMP" (связанные с патогенами молекулярные структуры). Связывание лиганда с TLR вызывает каскад внутриклеточных сигнальных путей, которые индуцируют продукцию факторов, связанных с воспалением и иммунитетом.

У людей было определено десять TLR. TLR, которые экспрессируются на поверхности клеток, включают TLR-1, -2, -4, -5 и -6, тогда как TLR-3, -7/8 и -9 экспрессируются в ER компартменте. Подмножества человеческих дендритных клеток могут быть идентифицированы на основе различных паттернов экспрессии TLR. В качестве примера миелоидное или "обычное" подмножество DC (mDC) экспрессирует TLR1-8 при стимуляции и производятся каскад маркеров активации (например, CD80, CD86, MHC класса I и II, CCR7), провоспалительных цитокинов и хемокинов. Результатом этой стимуляции и результирующей экспрессии является антигенспецифическое праймирование CD4+ и CD8+ Т-клеток. Эти DC приобретают повышенную способность принимать антигены и представлять их в соответствующей форме Т-клеткам. Напротив, плазматоидное подмножество DC (pDC) экспрессирует только TLR7 и TLR9 при активации, с последующей активацией NK-клеток, а также Т-клеток. Поскольку умирающие опухолевые клетки могут неблагоприятно влиять на функцию DC, было высказано предположение, что активация DC с агонистами TLR может быть полезна для праймирования противоопухолевого иммунитета в подходе иммунотерапии к лечению рака. Также было высказано предположение, что для успешного лечения рака молочной железы с использованием радиации и химиотерапии требуется активация TLR4.

Агонисты TLR, известные в данной области, и открытие в данном изобретении включает, но не ограничивается ими, следующее:

- Pam3Cys, агонист TLR-1/2;
- CFA, агонист TLR-2;
- MALP2, агонист TLR-2;
- Pam2Cys, агонист TLR-2;
- FSL-1, агонист TLR-2;
- Hib-OMPC, агонист TLR-2;
- полирибозиновую: полирибозитидную кислоту (поли I:C), агонист TLR-3;
- полиаденозин-полиуридилловую кислоту (поли AU), агонист TLR-3;
- полиинозино-полицитидилловую кислоту, стабилизированную поли-L-лизином и карбоксиметилцеллюлозой (Хилтоол®), агонист TLR-3;
- монофосфорилловый липид A (MPL), агонист TLR-4;
- LPS, агонист TLR-4;
- бактериальный флагеллин, агонист TLR-5;
- сиалил-Tn (STn), углевод, связанный с муцином MUC1 ряда раковых клеток человека и агонист TLR-4;
- имиквимод, агонист TLR-7;
- резиквимод, агонист TLR-7/8;
- локсорибин, агонист TLR-7/8; а также
- неметилированный CpG-динуклеотид (CpG-ODN), агонист TLR-9.

Из-за их адьювантных свойств агонисты TLR предпочтительно используют в комбинации с другими вакцинами, адьювантами и/или иммуномодуляторами и могут быть объединены в различных комбинациях. Таким образом, в некоторых вариантах реализации ди-F-CDN соединение, которое связывается со STING и индуцирует зависимую от STING активацию TBK1 и инактивированную опухолевую клетку, которая экспрессирует и секретирует один или несколько цитокинов, которые стимулируют индукцию, рекрутирование и/или созревание, как описано в данном документе, можно вводить вместе с одним или несколькими агонистами TLR для терапевтических целей.

Терапевтические средства на основе антител.

Соединение ди-F-CDN, описанное в данном документе, может быть использовано в комбинации с терапевтическими антителами. В некоторых вариантах реализации механизм действия терапевтического антитела представляет собой антитело-зависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC). ADCC является механизмом опосредованной клетками иммунной защиты, при которой эффекторная клетка иммунной системы активно лизует клетку-мишень, чьи мембранно-поверхностные антигены связаны специфическими антителами. Это один из механизмов, посредством которых антитела, как часть гуморального иммунного ответа, могут действовать, чтобы ограничить и сдерживать инфекцию. Классический ADCC опосредуется клетками натуральными киллерами (NK); макрофаги, нейтрофилы и эозино-

фила также могут опосредовать ADCC. ADCC является важным механизмом действия терапевтических моноклональных антител, включая трастузумаб и ритуксимаб, против опухолей. Соединения по данному изобретению могут действовать для усиления ADCC.

Ниже приведен примерный список антител, которые могут быть использованы вместе с ди-F-CDN соединением данного изобретения.

Муромонаб-CD3. Используется для предотвращения острого отторжения органа, например почек, трансплантатов. Гуманизированные версии демонстрируют перспективу в борьбе с аутоиммунным нарушением бета-клеток при сахарном диабете 1-го типа.

Инфликсимаб (Remicade®) и адалимумаб (Humira®). Связывается с фактором некроза опухоли-альфа (TNF- α). Используется при некоторых воспалительных заболеваниях, таких как ревматоидный артрит, псориаз, болезнь Крона.

Омализумаб (Xolair®). Связывается с IgE, таким образом предотвращая связывание IgE с тучными клетками. Используется против аллергической астмы.

Даклизумаб (Zenapax®). Связывается с частью рецептора IL-2, экспонированного на поверхности активированных Т-клеток. Используется для предотвращения острого отторжения трансплантированных почек.

Ритуксимаб (торговое название Rituxan®). Связывается с молекулой CD20, обнаруженной на большинстве В-клеток, и используется для лечения В-клеточных лимфом.

Ибритумомаб (торговое название Zevalin®). Это моноклональное антитело против молекулы CD20 на В-клетках (и лимфомах), конъюгированных с изотопами. Предоставляется пациенту с лимфомой, с дополнением ритуксаном.

Тоситумомаб (Bexxar®). Это конъюгат моноклонального антитела против CD20 и радиоактивного изотопа йод-131 (131I).

Цетуксимаб (Erbix®). Блокирует HER1, рецептор эпидермального фактора роста (EGF), который обнаружен на некоторых опухолевых клетках (некоторые раковые опухоли молочной железы, лимфомы).

Трастузумаб (Герцептин®). Блокирует HER2, рецептор фактора роста, чрезмерно экспрессирующийся в примерно 20% случаев рака молочной железы.

Adcetris®. Конъюгат моноклонального антитела, который связывает CD30, молекулу клеточной поверхности, экспрессируемую клетками некоторых лимфом, но не обнаруженную на нормальных стволовых клетках, необходимых для репопуляции костного мозга.

Алемтузумаб (Campath-1H®). Связывается с CD52, молекулой, обнаруженной на лимфоцитах, и истощает как Т-клетки, так и В-клетки. Производит полную ремиссию хронического лимфоцитарного лейкоза и демонстрирует перспективу предотвратить отторжение трансплантатов почки.

Lym-1 (Oncolym®). Связывается с антигеном гистосовместимости, кодируемым HLA-DR, который может быть экспрессирован на высоких уровнях на клетках лимфомы.

Ипилимумаб (Yervoy®), который действует для усиления собственного иммунного ответа организма на опухоли.

Витаксин. Связывается с сосудистым интегрином (альфа-v/бета-3), обнаруженным на кровеносных сосудах опухолей, но не на кровеносных сосудах, снабжающих нормальные ткани. В клинических испытаниях II фазы, Витаксин продемонстрировал некоторые перспективы в сокращении твердых опухолей без вредных побочных эффектов.

Бевацизумаб (Авастин®). Связывается с сосудистым эндотелиальным фактором роста (VEGF), препятствующим его связыванию с его рецептором. Используется для лечения колоректального рака.

Абциксимаб (ReoPro®). Ингибирует сгущение тромбоцитов путем связывания рецепторов на их поверхности, которые обычно связаны фибриногеном. Помогает в предотвращении повторного лечения коронарных артерий у пациентов, перенесших ангиопластику.

Дополнительные терапевтические антитела, которые могут быть использованы в сочетании с ди-F-CDN соединением, как описано в данном документе, включают ингибитор пролактинового рецептора (PRLR), например, как описано в патенте США № 7867493, ингибитор HER3, например, как описано в РСТ публикации № WO 2012/022814, ингибитор EGFR2 и/или EGFR4, например, как описано в РСТ публикации № WO 2014/160160, ингибитор M-CSF, например, как описано в РСТ публикации № WO 2004/045532, антитело против APRIL, например, как описано в патенте США 8895705, или анти-SIRP α или анти-CD47-антитело, например, как описано в патенте США № 8728476 и патенте США №8562997.

В одном варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN-соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором пролактинового рецептора (PRLR), молекулой моноклонального антитела человека (соединение A26), как описано в патенте США 7867493, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор PRLR представляет собой человеческое моноклональное антитело (соединение A26), раскрытое в патенте США 7867493. В одном варианте реализации, ди-F-CDN соединение используют в комбинации с молекулой человеческого моноклонального антитела (соединение A26), описанного в патенте США 7867493 для лечения расстройства, такого как рак, рак пред-

стательной железы или рак молочной железы.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором HER3, соединением A31 или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2012/022814, для лечения расстройства, например, расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор HER3 представляет собой соединение A31 или соединение, раскрытое в РСТ публикации WO 2012/022814. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с соединением A31 или соединением, раскрытым в РСТ публикации WO 2012/022814, для лечения расстройства, такого как рак желудка, рак пищевода, рак головы и шеи, плоскоклеточный рак, рак желудка, рак молочной железы (например, метастатический рак молочной железы) или рак пищеварительного/желудочно-кишечного тракта. В некоторых вариантах реализации соединение A31 представляет собой молекулу человеческого моноклонального антитела. В одном варианте реализации ингибитор HER3 или соединение A31 вводят в дозе около 3, 10, 20 или 40 мг/кг, например, один раз в неделю (QW). В одном варианте реализации соединения вводят в дозе около 3-10, 10-20 или 20-40 мг/кг.

В другом варианте реализации комбинация, например, комбинация, содержащая ди-F-CDN-соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором FGFR2 и/или FGFR4, соединением A32 или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2014/160160 (например, конъюгат с молекулой антитела против FGFR2 и/или FGFR4, например mAb 12425, как описано в нем) для лечения расстройства, например, расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор FGFR2 и/или FGFR4 представляет собой соединение A32 или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2014/160160. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с соединением A32 или в дополнительной комбинации с соединением, как описано в табл. 2, для лечения расстройства, такого как рак, рак желудка, рак молочной железы, рабдомиосаркома, рак печени, рак надпочечников, рак легких, рак пищевода, рак толстой кишки или рак эндометрия. В некоторых вариантах реализации соединение A32 представляет собой конъюгат лекарственного средства молекулы антитела против FGFR2 и/или FGFR4, например mAb 12425.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором M-CSF соединением A33 или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2004/045532 (например, молекулой антитела или Fab фрагмента против M-CSF), для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор M-CSF представляет собой соединение A33 или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2004/045532. В одном варианте реализации ди-F-CDN соединение используют в комбинации с соединением A33 или соединением, раскрытым в РСТ публикации WO 2004/045532, для лечения расстройства, такого как рак, рак предстательной железы, рак молочной железы, пигментный виллезнонодулярный синовит (PVNS). В вариантах реализации соединение A33 представляет собой молекулу моноклонального антитела против M-CSF или фрагмент (например, Fab-фрагмент). В вариантах реализации ингибитор M-CSF или соединение A33 вводят в средней дозе около 10 мг/кг.

Агенты доставки.

Липосомы являются везикулами, образованными из одного ("однослойного") или более ("много-слойного") слоя фосфолипидов. Из-за амфипатического характера строительных блоков фосфолипидов липосомы обычно содержат гидрофильный слой, представляющий собой гидрофильную внешнюю поверхность и вмещают гидрофильное ядро. Универсальность липосом при включении гидрофильных/гидрофобных компонентов, их нетоксичная природа, биоразлагаемость, биосовместимость, адьювантность, индукция клеточного иммунитета, свойство пролонгированного высвобождения и быстрое поглощение макрофагами делают их привлекательными кандидатами для доставки антигенов.

WO 2010/104833, описывает подходящие липосомальные препараты. Такие липосомальные составы, называемые в данном документе Vesivax® (Molecular Express, Inc.), без нашего "иммуногенного полипептида(ов) или углевода(ов)", упомянутого выше, могут содержать один или несколько дополнительных компонентов, таких как пептидогликан, липопептид, липополисахарид, монофосфорилловый липид A, липотейхоевая кислота, резиквомод, имиквимод, флагеллин, олигонуклеотиды, содержащие неметилированные CpG-мотивы, бета-галактозилцерамид, мурамилдипептид, полностью транс-ретиноевую кислоту, двухцепочечную вирусную РНК, белки теплового шока, диоктадецилдиметиламмонийбромид, катионные поверхностно-активные вещества, агонисты сходных рецепторов, димиристоидтриметиламмонийпропан и агонисты с кислым рецептором. Преимущественно эти липосомальные композиции могут быть использованы для доставки ди-F-CDN и его композиций, описанных в данном документе в соответствии с настоящим изобретением.

Более того, хотя описанные выше липосомальные композиции используют "производное стероидов" в качестве якоря для прикрепления иммуногенного полипептида или углевода к липосоме, стероид можно просто предоставить в виде неконъюгированного стероида, такого как холестерин.

Подходящие способы получения липосом из липидных смесей хорошо известны в данной области. См., например, Basu & Basu, *Liposome Methods and Protocols* (Methods in Molecular Biology), Humana

Press, 2002; Gregoriadis, *Liposome Technology*, 3rd Edition, Informa Healthcare, 2006. Предпочтительные способы включают способы экструзии, гомогенизации и обработки ультразвуком, описанные в нем. Примерный способ получения липосом для использования в данном изобретении, который включает высушивание липидной смеси с последующей гидратацией в водном носителе и обработку ультразвуком с образованием липосом, описан в WO 2011/04833.

В некоторых вариантах реализации липосомы предусмотрены в пределах определенного среднего диапазона размеров. Размер липосомы может быть выбран, например, путем экструзии водного носителя, содержащего липосомы, через мембраны, имеющие предварительно выбранный размер пор и собирающий материал, протекающий через мембрану. В предпочтительных вариантах реализации липосомы выбирают, по существу, от 50 до 500 нм в диаметре, более предпочтительно, по существу, от 50 до 200 нм в диаметре и наиболее предпочтительно, по существу, от 50 до 150 нм в диаметре. Используемый в данном документе термин "по существу" означает, что по меньшей мере 75%, более предпочтительно 80% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 90% липосом находятся в пределах указанного диапазона.

Другие липидные и липидоподобные адъюванты, которые могут найти применение в данном изобретении, включают эмульсии масло-в-воде (o/w) (см., например, Muderhwa et al., *J. Pharmaceut. Sci.* 88: 1332-9, 1999), VesiVax® TLR (Molecular Express, Inc.), дигитонин (см., например, патент США 5698432) и глюкопиранозил липиды (см., например, заявку на патент США 20100310602).

Наночастицы также представляют собой системы доставки лекарств, подходящие для большинства путей введения. На протяжении многих лет были изучены различные природные и синтетические полимеры для получения наночастиц, из которых поли(молочная кислота) (PLA), поли(гликолевая кислота) (PGA) и их сополимеры (PLGA) были широко исследованы из-за их биосовместимости и биоразлагаемости. Наночастицы и другие наноносители действуют как потенциальные носители для нескольких классов лекарств, таких как противораковые агенты, антигипертензивные средства, иммуномодуляторы и гормоны; и макромолекулы, такие как нуклеиновые кислоты, белки, пептиды и антитела. См., например, *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 21:387-422, 2004; *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 1:22-30, 2005.

Химиотерапевтические агенты.

В дополнительных вариантах реализации описанных в данном документе способов соединения ди-F-CDN, как описано в данном документе, используют в комбинации с химиотерапевтическими агентами (например, с небольшими молекулами фармацевтических соединений). Таким образом, способы дополнительно включают введение субъекту эффективного количества одного или нескольких химиотерапевтических агентов в качестве дополнительного лечения или комбинированного лечения. В некоторых вариантах реализации один или несколько химиотерапевтических агентов выбирают из группы, состоящей из абаратерона ацетата, алтретамина, ангидровавинбластин, ауристатина, бексаротина, бикалутамида, BMS 184476, 2,3,4,5,6-пентафтор-N-(3-фтор-4-метоксифенил)бензолсульфонамида, блеомицина, N,N-диметил-L-валил-L-валил-N-метил-L-валил-L-пролин-1-L-пролин-трет-бутиламида, кахектина, семадотина, хлорамбуцила, циклофосфамида, 3',4'-дидегидро-4'-дезоксид-8'-норвин-калейкобластин, доцетамол, доксетаксела, циклофосфамида, карбоплатина, кармустина, цисплатина, криптофицина, циклофосфамида, цитарабина, дакарбазина (DTIC), дактиномицина, даунорубицина, децитабин доластатина, доксорубицина (адриамин), этопозида, 5-фторурацила, финастерид, флутамида, гидроксимочевина и гидроксиуретананов, ифосфамида, лиарозола, лонидамина, ломустина (CCNU), энзалутамида, мехлорэтаммина (азотная горчица), мелфалана, миобулин изетионата, ризоксина, сертена, стрептозоцина, митомицина, метотрексата, таксанов, нилутамида, онапристона, паклитаксела, преднимустина, прокарбазина, RPR109881, страмустин фосфата, тамоксифена, тазеринмина, таксола, третиноина, винбластин, винкристин, виндезин сульфата и винфлунина.

В дополнительных вариантах реализации описанные в данном документе способы, ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используют в комбинации с химиотерапевтическими агентами и/или дополнительными агентами для лечения показаний, описанных в приведенных в данном документе методах. В некоторых вариантах реализации ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используют в комбинации с одним или несколькими агентами, выбранными из группы, состоящей из сострастаурина, нилотиниба, 5-(2,4-дигидрокси-5-изопропилфенил)-N-этил-4-(4-(морфолинометил)фенил)изоксазол-3-карбоксамид, дактолисиба, 8-(6-метокси-пиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифтомметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-с]хинолин-2-она, 3-(2,6-дихлор-3,5-диметоксифенил)-1-(6-((4-(4-этилпиперазин-1-ил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)-1-метилмочевина, бупарасилиса, 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-(диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксамид, (S)-N1-(4-метил-5-(2-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил)пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксамид, (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-метил(((1г,4S)-4-(4-метил-3-оксопиперазин-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-она, деферазирокса, летрозол, (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(трифлуорометил)-[4,5'-бипиримидин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-она, (S)-5-(5-хлор-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)-6-(4-хлорфенил)-2-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-1-изопропил-5,6-дигидропирроло[3,4-d]имидазол-4(1H)-она, 4-

((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамида, иматиниб мезилата, 2-фтор-N-метил-4-(7-(хинолин-6-илметил) имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамида, руксипитиниба, панобиностат, осилодростат, (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамида, (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксиэтил)-2-(метиламино)пропанамида, фосфат сонидегиба, церитиниба, 7-циклопентил-N,N-диметил-2-(((5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамида, N-(4-(((1R,3S,5S)-3-амино-5-метилциклогексил) пиридин-3-ил)-6-(2,6-дифторфенил)-5-фторпиколинамида, 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиазин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамида, энкорафениба, 7-циклопентил-N,N-диметил-2-(((5-((1R,6S)-9-метил-4-оксо-3,9-диазабицикло[4.2.1]нонан-3-ил)пиридин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамида, биниметиниба, мидодостарина, эверолимуса, 1-метил-5-((2-(5-(трифторметил)-1Н-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил))фенил)-1Н-бензо[d]имидазол-2-амин, пасиреотидный диаспартата, довитиниба, (R,E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1Н-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамида, N⁶-(2-изопропокси-5-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(2-изопропилсульфонил)фенил)-1Н-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4,6-диамина, 3-(4-(4-((5-хлор-4-((5-метил-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)амино)-5-фтор-2-метилфенил)пиперидин-1-ил)тиетан-1,1-диоксид, 5-хлор-N²-(2-фтор-5-метил-4-(1-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)пиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(5-метил-1Н-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамин, 5-хлор-N²-(4-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-фтор-5-метилфенил)-N⁴-(5-метил-1Н-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамина, валсподара и сутаминат ваталаниба.

В одном варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором PKC, сотрастурином (соединением A1) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2005/039549, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор PKC представляет собой сотрастурин (соединение A1) или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2005/039549. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации со сотрастурином (соединение A1) или соединением, как описано в публикации РСТ № WO 2005/039549, для лечения расстройства, такого как рак, меланома, неходжкинская лимфома, воспалительное заболевание кишечника, отторжение трансплантата, офтальмологическое расстройство или псориаз. В некоторых вариантах реализации Сотрастурин (соединение A1) вводят в дозе примерно от 20 до 600 мг, например от примерно 200 до примерно 600 мг, от примерно 50 мг до примерно 450 мг, от примерно 100 до примерно 400 мг, от примерно 150 до примерно 350 мг, или примерно от 200 до 300 мг, например около 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500 или 600 мг. График дозирования может варьировать, например, каждый день, ежедневно, два или три раза в день.

В одном варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором BCR-ABL, TASIGNA (соединением A2 нилотиниб) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2004/005281, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор BCR-ABL представляет собой TASIGNA, или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2004/005281. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с TASIGNA (соединение A2) или соединением, как описано в РСТ публикации № WO 2004/005281, для лечения расстройства, такого как лимфоцитарный лейкоз, болезнь Паркинсона, неврологический рак, меланома, рак пищеварительного/желудочно-кишечного тракта, колоректальный рак, миелоидный лейкоз, рак головы и шеи или легочная гипертензия. В одном варианте реализации ингибитор BCR-ABL или TASIGNA вводят в дозе около 300 мг (например, два раза в день, например, для вновь диагностированного Ph+CML-CP) или примерно 400 мг, например, два раза в день, например, для устойчивых или непереносимых Ph+CML-CP и CML-AP). Ингибитор BCR-ABL или соединение A2 вводят в дозе около 300-400 мг.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая соединение ди-F-CDN, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором HSP90, таким как 5-(2,4-дигидрокси-5-изопропилфенил)-N-этил-4-(4-(морфолинометил)фенил)изоксазол-3-карбоксамид (соединение A3) или соединение, раскрытое в публикации РСТ № WO 2010/060937 или WO 2004/072051, для лечения расстройства, например расстройства, описанное в данном документе. В одном из вариантов ингибитор HSP90 представляет собой 5-(2,4-дигидрокси-5-изопропилфенил)-N-этил-4-(4-(морфолинометил)фенил)изоксазол-3-карбоксамид (соединение A3) или соединение, раскрытое в публикации РСТ № WO 2010/060937 или WO 2004/072051. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с 5-(2,4-дигидрокси-5-изопропилфенил)-N-этил-4-(4-(морфолинометил)фенил)изоксазол-3-карбоксамидом (соединение A3) или соединением, как описано в публикации РСТ № WO 2010/060937 или WO 2004/072051, для лечения расстройства, такого как рак, множественная миелома, немелкоклеточный рак легкого, лимфома, рак желудка, рак молочной железы, рак желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, колоректальный рак, солидная опухоль или расстройство гемопоэза.

В другом варианте реализации комбинация, например, комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором PI3K и/или mTOR, Дактолисиб (соединение A4) или 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифто-

рметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-с]хинолин-2-он (соединение A41) или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2006/122806, для лечения расстройства, например, расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор PI3K и/или mTOR представляет собой Дактолисиб (соединение A4), 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-с]хинолин-2-он (соединение A41) или соединение, раскрытое в публикации РСТ № WO 2006/122806. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с дактолисибом (соединение A4), 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-с]хинолин-2-оном (соединение A41) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2006/122806, для лечения такого расстройства, как рак, рак предстательной железы, лейкемия (например, лимфоцитарная лейкемия), рак молочной железы, рак мозга, рак мочевого пузыря, рак поджелудочной железы, рак почки, солидная опухоль или рак печени.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая соединение ди-F-CDN, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором FGFR, 3-(2,6-дихлор-3,5-диметоксифенил)-1-(6-((4-(4-этилпиперазин-1-ил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)-1-метилмочевинной (соединение A5) или соединением, раскрытым в патенте США 855002, для лечения, например, расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор FGFR представляет собой 3-(2,6-дихлор-3,5-диметоксифенил)-1-(6-((4-(4-этилпиперазин-1-ил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)-1-метилмочевину (соединение A5) или соединение, раскрытое в патенте США 8552002. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с соединением A5 или соединением, описанным в патенте США 8552002, для лечения расстройства, такого как рак пищеварительного/желудочно-кишечного тракта, гематологический рак или солидная опухоль. В одном варианте реализации ингибитор FGFR или 3-(2,6-дихлор-3,5-диметоксифенил)-1-(6-((4-(4-этилпиперазин-1-ил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)-1-метилмочевину (соединение A5) вводят в дозе около 100-125 мг (например, в день), например, около 100 мг или около 125 мг.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором PI3K, Бупарсилибом (соединением A6) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2007/084786, для лечения расстройства, например, расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор PI3K представляет собой Бупарсилиб (соединение A6) или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2007/084786. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с Бупарлисибом (соединение A6) или соединением, раскрытым в РСТ публикации WO 2007/084786, для лечения расстройства, такого как рак предстательной железы, немелкоклеточный рак легкого, рак эндокринной системы, лейкоз, рак яичника, меланома, рак мочевого пузыря, рак молочной железы, рак женской репродуктивной системы, рак пищеварительной системы/желудочно-кишечного тракта, колоректальный рак, мультиформная глиобластома, солидная опухоль, неходжкинская лимфома, расстройство гематопоза или рак головы и шеи. В одном варианте реализации ингибитор PI3K или Бупарлисиб (соединение A6) вводят в дозе около 100 мг (например, в день).

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором FGFR, 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксамидом (соединение A7) или соединением, раскрытым в публикации РСТ № WO 2009/141386, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор FGFR представляет собой 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксамид (соединение A7) или соединение, раскрытое в публикации РСТ № WO 2009/141386. В одном варианте реализации ингибитор FGFR представляет собой 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксамид (соединение A7). В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазолом-2-ил)хиноксалин-5-карбоксамидом (соединение A7) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2009/141386, для лечения расстройства, такого как рак, характеризующийся ангиогенезом. В одном варианте реализации ингибитор FGFR или 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксамид (соединение A7) вводят в дозе, например, от около 3 мг до около 5 г, более предпочтительно от около 10 мг до около 1,5 г на человека в день, необязательно разделяемой на 1 до 3 разовых доз, которые могут, например, быть одной величины.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая соединение ди-F-CDN, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором PI3K, (S)-N1-(4-метил-5-(2)-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил)пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксамидом (соединение A8) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2010/029082, для лечения расстройства, например, расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор PI3K представляет собой (S)-N1-(4-метил-5-(2)-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил)пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксамид (соединение A8) или соединением, раскрытое в РСТ публикации № WO 2010/029082. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN исполь-

зуют в комбинации с (S)-N1-(4-метил-5-(2-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил)пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксамидом (соединение A8) или соединением, раскрытым в РСТ публикации WO 2010/029082, для лечения расстройства, такого как рак желудка, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, рак пищеварительного/желудочно-кишечного тракта, солидная опухоль и рак головы и шеи. В одном варианте реализации ингибитор PI3K или (S)-N1-(4-метил-5-(2-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил) пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксамид (соединение A8) вводят в дозе около 150-300, 200-300, 200-400 или 300-400 мг (например, в день), например около 200, 300 или 400 мг.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором цитохрома P450 (например, ингибитором CYP17) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2010/149755, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор цитохрома P450 (например, ингибитор CYP17) представляет собой соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2010/149755. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2010/149755, для лечения рака предстательной железы.

В другом варианте реализации комбинация, например, комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором HDM2, (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-(метил(((1R,4S)-4-(4-метил-3-оксо-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-он (соединение A10) или соединением, раскрытое в РСТ публикации № WO 2011/076786, для лечения расстройства, например, расстройства, описанного в данном документе). В одном варианте реализации ингибитор HDM2 представляет собой (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-(метил(((1R,4S)-4-(4-метил-3-оксопиперазин-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-он (соединение A10) или соединением, раскрытое в публикации РСТ № WO 2011/076786. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-(метил(((1R,4S)-4-(4-метил-3-оксопиперазин-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-он (соединение A10) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2011/076786, для лечения расстройства, такого как солидная опухоль. В одном варианте реализации ингибитор HDM2 или (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-(метил(((1R,4S)-4-(4-метил-3-оксопиперазин-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-он (соединение A10) вводят в дозе примерно от 400 до 700 мг, например, вводят три раза еженедельно, 2 недели и одну неделю. В некоторых вариантах реализации доза составляет около 400, 500, 600 или 700 мг; около 400-500, 500-600 или 600-700 мг, например три раза в неделю.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с агентом, хелатирующим железо, деферазироксом (также известным как EXJADE, соединение A11) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 1997/049395, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации агентом, хелатирующим железо, является деферазирокс или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 1997/049395. В одном варианте реализации агентом, хелатирующим железо, является деферазирокс (соединение A11). В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с деферазироксом (соединение A11) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 1997/049395, для лечения перенасыщения железом, гемохроматоза или миелодисплазии.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором ароматазы, летрозолом (также известным как FEMARA, соединение A12) или соединением, описанным в патенте США 4978672, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор ароматазы представляет собой Летрозол (соединение A12) или соединением, раскрытое в патенте США № 4978672. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с летрозолом (соединение A12) или соединением, раскрытым в патенте США № 4978672, для лечения расстройства, такого как рак, лейомиосаркома, рак эндометрия, рак молочной железы, рак женской репродуктивной системы или гормональный дефицит.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая соединение ди-F-CDN, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором PI3K, например ингибитором пан-PI3K (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(трифторметил)-[4,5'-бипиримидин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-оном (соединение A13) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2013/124826, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор PI3K представляет собой (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(трифторметил)-[4,5'-бипиримидин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-он (соединение A13) или соединением, раскрытое в публикации РСТ № WO 2013/124826. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(

(трифторметил)-[4,5'-бипиримидин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-оном (соединение A13) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2013/124826, для лечения расстройства, такого как рак или развинутой солидной опухоль.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором взаимодействия p53 и/или p53/Mdm2, (S)-5-(5-хлор-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)-6-(4-хлорфенил)-2-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-1-изопропил-5,6-дигидропирроло [3,4-d]имидазол-4(1H)-оном (соединение A14) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2013/111105, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор взаимодействия p53 и/или p53/Mdm2 представляет собой (S)-5-(5-хлор-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)-6-(4-хлорфенил)-2-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-1-изопропил-5,6-дигидропирроло[3,4-d]имидазол-4(1H)-он (соединение A14) или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2013/111105. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с (S)-5-(5-хлор-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)-6-(4-хлорфенил)-2-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-1-изопропил-5,6-дигидропирроло[3,4-d]имидазол-4(1H)-оном (соединение A14), или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2013/111105, для лечения расстройства, такого как рак или саркома мягких тканей.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором тирозинкиназы CSF-1R, 4-((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамидом (соединение A15) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2005/073224, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор тирозинкиназы CSF-1R представляет собой 4-((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамид (соединение A15) или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2005/073224. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с 4-((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамидом (соединение A15) или соединением, раскрытым в публикации РСТ № WO 2005/073224, для лечения расстройства, такого как рак.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая соединение ди-F-CDN, как описано в данном документе, используется в комбинации с индуктором апоптоза и/или ингибитором ангиогенеза, таким как мезилат иматиниба (также известный как GLEEVEC, соединение A16) или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 1999/003854, для лечения расстройства, например описанного расстройства. В одном варианте реализации индуктор апоптоза и/или ингибитор ангиогенеза представляет собой мезилат иматиниба (соединение A16) или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 1999/003854. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в сочетании с мезилатом иматиниба (соединение A16) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 1999/003854, для лечения расстройства, такого как рак, множественная миелома, рак предстательной железы, немелкоклеточный рак легкого, лимфома, рак желудка, меланома, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, рак пищеварительного/желудочно-кишечного тракта, колоректальный рак, мультиформная глиобластома, рак печени, рак головы и шеи, астма, рассеянный склероз, аллергия, слабоумие Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз или ревматоидный артрит. В некоторых вариантах реализации мезилат иматиниба (соединение A16) вводят в дозе от около 100 до 1000 мг, например от около 200 до 800 мг, от около 300 до около 700 мг или от около 400 до около 600 мг, например около 200, 300, 400, 500, 600 или 700 мг. График дозирования может варьировать, например, каждый день, ежедневно, два или три раза в день. В одном варианте реализации мезилат иматиниба вводят при пероральной дозе от около 100 до 600 мг в день, например около 100, 200, 260, 300, 400 или 600 мг в день.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая соединение ди-F-CDN, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором JAK, 2-фтор-N-метил-4-(7-(хиолин-6-илметил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамидом (соединение A17) или его дихлористоводородной солью или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2007/070514, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор JAK представляет собой 2-фтор-N-метил-4-(7-(хиолин-6-илметил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамид (соединение A17) или его дихлористоводородную соль или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2007/070514. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с 2-фтор-N-метил-4-(7-(хиолин-6-илметил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамидом (соединение A17) или его дихлористоводородной солью или соединением, раскрытым в РСТ публикации WO 2007/070514, для лечения расстройства, такого как колоректальный рак, миелоидный лейкоз, гематологический рак, аутоиммунное заболевание, неходжкинская лимфома или тромбоцитемия. В одном варианте реализации ингибитор JAK или 2-фтор-N-метил-4-(7-(хиолин-6-илметил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамид (соединение A17) или его дихлористоводородную соль вводят в дозе около 400-600 мг (например, в день), например, около 400, 500 или 600 мг или около 400-500 или 500-600 мг.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соеди-

нение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором JAK, фосфат руксолитинибом (также известным как JAKAFI, соединение A18) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2007/070514 для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор JAK представляет собой фосфат руксолитиниб (соединение A18) или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2007/070514. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в сочетании с фосфат руксолитинибом (соединение A18) или соединением, раскрытым в РСТ публикации WO 2007/070514, для лечения расстройства, такого как рак предстательной железы, лимфоцитарный лейкоз, множественная миелома, лимфома, рак легких, лейкемия, кахексия, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, ревматоидный артрит, псориаз, колоректальный рак, миелоидный лейкоз, гематологический рак, аутоиммунное заболевание, неходжкинской лимфомы или тромбоцитемии. В одном варианте реализации ингибитор JAK или фосфат руксолитиниб (соединение A18) вводят в дозе около 15-25 мг, например, два раза в день. В некоторых вариантах реализации доза составляет около 15, 20 или 25 мг или около 15-20 или 20-25 мг.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором гистондеацетилазы (HDAC). В некоторых вариантах реализации ингибитор HDAC выбирают из группы, состоящей из панобиностата, вориностата, ромадипсина, хидамида, вальпроевой кислоты, белиностата, пироксамида, моцитиностата, абэксиностата, энтиностата, праиностата, ресминостата, гивиностата, квизиностата, риколностата, CUDC-101, AR-42, CHR-2845, CHR-3996, 4SC-202 и CG200745. В некоторых вариантах реализации комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором гистондеацетилазы (HDAC), панобиностатом (соединение A19) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2014/072493, для лечения расстройства, например, расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор HDAC представляет собой панобиностат (соединение A19) или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2014/072493. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с панобиностатом (соединение A19), соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2014/072493, для лечения расстройства, такого как мелкоклеточный рак легкого, респираторный/грудной рак, рак предстательной железы, множественная миелома, миелодиспластический синдром, рак кости, немелкоклеточный рак легкого, эндокринный рак, лимфома, неврологический рак, лейкемия, ВИЧ/СПИД, нарушение иммунитета, отторжение трансплантата, рак желудка, меланома, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, колоректальный рак, множественная форма глиобластомы, миелоидный лейкоз, гематологический рак, рак почки, неходжкинская лимфома, рак головы и шеи, расстройства кроветворения или рак печени. В одном варианте реализации ингибитор HDAC или панобиностат (соединение A19) вводят в дозе около 20 мг (например, в день).

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором одного или нескольких из цитохрома P450 (например, 11B2), альдостерона или ангиогенеза, озилдростата (соединение A20) или соединения, раскрытого в РСТ публикации № WO 2007/024945, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор одного или более цитохрома P450 (например, 11B2), альдостерона или ангиогенеза представляет собой озилдростат (соединение A20) или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2007/024945. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с озилдростатом (соединение A20) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2007/024945, для лечения расстройства, такого как синдром Кушинга, гипертония или терапия сердечной недостаточности.

В другом варианте реализации комбинация, например, комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором IAP, (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамидом (соединение A21) или соединением, раскрытым в патенте США 8552003, для лечения расстройства, например, расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте ингибитор IAP представляет собой (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамид (соединение A21) или соединение, раскрытое в патенте США 8552003. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамидом (соединение A21) или соединением, раскрытым в патенте США 8552003, для лечения расстройства, такого как множественная миелома, рак молочной железы, рак яичников, рак поджелудочной железы или расстройство гемопоэза. В одном варианте реализации ингибитор IAP или (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамид (соединение A21) или соединение, раскрытое в патенте США 8552003, вводят в дозе около 1800 мг, например, один раз в неделю.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации ингибитора Smoothened (SMO), фосфата Sonidegib (соединение A22), (R)-2-(5-(4-(6-бензил-4,5-диметилпиридазин-3-ил)-2-метилпипе-

разин-1-ил)пиразин-2-ил)пропан-2-ола (соединение A25) или соединения, раскрытого в публикации РСТ № WO 2007/131201 или WO 2010/007120, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор SMO представляет собой фосфат Sonidegib (соединение A22), (R)-2-(5-(4-(6-бензил-4,5-диметилпиридазин-3-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)пиразин-2-ил)пропан-2-ол (соединение A25) или соединения, раскрытого в публикации РСТ № WO 2007/131201 или WO 2010/007120. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в сочетании с фосфатом Sonidegib (соединение A22), (R)-2-(5-(4-(6-бензил-4,5-диметилпиридазин-3-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)пиразин-2-ил)пропан-2-ола (соединение A25) или соединения, раскрытого в РСТ публикации № WO 2007/131201 или WO 2010/007120 для лечения расстройства таких как рак, медуллобластома, мелкоклеточный рак легкого, рак предстательной железы, карцинома базальных клеток, рак поджелудочной железы или воспаление. В некоторых вариантах реализации фосфат Sonidegib (соединение A22) вводят в дозе около от 20 до 500 мг, например от около 40 до 400 мг, от около 50 до около 300 мг или от около 100 до около 200 мг, например около 50, 100, 150, 200, 250 или 300 мг. График дозирования может варьировать, например каждый день, ежедневно, два или три раза в день.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором Alk, церитинибом (также известным как ZYKADIA; соединение A23) или соединения, раскрытого в РСТ публикации № WO 2007/131201, для лечения расстройства, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор Alk представляет собой церитиниб (соединение A23) или соединения, раскрытого в РСТ публикации № WO 2007/131201. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с церитинибом (соединение A23) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2007/131201, для лечения расстройства, такого как немелкоклеточный рак легкого или солидные опухоли. В одном варианте реализации ингибитор Alk или церитиниб (соединение A23) вводят в дозе около 750 мг, например один раз в день.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая соединения ди-F-CDN, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором JAK и/или CDK4/6, 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-(пиперазин-1-ил)пиримидин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамином (соединение A24) или соединением, раскрытым в патенте США 8415355 или патенте США 8685980 для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте ингибитор JAK и/или CDK4/6 представляет собой 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-(пиперазин-1-ил)пиримидин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамином (соединение A24) или соединения, раскрытого в патенте США № 8415355 или патенте США 8685980. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-(пиперазин-1-ил)пиримидин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамином (соединение A24) или соединением, раскрытым в патенте США 8415355 или в патенте США 8685980, для лечения расстройства, такого как лимфома, неврологический рак, меланома, рака молочной железы или солидная опухоль. В одном варианте реализации ингибитор JAK и/или CDK4/6 или 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-(пиперазин-1-ил)пиримидин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамида (соединение A24) вводят в дозе около 200-600 мг, например, в день. В одном варианте реализации соединения вводят в дозе около 200, 300, 400, 500 или 600 мг или около 200-300, 300-400, 400-500 или 500-600 мг.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединения, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором РШ-киназы, N-(4-((1R,3S,5S)-3-амино-5-метилциклогексил)пиримидин-3-ил)-6-(2,6-дифторфенил)-5-фторпиколинамидом (соединение A27) или соединением, раскрытым в публикации РСТ № WO 2010/026124, для лечения например, расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор РШ-киназы представляет собой N-(4-((1R,3S,5S)-3-амино-5-метилциклогексил)пиримидин-3-ил)-6-(2,6-дифторфенил)-5-фторпиколинамид (соединение A27) или соединения, раскрытого в публикации РСТ № WO 2010/026124. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с N-(4-((1R,3S,5S)-3-амино-5-метилциклогексил)пиримидин-3-ил)-6-(2,6-дифторфенил)-5-фторпиколинамидом (соединение A27) или соединением, раскрытым в публикации РСТ № WO 2010/026124, для лечения расстройства, такого как множественная миелома, миелодиспластический синдром, миелоидный лейкоз или неходжкинская лимфома.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединения, как описано в данном документе, используется в комбинации ингибитора сигналинга Wnt, 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиразин-2-ил)пиримидин-2-ил)ацетамида (соединение A28) или соединения, раскрытого в РСТ публикации № WO 2010/101849, для лечения, например, расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор сигналинга Wnt представляет собой 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиразин-2-ил)пиримидин-2-ил)ацетамид (соединение A28) или соединения, раскрытого в публикации РСТ № WO 2010/101849. В одном варианте реализации ингибитор сигналинга Wnt представляет собой 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиразин-2-ил)пиримидин-2-ил)ацетамид (соединение A28). В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с 2-(2',-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиразин-2-ил)пиримидин-2-ил)аце-

тамида (соединение A28) или соединения, раскрытого в публикации РСТ № WO 2010/101849, для лечения расстройства, такого как солидная опухоль (например, рак головы и шеи, плоскоклеточная карцинома, рак молочной железы, рак поджелудочной железы или рак толстой кишки). В некоторых вариантах реализации 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиразин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамид (соединение A28) вводят в дозе от около 1 до 50 мг, например, от 2 до 45 мг, от около 3 до около 40 мг, от около 5 до 35 мг, от 5 до 10 мг или от около 10 до 30 мг, например около 2, 5, 10, 20, 30 или 40 мг. График дозирования может варьировать, например, каждый день, ежедневно, два или три раза в день.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором BRAF, энкорафенибом (соединение A29) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2011/025927, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор BRAF представляет собой энкорафениб (соединение A29) или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2011/025927. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с энкорафенибом (соединение A29) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2011/025927, для лечения расстройства, такого как немелкоклеточный рак легкого, меланома или колоректальный рак. В одном варианте реализации ингибитор BRAF или энкорафениб (соединение A29) вводят в дозе около 200-300, 200-400 или 300-400 мг, например, в день. В одном варианте реализации соединение вводят в дозе около 200, около 300 или около 400 мг.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации ингибитора CDK4/6, 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-((1R,6S)-9-метил-4-оксо-3,9-диазабицикло[4.2.1]нонан-3-ил)пиридин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамида (соединение A30) или соединения, раскрытого в РСТ публикации № WO 2011/101409, для лечения расстройства, например, расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор CDK4/6 представляет собой 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-((1R,6S)-9-метил-4-оксо-3,9-диазабицикло[4.2.1]нонан-3-ил)пиридин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамида (соединение A30) или соединение, раскрытое в публикации РСТ № WO 2011/101409. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-((1R,6S)-9-метил-4-оксо-3,9-диазабицикло[4.2.1]нонан-3-ил)пиридин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамидом (соединение A30) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2011/101409, для лечения расстройства, такого как рак, лимфома мантийных клеток, липосаркома, немелкоклеточный рак легкого, меланома, плоскоклеточный рак пищевода или рак молочной железы.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором MEK, биниметинином (соединение A34) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2003/077914, для лечения расстройства, например, расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор MEK представляет собой биниминиб (соединение A34) или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2003/077914. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с биниметинином (соединение A34) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2003/077914, для лечения расстройства, такого как немелкоклеточный рак легкого, мультисистемное генетическое расстройство, меланома, рак яичников, рак пищеварительного/желудочно-кишечного тракта, ревматоидный артрит или колоректальный рак. В одном варианте реализации ингибитор MEK или биниметиниб (соединение A34) вводят в дозе около 45 мг, например, два раза в день.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором одного или нескольких с-KIT, высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC, мидостаурином (соединение A35) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2003/037347, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор представляет собой Мидостаурин (соединение A35) или соединение, раскрытое в публикации РСТ № WO 2003/037347. В одном варианте реализации ингибитор одного или нескольких с-KIT, высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC представляет собой Мидостаурин. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с Мидостаурином (соединение A35) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2003/037347, для лечения расстройства, такого как рак, колоректальный рак, миелоидный лейкоз, миелодиспластический синдром, возрастную сочетанную деградацию, диабетическое осложнение или дерматологическое расстройство.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором TOR (например, ингибитором mTOR), эверолимусом (также известный как AFINITOR; соединение A36) или соединением, раскрытое в РСТ публикации № WO 2014/085318, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе). В одном варианте ингибитор TOR представляет собой эверолимус (соединение A36) или соединением, раскрытое в РСТ публикации № WO 2014/085318. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с эверолимусом (соединение A36) для лечения

расстройства, такого как интерстициальное заболевание легких, мелкоклеточный рак легкого, респираторный/грудной рак, рак предстательной железы, множественная миелома, саркома, возрастная дегенерация желтого пятна, рак кости, клубневой склероз, немелкоклеточный рак легкого, эндокринный рак, лимфома, неврологические расстройства, астроцитомы, рак шейки матки, неврологический рак, лейкемия, иммунные расстройства, отторжения трансплантата, рак желудка, меланома, эпилепсия, рак молочной железы или рак мочевого пузыря. В одном варианте реализации ингибитор TOR или Эверолимус (соединение A36) вводят в дозе около 2,5-20 мг/день. В одном варианте реализации соединение вводят в дозе около 2,5, 5, 10 или 20 мг/день, например около 2,5-5, 5-10 или 10-20 мг/день.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации ингибитора одной или нескольких VEGFR-2, PDGFRbeta, KIT или Raf киназы C, 1-метил-5-((2-(5-(трифторметил)-1H-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил)фенил)-1H-бензо[d]имидазол-2-амин (соединение A37) или соединения, раскрытого в РСТ публикации № WO 2007/030377, для лечения расстройства, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор одной или более VEGFR-2, PDGFRbeta, KIT или Raf киназы C представляет собой 1-метил-5-((2-(5-(трифторметил)-1H-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил)фенил)-1H-бензо[d]имидазол-2-амин (соединение A37) или соединения, раскрытого в РСТ публикации № WO 2007/030377. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с 1-метил-5-((2-(5-(трифторметил)-1H-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил)фенил)-1H-бензо[d]имидазол-2-амин (соединение A37) или соединения, раскрытого в РСТ публикации WO 2007/030377, для лечения расстройства, такого как рак, меланома или солидная опухоль.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с агонистом соматостатина и/или ингибитором высвобождения гормона роста, диаспаратом пасиреотида (также известный как SIGNIFOR; соединение A38) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2002/010192 или в патенте США № 7473761, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном из вариантов реализации агонист соматостатина и/или ингибитор высвобождения гормона роста представляет собой диаспарат пасиреотида (соединение A38) или соединения, раскрытого в РСТ публикации № WO 2002/010192 или в патенте США № 7473761. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с диаспаратом пасиреотида (соединение A38) или соединением, раскрытым в РСТ публикации WO 2002/010192 или в патенте США № 7473761, для лечения расстройства, такого как рак предстательной железы, рак эндокринной системы, неврологический рак, рак кожи (например, меланома), рак поджелудочной железы, рак печени, синдром Кушинга, желудочно-кишечное расстройство, акромегалия, расстройство печени и желчных путей или цирроз печени.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации модулятор сигнальной трансдукции и/или ингибитор ангиогенеза, Довитиниб (соединение A39) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2009/115562, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации модулятор сигнальной трансдукции и/или ингибитор ангиогенеза представляет собой Довитиниб (соединение A39) или соединения, раскрытого в публикации РСТ № WO 2009/115562. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с Довитинибом (соединение A39) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2009/115562, для лечения расстройства, такого как рак, рак респираторной системы/торакальный рак, множественная миелома, рак предстательной железы, немелкоклеточный рак легкого, эндокринный рак или неврологическое генетическое расстройство.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая соединения ди-F-CDN, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором EGFR (R,E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамидом (соединение A40) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2013/184757, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор EGFR представляет собой (R,E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)но-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамид (соединение A40) или соединения, раскрытого в публикации РСТ № WO 2013/184757. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с (R,E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)но-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамида (соединение A40) или соединением, раскрытым в публикации РСТ № WO 2013/184757, для лечения расстройства, такого как рак, например, солидная опухоль. В одном варианте реализации ингибитор EGFR или (R,E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)но-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамида (соединение A40) вводят в дозе 150-250 мг, например, в день. В одном варианте реализации соединения вводят в дозе около 150, 200 или 250 мг или около 150-200 или 200-250 мг.

В другом варианте реализации комбинация, например, комбинация, содержащая ди-F-CDN соединения, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором ALK, N⁶-(2-

изопропокси-5-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(2-(изопропилсульфонил)фенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4,6-диамина (соединение A42) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2008/073687, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте ингибитор ALK представляет собой N⁶-(2-изопропокси-5-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(2-(изопропилсульфонил)фенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4,6-диамин (соединение A42) или соединение, раскрытое в публикации РСТ № WO 2008/073687. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с N⁶-(2-изопропокси-5-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(2-(изопропилсульфонил)фенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4,6-диамином (соединение A42) или соединением, раскрытым в публикации РСТ № WO 2008/073687, для лечения расстройства, такого как рак, анапластическая крупноклеточная лимфома (ALCL), немелкоклеточная карцинома легкого (HMPJL) или нейробластома.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором IGF-1R, 3-(4-(4-((5-хлор)-4-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)амино)-5-фтор-2-метилфенил)пиперидин-1-ил)тиетан 1,1-диоксид (соединение A43), 5-хлор-N²-(2-фтор-5-метил-4-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)пиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамин (соединение A44) или 5-хлор-N²-(4-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-фтор-5-метилфенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамином (соединение A45) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2010/002655, для лечения расстройства, например описанного расстройства. В одном из вариантов ингибитор ИФР-1R представляет собой 3-(4-(4-((5-хлор)-4-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)амино)-5-фтор-2-метилфенил)пиперидин-1-ил)тиетан 1,1-диоксид (соединение A43), 5-хлор-N²-(2-фтор-5-метил-4-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)пиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамин (соединение A44), 5-хлор-N²-(4-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-фтор-5-метилфенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамин (соединение A45), или соединение, раскрытое в публикации РСТ № WO 2010/002655. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с 3-(4-(4-((5-хлор)-4-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)амино)-5-фтор-2-метилфенил)пиперидин-1-ил)тиетана 1,1-диоксид (соединение A43), 5-хлор-N²-(2-фтор-5-метил-4-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)пиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамина (соединение A44), 5-хлор-N²-(4-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-фтор-5-метилфенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамином (соединение A45) или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2010/002655, для лечения расстройства, такого как рак или саркома.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации ингибитор Р-гликопротеина 1, вальсподар (также известный как AMDRAY, соединение A46) или соединение, раскрытое в EP 296122, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор Р-гликопротеина 1 представляет собой вальсподар (соединение A46) или соединение, раскрытое в EP 296122. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с вальсподаром (соединение A46) или соединением, раскрытым в EP 296122, для лечения расстройства, такого как рак или лекарственно-устойчивая опухоль.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации одного или нескольких ингибиторов VEGFR, сукцината ваталаниба (соединение A47) или соединения, раскрытого в WO 98/35958, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитором VEGFR является сукцинат ваталаниб (соединение A47) или соединение, раскрытое в WO 98/35958. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с сукцинатом ваталаниба (соединение A47) или соединением, описанным в EP 296122, для лечения рака.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором IDH или соединением, раскрытым в WO 2014/141104, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор IDH представляет собой соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2014/141104. В одном варианте реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с соединением, описанным в WO 2014/141104, для лечения расстройства, такого как рак.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соединение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором BCL-ABL или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2013/171639, WO 2013/171640, WO 2013/171641 или WO 2013/171642, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном из вариантов реализации ингибитор BCL-ABL представляет собой соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2013/171639, WO 2013/171640, WO 2013/171641 или WO 2013/171642. В одном из вариантов реализации соединения ди-F-CDN используют в комбинации с соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2013/171639, WO 2013/171640, WO 2013/171641 или WO 2013/171642, для лечения расстройства, такого как рак.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая ди-F-CDN соеди-

нение, как описано в данном документе, используется в комбинации с ингибитором с RAF или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2014/151616, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации ингибитор с-RAF представляет собой соединение A50 или соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2014/151616. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2014/151616 для лечения расстройства, такого как рак.

В другом варианте реализации комбинация, например комбинация, содержащая соединение ди-F-CDN, как описано в данном документе, используется в комбинации с конкурентным ингибитором АТФ ERK1/2 или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2015/066188, для лечения расстройства, например расстройства, описанного в данном документе. В одном варианте реализации конкурентный ингибитор АТФ ERK1/2 представляет собой соединение, раскрытое в РСТ публикации № WO 2015/066188. В одном варианте реализации соединение ди-F-CDN используют в комбинации с соединением A51 или соединением, раскрытым в РСТ публикации № WO 2015/066188, для лечения расстройства, такого как рак. В некоторых вариантах реализации комбинация, например, комбинация, содержащая описанное в данном документе соединение ди-F-CDN, и соединение A51 или соединение, раскрытое в РСТ публикации WO 2015/066188, вводят в комбинации с одним или несколькими агентами, выбранными из соединения A8, соединения A17, соединения A23, соединения A24, соединения A27, соединения A29 и соединения A33.

В некоторых вариантах реализации комбинацию, например комбинацию, содержащую соединение ди-F-CDN, как описано в данном документе, вводят в комбинации с противораковым средством, имеющим известную активность в анализе иммунной клетки, например в одном или нескольких из анализа huMLR, анализа пролиферации Т-клеток и анализа пролиферации В-клеток, где такие анализы известны в данной области и могут быть использованы для демонстрации соединений, не будут ингибировать иммунный ответ (т.е. демонстрируют мало или никакого ингибирования в таких анализах). IC_{50} в таких анализах может быть определен для соединений, которые будут использоваться в комбинации с ди-F-CDN соединением. В вариантах реализации противораковый агент имеет IC_{50} , например, > 1 мкМ, 1-4 мкМ или более 4 мкМ, например, 4-10 или 4-20 мкМ или более 20 мкМ. В вариантах реализации второй терапевтический агент выбирают из одного или нескольких из: соединения A9, соединения A16, соединения A17, соединения A21, соединения A22, соединения A25, соединения A28, соединения A4 8 и соединения A49.

В некоторых вариантах реализации соединение A28 (или соединение, связанное с соединением A28) вводят в дозе около 5-10 или 10-30 мг. В некоторых вариантах реализации соединение A22 (или соединение, связанное с соединением A22) вводят в дозе около 200 мг. В некоторых вариантах реализации соединение A17 (или соединение, связанное с соединением A17) вводят в дозе около 400-600 мг. В некоторых вариантах реализации соединение A16 (или соединение, связанное с соединением A16) вводят в дозе около 400-600 мг PO qDay. В некоторых вариантах реализации соединение A29 (или соединение, связанное с соединением A29) вводят в дозе около 200-400 или 300-400 мг. В некоторых вариантах реализации соединение A24 (или соединение, связанное с соединением A24) вводят в дозе около 200-600 мг. В некоторых вариантах реализации соединение A23 (церитиниб) (или соединение, связанное с церитинибом) вводят в дозе около 750 мг один раз в день. В некоторых вариантах реализации соединение A8 (или соединение, связанное с соединением A8) вводят в дозе около 200-400 или 300-400 мг. В некоторых вариантах реализации соединение A5 (или соединение, связанное с соединением A5) вводят в дозе около 100-125 мг. В некоторых вариантах реализации соединение A6 (или соединение, связанное с соединением A6) вводят в дозе около 100 мг. В некоторых вариантах реализации соединение A1 (или соединение, связанное с соединением A1) вводят в дозе около 200-300 или 200-600 мг. В некоторых вариантах реализации соединение A40 (или соединение, связанное с соединением A40) вводят в дозе около 150-250 мг. В вариантах реализации соединение A10 (или соединение, связанное с соединением A10) вводят в дозе около от 400 до 700 мг, например, вводят три раза в неделю, 2 недели и одну неделю. В вариантах реализации ингибитор BCR-ABL вводят в дозе около 20 мг bid-80 мг bid.

Таблица 2. Терапевтические агенты, которые можно вводить в комбинации с ди-F-CDN-соединением, как описано в данном документе

Обозначение

соединения/

Название

дженерика

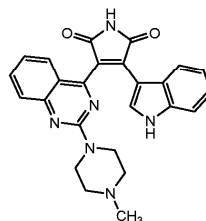
Патент/Ссылка

Структура соединения

A1

Сотростаурин

EP 1682103 US
2007/142401 WO
2005/039549



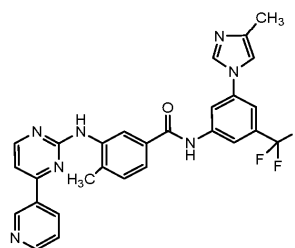
A2

Моногидрат

нилотиниба

HCl TASIGNA®

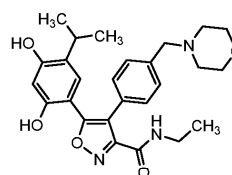
WO 2004/005281 US
7169791



HCl • H₂O

A3

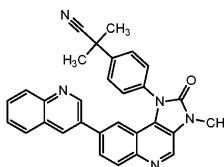
WO 2010/060937 WO
2004/072051 EP
1611112 US 8450310



A4

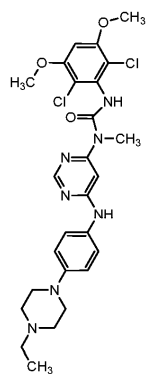
Дактолисиб

WO 2006/122806



A5

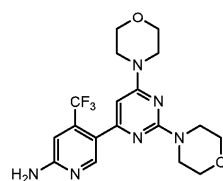
US 8552002



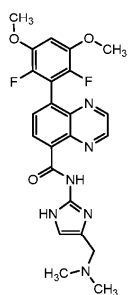
A6

Бупарлисиб

WO 2007/084786

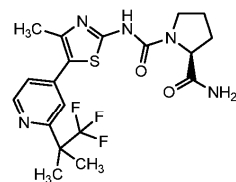


A7

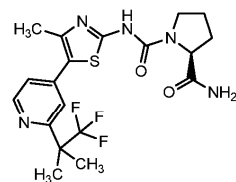
WO 2009/141386 US
2010/0105667

A8

WO 2010/029082

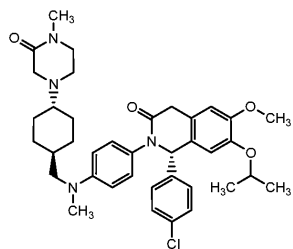


A9

Ингибитор
CYP17WO 2010/149755 US
8263635 B2 EP
2445903 B1

A10

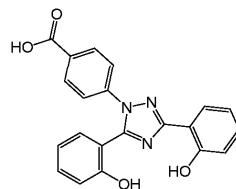
WO 2011/076786



A11

деферазирокс
EXJADE®

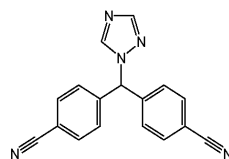
WO 1997/049395



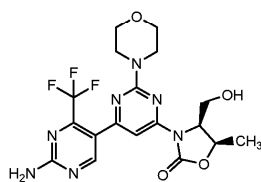
A12

летрозол
FEMARA®

US 4 978 672

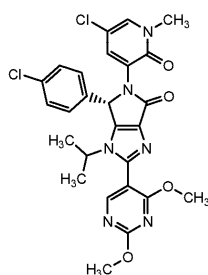


A13

WO 2013/124826 US
2013/0225574

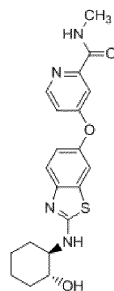
A14

WO 2013/111105



A15

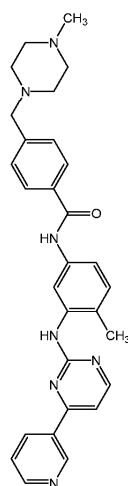
WO 2005/073224



A16

Иматиниб
мезилат
GLEEVEC®

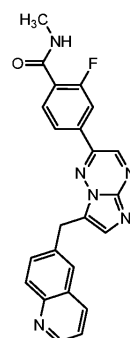
WO 1999/003854



мезилат

A17

EP 2099447 US
7767675 US 8420645



дихлористоводородная соль

A18

Фосфат

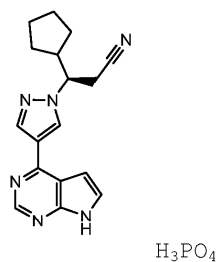
руксолитиниб

JAKAFI®

WO 2007/070514 EP

2474545 US 7 598

257 WO 2014/018632



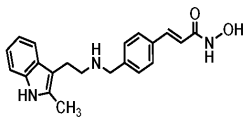
A19

панобиноостат

WO 2014/072493 WO

2002/022577 EP

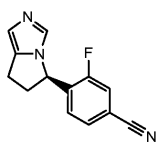
1870399



A20

озилодростат

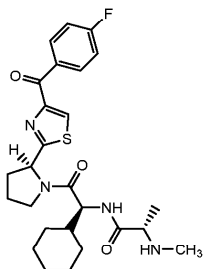
WO 2007/024945



A21

WO 2008/016893 EP

2051990 US 8546336



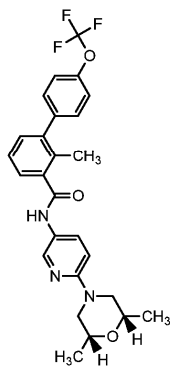
A22

Фосфат

Sonidegib

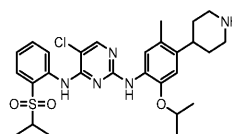
WO 2007/131201 EP

2021328 US 8178563



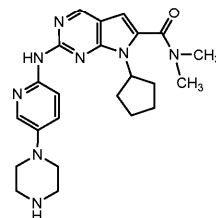
A23
церитиниб
ZYKADIA™

WO 2008/073687 US
8 039 479



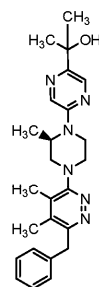
A24

US 8415355 US
8685980



A25

WO 2010/007120



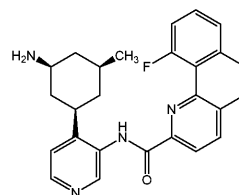
A26

US 7 867 493

Моноклональное антитело
человека к PRLR

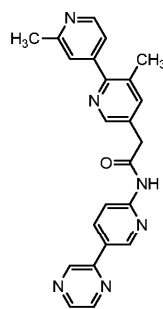
A27

WO 2010/026124 EP
2344474 US
2010/0056576
WO2008/106692



A28

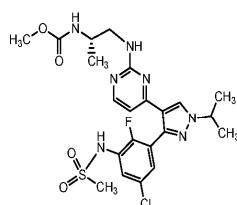
WO 2010/101849



A29

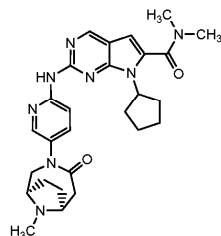
энкорафениб

WO 2011/025927



A30

WO 2011/101409



A31

WO 2012/022814

EP 2606070

US 8 735 551

WO 2014/160160

антитело: 12425

(см. Таблицу 1, параграф [00191]).

A32

Линкер: SMCC (см. Конъюгат лекарственного

Параграф [00117] средства для антител (АЦП)

Полезная нагрузка:

DM1 (см. Параграф

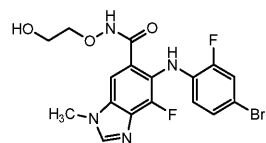
[00111] См. Также

п. 29

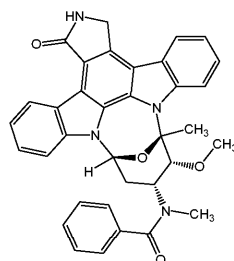
Моноклональное антитело человека к HER3

А33 WO 2004/045532 Моноклональное антитело или Fab фрагмент к M-CSF.

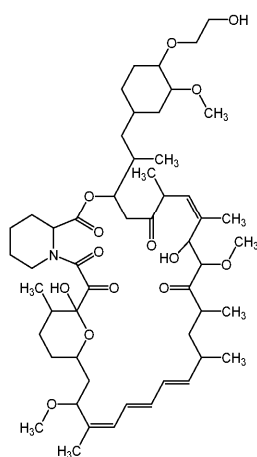
А34 WO 2003/077914
биниметиниб



А35 WO 2003/037347
Мидостаурин EP 1441737
US 2012/252785

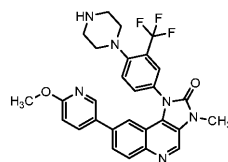


А36 WO 2014/085318
Эверолимус AFINITOR®

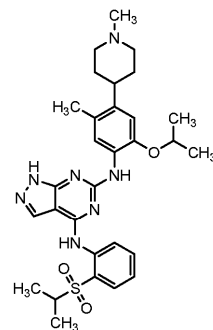


A41

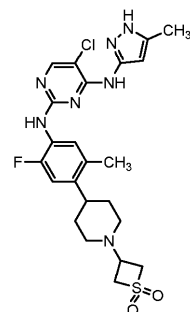
WO 2006/122806



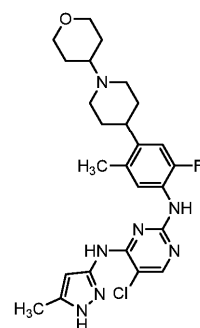
A42

WO 2008/073687 US
8372858

A43

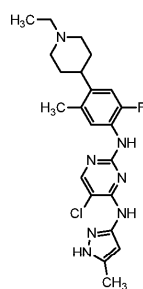
WO 2010/002655 US
8 519 129

A44

WO 2010/002655
US 8 519 129

A45

WO 2010/002655

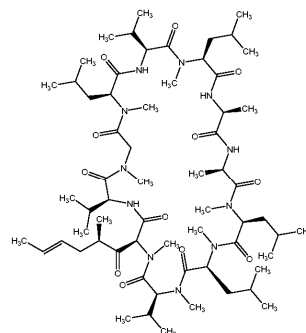


A46

вальсподар

EP 296122

AMDRAY™

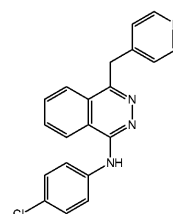


A47

сукцинат

WO 98/35958

ваталаниб



сукцинат

A48

WO2014/141104

Ингибитор IDH

WO2013/171639

A49

WO2013/171640

Ингибитор BCR-ABL

WO2013/171641

WO2013/171642

A50

WO2014/151616

Ингибитор cRAF

A51

WO2015/066188

конкурентный ингибитор
ERK1/2 ATP

Иммуномодулирующие клеточные линии.

Под "инактивированной опухолевой клеткой" подразумевается опухолевая клетка (либо "аутологичная", либо "аллогенная" по отношению к пациенту), которого лечили, чтобы предотвратить деление клеток. Для целей данного изобретения такие клетки сохраняют свою иммуногенность и метаболическую активность. Такие опухолевые клетки генетически модифицированы для экспрессии трансгена, который экспрессируется у пациента как часть терапии рака. Таким образом, композиция или вакцина по изобретению включает неопластические (например, опухолевые) клетки, которые являются аутологичными или аллогенными для пациента, проходящего курс лечения, и наиболее предпочтительно представляют собой один и тот же общий тип опухолевой клетки, который поражает пациента. Например, пациенту, страдающему от меланомы, обычно назначают генетически модифицированную клетку, полученную из меланомы. Способы инактивации опухолевых клеток для использования в данном изобретении, такие как использование облучения, хорошо известны в данной области.

В некоторых вариантах реализации инактивированные опухолевые клетки по данному изобретению модифицированы для экспрессии и секреции одного или нескольких белков теплового шока. Например, слитые белки gp96-Ig могут экспрессироваться и секретироваться, чтобы стимулировать иммунный ответ (Yamazaki et al., The Journal of Immunology, 1999, 163: 5178-5182; Strbo et al., Immunol Res. 2013 Dec; 57 (1-3):311-25). В некоторых вариантах реализации инактивированные опухолевые клетки модифицируют для экспрессии и секреции слитого белка gp96-Ig.

Инактивированные опухолевые клетки по данному изобретению вводят пациенту вместе с одной или несколькими костимулирующими молекулами или агентами. Предпочтительный костимулирующий агент включает один или несколько цитокинов, которые стимулируют индукцию дендритных клеток,

рекрутирование и/или созревание. Методы оценки таких костимулирующих агентов хорошо известны в литературе. Индукцию и созревание DC обычно оценивают путем повышенной экспрессии некоторых мембранных молекул, таких как CD80 и CD86, и/или секреции провоспалительных цитокинов, таких как интерфероны IL-12 и I типа после стимуляции.

В предпочтительных вариантах реализации сами инактивированные опухолевые клетки модифицируют для экспрессии и секреции одного или нескольких цитокинов, которые стимулируют индукцию дендритных клеток, рекрутирование и/или созревание. Данное изобретение описано в типичных терминах в отношении использования GM-CSF. Таким образом, в качестве примера, опухолевая клетка может экспрессировать трансген, кодирующий GM-CSF, как описано в патенте США № 5637483, 5904920, 6277368 и 6350445, так же как и в патентной публикации № 20100150946. Форма GM-CSF-экспрессирующих генетически модифицированных раковых клеток или "цитокин-экспрессирующих клеточных вакцин" для лечения рака поджелудочной железы описана в патенте США № 6033674 и 5985290.

Другие подходящие цитокины, которые могут быть экспрессированы такими инактивированными опухолевыми клетками и/или клетками с неканоническим фенотипом вместо или вместе с GM-CSF, включают, но не ограничиваются ими, один или несколько лигандов CD40, FLT-3, IL-12, CCL3, CCL20 и CCL21. Этот список не предназначен для ограничения.

Хотя предпочтительно, чтобы инактивированные опухолевые клетки, вводимые субъекту, экспрессировали один или несколько цитокинов, представляющих интерес, линия опухолевых клеток может сопровождаться инактивированной пробойной клеточной линией, которая экспрессирует и секретирует один или более цитокинов, которые стимулируют индукцию дендритных клеток, рекрутирование и/или созревание. Линия клеток с неканоническим фенотипом может обеспечивать все цитокины, которые стимулируют индукцию дендритных клеток, рекрутирование и/или созревание, или могут дополнять цитокины, которые стимулируют индукцию дендритных клеток, рекрутирование и/или созревание, экспрессируемую и секретируемую инактивированными опухолевыми клетками. В качестве примера, иммуномодулирующие цитокины, экспрессирующие перспективные клеточные линии, раскрыты в патенте США № 6464973 и 8012469, Dessureault et al., Ann. Surg. Oncol. 14: 869-84, 2007, and Eager and Nemunaitis, Mol. Ther. 12: 18-27, 2005.

Термин "гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF)" означает цитокин или его фрагмент, обладающий иммуномодулирующей активностью и имеющий по меньшей мере примерно 85% идентичности аминокислотной последовательности с номером доступа GenBank AAA52122.1.

Вакцины.

В некоторых вариантах реализации композиции CDN вводят в сочетании с одной или несколькими вакцинами, предназначенными для стимуляции иммунного ответа на один или несколько заранее определенных антигенов. Примеры целевых антигенов, которые могут найти применение в изобретении, перечислены в следующей таблице. Целевой антиген может также представлять собой фрагмент или слитый полипептид, содержащий иммунологически активную часть антигенов, перечисленных в таблице. Этот список не предназначен для ограничения.

Таблица 1. Антигены

Антиген	Ссылка
Опухолевые антигены	
Мезотелин	Номер доступа GenBank NM_005823; U40434; NM_013404; BC003512 (см. также, например, Hassan, et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:3937-3942; Muminova, et al. (2004) BMC Cancer 4:19; Iacobuzio-Donahue, et al. (2003) Cancer Res. 63:8614-8622).
Опухоль Вильмса 1 ассоциированный белок (Wt 1), включая изоформу А; изоформу В; изоформу С; изоформу D.	WT 1 изоформа А (номера доступа GenBank NM_000378; NP_000369). WT 1 В (номера доступа GenBank NM_024424; NP_077742). WT 1 С (номера доступа GenBank NM_024425; NP_077743). WT 1 D (номера доступа GenBank NM_024426; NP_077744).
Химотриптический рогового слоя эпидермиса (SCCE) и его варианты.	Номер доступа GenBank NM_005046; NM_139277; AF332583. См. также, например, Bondurant, et al. (2005) Clin. Cancer Res. 11:3446-3454; Santin, et al. (2004) Gynecol. Oncol. 94:283-288; Shigemasa, et al. (2001) Int. J. Gynecol. Cancer 11:454-461; Sepehr, et al. (2001) Oncogene 20:7368-7374.
Связанный с цепью МНС класса I белок А (MICA); связанный с цепью МНС	См., например, Groh, et al. (2005) Proc. Natl. Acad. Sci. США 102:6461-6466; номера доступа GenBank

класса I белок B (MICB).	NM_000247; BC_016929; AY750850; NM_005931.
Гастрин и пептиды, полученные из гастрина; гастрин/ССК-2 (также известного как ССК В).	Harris, et al. (2004) Cancer Res. 64:5624-5631; Gilliam, et al. (2004) Eur. J. Surg. Oncol. 30:536-543; Laheru and Jaffee (2005) Nature Reviews Cancer 5:459-467.
Глипикан 3 (антиген, например, гепатоцеллюлярной карциномы и меланомы).	Номер доступа GenBank NM_004484 . Nakatsura, et al. (2003) Biochem. Biophys. Res. Commun. 306:16-25; Capurro, et al. (2003) Gastroenterol. 125:89-97; Nakatsura, et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:6612-6621).
Коактозин подобный белок.	Nakatsura, et al. (2002) Eur. J. Immunol. 32:826-836; Laheru and Jaffee (2005) Nature Reviews Cancer 5:459-467.
Prostate stem cell antigen (PSCA).	Номер доступа GenBank AF043498 ; AR026974 ; AR302232 (см. также, например, Argani, et al. (2001) Cancer Res. 61:4320-4324; Christiansen, et al. (2003) Prostate 55:9 19; Fuessel, et al. (2003) 23:221-228).
Простатическая кислая фосфатаза (PAP); предстательной железы специфический антиген (PSA); PSM; PSMA.	Small, et al. (2000) J. Clin. Oncol. 18:3894-3903; Altwein and Luboldt (1999) Urol. Int. 63:62-71; Chan, et al. (1999) Prostate 41:99-109; Ito, et al. (2005) Cancer 103:242-250;

	Schmittgen, <i>et al.</i> (2003) <i>Int. J. Cancer</i> 107:323-329; Millon, <i>et al.</i> (1999) <i>Eur. Urol.</i> 36:278-285.
Шесть трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы (STEAP).	См., напр., Machlenkin, <i>et al.</i> (2005) <i>Cancer Res.</i> 65:6435-6442; номер доступа GenBank NM_018234; NM_001008410; NM_182915; NM_024636; NM_012449; BC011802.
Опухолевый антиген карциномы простаты 1 (PSTA 1).	См., напр., Machlenkin, <i>et al.</i> (2005) <i>Cancer Res.</i> 65:6435-6442; номер доступа GenBank L78132.
Ген, индуцирующий рак простаты 1 (PTI-1).	См., напр., Machlenkin, <i>et al.</i> (2005) <i>Cancer Res.</i> 65:6435-6442).
Специфический ген предстательной железы с гомологией к G-белок связанному рецептору.	См., напр., Machlenkin, <i>et al.</i> (2005) <i>Cancer Res.</i> 65:6435-6442).
Простаза (антигенная регуляторная сериновая протеаза).	См., напр., Machlenkin, <i>et al.</i> (2005) <i>Cancer Res.</i> 65:6435-6442; номер доступа GenBank BC096178; BC096176; BC096175.
Протеиназа 3.	Номер доступа GenBank X55668.
Антигены рака яичек, например, NY-ESO-1; SCP-1; SSX-1; SSX 2; SSX-4; GAGE, CT7; CT8; CT10; MAGE 1; MAGE 2; MAGE 3; MAGE 4; MAGE 6; LAGE 1.	Номер доступа GenBank NM_001327 (NY-ESO-1) (см. также, например, Li, <i>et al.</i> (2005) <i>Clin. Cancer Res.</i> 11:1809-1814; Chen, <i>et al.</i> (2004) <i>Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.</i> 101(25):9363-9368; Kubuschok, <i>et al.</i> (2004) <i>Int. J. Cancer.</i> 109:568-575; Scanlan, <i>et al.</i> (2004) <i>Cancer Immun.</i> 4:1; Scanlan, <i>et al.</i> (2002) <i>Cancer Res.</i> 62:4041-4047; Scanlan, <i>et al.</i>

	(2000) Cancer Lett. 150:155-164; Dalerba, et al. (2001) Int. J. Cancer 93:85-90; Ries, et al. (2005) Int. J. Oncol. 26:817-824.
MAGE A1, MAGE A2; MAGE A3; MAGE A4; MAGE A6; MAGE A9; MAGE A10; MAGE A12; GAGE 3/6; NT SAR 35; BAGE; CA125.	Otte, et al. (2001) Cancer Res. 61:6682-6687; Lee, et al. (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100:2651-2656; Sarcevic, et al. (2003) Oncology 64:443-449; Lin, et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:5708-5716.
GAGE 1; GAGE 2; GAGE 3; GAGE 4; GAGE 5; GAGE 6; GAGE 7; GAGE 8; GAGE 65; GAGE 11; GAGE 13; GAGE 7B.	De Backer, et al. (1999) Cancer Res. 59:3157-3165; Scarcella, et al. (1999) Clin. Cancer Res. 5:335-341.
HIP1R; LMNA; KIAA1416; Seb4D; KNSL6; TRIP4; MBD2; HCAC5; MAGEA3.	Scanlan, et al. (2002) Cancer Res. 62:4041-4047.
Семейство генов DAM, например, DAM 1; DAM 6.	Fleishhauer, et al. (1998) Cancer Res. 58:2969-2972.
RCAS1.	Enjoji, et al. (2004) Dig. Dis. Sci. 49:1654-1656.
RU2.	Van Den Eynde, et al. (1999) J. Exp. Med. 190:1793-1800.
CAMEL.	Slager, et al. (2004) J. Immunol. 172:5095-5102; Slager, et al. (2004) Cancer Gene Ther. 11:227-236.

Антигены, ассоциированные с раком толстой кишки, например, NY CO 8; NY CO 9; NY CO 13; NY CO 16; NY CO 20; NY CO 38; NY CO 45; NY CO 9/HDAC5; NY CO 41/MBD2; NY CO 42/TRIP4; NY CO 95/KIAA1416; KNSL6; seb4D.	Scanlan, et al. (2002) Cancer Res. 62:4041-4047.
N Ацетилглюкозаминилтрансф ераза V (GnT B).	Dosaka-Akita, et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:1773-1779.
Фактор елонгации 2 мутированный (ELF2M).	Renkvist, et al. (2001) Cancer Immunol Immunother. 50:3-15.
HOM MEL 40/SSX2	Neumann, et al. (2004) Int. J. Cancer 112:661-668; Scanlan, et al. (2000) Cancer Lett. 150:155-164.
BRDT.	Scanlan, et al. (2000) Cancer Lett. 150:155-164.
SAGE; HAGE.	Sasaki, et al. (2003) Eur. J. Surg. Oncol. 29:900-903.
RAGE.	См., например, Li, et al. (2004) Am. J. Pathol. 164:1389-1397; Shirasawa, et al. (2004) Genes to Cells 9:165- 174.
MUM 1 (меланома повсеместно мутированная); MUM 2; MUM 2 Arg-Gly мутация;	Gueguen, et al. (1998) J. Immunol. 160:6188-6194; Hirose, et al. (2005) Int. J. Hematol. 81:48-57; Baurain, et al. (2000) J. Immunol. 164:6057-

MUM 3.	6066; Chiari, <i>et al.</i> (1999) <i>Cancer Res.</i> 59:5785-5792.
LDLR/FUT слитый белок-антиген меланомы.	Wang, <i>et al.</i> (1999) <i>J. Exp. Med.</i> 189:1659-1667.
NY REN серии антигенов почечного рака.	Scanlan, <i>et al.</i> (2002) <i>Cancer Res.</i> 62:4041-4047; Scanlan, <i>et al.</i> (1999) <i>Cancer Res.</i> 83:456-464.
NY BR серии антигенов рака молочной железы, например, NY BR 62; NY-BR 75; NY BR 85; NY BR 62; NY BR 85.	Scanlan, <i>et al.</i> (2002) <i>Cancer Res.</i> 62:4041-4047; Scanlan, <i>et al.</i> (2001) <i>Cancer Immunity</i> 1:4.
BRCA 1; BRCA 2.	Stolier, <i>et al.</i> (2004) <i>Breast J.</i> 10:475-480; Nicoletto, <i>et al.</i> (2001) <i>Cancer Treat Rev.</i> 27:295-304.
DEK/CAN слитый белок.	Von Lindern, <i>et al.</i> (1992) <i>Mol. Cell. Biol.</i> 12:1687-1697.
Ras, например, ras дикого типа, ras с мутациями в кодоне 12, 13, 59 или 61, например мутации G12C; G12D; G12R; G12S; G12V; G13D; A59T; Q61H. K RAS; H RAS; N RAS.	Номера доступа GenBank P01112; P01116; M54969; M54968; P01111; P01112; K00654. См. также, например, номера доступа GenBank M26261; M34904; K01519; K01520; BC006499; NM_006270; NM_002890; NM_004985; NM_033360; NM_176795; NM_005343.
BRAF (изоформа RAF).	Tannapfel, <i>et al.</i> (2005) <i>Am. J. Clin. Pathol.</i> 123:256-2601; Tsao and Sober (2005) <i>Dermatol. Clin.</i> 23:323-333.

Меланомные антигены, включая HST 2 клеточные антигены меланомы.	Номер доступа GenBank NM_206956; NM_206955; NM_206954; NM_206953; NM_006115; NM_005367; NM_004988; AY148486; U10340; U10339; M77481. См., например, Suzuki, et al. (1999) J. Immunol. 163:2783-2791.
Сурвивин	Номер доступа GenBank AB028869; U75285 (см. также, например, Tsuruma, et al. (2004) J. Translational Med. 2:19 (11 pages); Pisarev, et al. (2003) Clin. Cancer Res. 9:6523-6533; Siegel, et al. (2003) Br. J. Haematol. 122:911-914; Andersen, et al. (2002) Histol. Histopathol. 17:669-675).
MDM 2	<u>NM_002392</u> ; <u>NM_006878</u> (см. также, например, Mayo, et al. (1997) Cancer Res. 57:5013-5016; Demidenko and Blagosklonny (2004) Cancer Res. 64:3653-3660).
Метил CpG связывающей белки (MeCP2, MBD2).	Muller, et al. (2003) Br. J. Cancer 89:1934-1939; Fang, et al. (2004) World J. Gastroenterol. 10:3394-3398.
NA88 A.	Moreau-Aubry, et al. (2000) J. Exp. Med. 191:1617-1624.
Гистондеацетилазы (HDAC), например, HDAC5.	Waltregny, et al. (2004) Eur. J. Histochem. 48:273-290; Scanlan, et al. (2002) Cancer Res. 62:4041-4047.
Циклофилин В (Сур В).	Tamura, et al. (2001) Jpn. J. Cancer Res. 92:762-767.

CA 15 3; CA 27.29.	Clinton, <i>et al.</i> (2003) Biomed. Sci. Instrum. 39:408-414.
Белки теплового шока Hsp70.	Faure, <i>et al.</i> (2004) Int. J. Cancer 108:863-870.
Семейство GAGE/PAGE, например., PAGE 1; PAGE 2; PAGE 3; PAGE 4; XAGE 1; XAGE-2; XAGE 3.	Brinkmann, <i>et al.</i> (1999) Cancer Res. 59:1445-1448.
MAGE A, B, C и D семейства. MAGE B5; MAGE B6; MAGE C2; MAGE C3; MAGE 3; MAGE 6.	Lucas, <i>et al.</i> (2000) Int. J. Cancer 87:55-60; Scanlan, <i>et al.</i> (2001) Cancer Immun. 1:4.
Кинесин 2; Модификационный фактор элемента TATA 1; опухолевый белок D53; NY	Scanlan, <i>et al.</i> (2001) Cancer Immun. 30:1-4.
Альфа фетопротеин (AFP)	Grimm, <i>et al.</i> (2000) Gastroenterol. 119:1104-1112.
SART1; SART2; SART3; ART4.	Kumamuru, <i>et al.</i> (2004) Int. J. Cancer 108:686-695; Sasatomi, <i>et al.</i> (2002) Cancer 94:1636-1641; Matsumoto, <i>et al.</i> (1998) Jpn. J. Cancer Res. 89:1292-1295; Tanaka, <i>et al.</i> (2000) Jpn. J. Cancer Res. 91:1177-1184.
Предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы (PRAME).	Matsushita, <i>et al.</i> (2003) Leuk. Lymphoma 44:439-444; Oberthuer, <i>et al.</i> (2004) Clin. Cancer Res. 10:4307-4313.
Карциноэмбриональный антиген (CEA), CAP1 6D энхансерный агонист пептид.	Номер доступа GenBank M29540 ; E03352; X98311; M17303 (см. также, например, Zaremba (1997) Cancer Res. 57:4570-4577; Sarobe, <i>et al.</i> (2004)

	Curr. Мишени противораковых лекарственных средств 4: 443-454; Tsang и др. (1997) Clin. Cancer Res. 3:2439-2449; Fong, et al. (2001) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:8809-8814).
HER 2/neu.	Disis, et al. (2004) J. Clin. Immunol. 24:571-578; Disis and Cheever (1997) Adv. Cancer Res. 71:343-371.
Cdk4; CDK6; p16 (INK4); Rb белок.	Ghazizadeh, et al. (2005) Respiration 72:68-73; Ericson, et al. (2003) Mol. Cancer Res. 1:654-664.
TEL; AML1; TEL/AML1.	Stams, et al. (2005) Clin. Cancer Res. 11:2974-2980.
Теломераза (TERT).	Nair, et al. (2000) Nat. Med. 6:1011-1017.
707 AP.	Takahashi, et al. (1997) Clin. Cancer Res. 3:1363-1370.
Аннексин, например, Аннексин II.	Zimmerman, et al. (2004) Virchows Arch. 445:368-374.
BCR/ABL; BCR/ABL p210; BCR/ABL p190; CML 66; CML 28.	Cobaldda, et al. (2000) Blood 95:1007-1013; Hakansson, et al. (2004) Leukemia 18:538-547; Schwartz, et al. (2003) Semin. Hematol. 40:87-96; Lim, et al. (1999) Int. J. Mol. Med. 4:665-667.
BCL2; BLC6; CD10 белок.	Iqbal, et al. (2004) Am. J. Pathol. 165:159-166.
CDC27 (this is a melanoma antigen).	Wang, et al. (1999) Science 284:1351-1354.

Белок спермы 17 (SP17); 14 3 3 дзета; MEMD; KIAA0471; TC21.	Arora, et al. (2005) Mol. Carcinog. 42:97-108.
Тирозиназа родственные белки 1 и 2 (TRP 1 и TRP 2).	Номер доступа GenBank NM_001922. (см. также, например, Bronte, et al. (2000) Cancer Res. 60:253-258).
Gp100/pmel 17.	Номера доступа GenBank <u>AH003567</u> ; <u>U31798</u> ; <u>U31799</u> ; <u>U31807</u> ; <u>U31799</u> (см. также, например, Bronte, et al. (2000) Cancer Res. 60:253-258).
TARP.	См., например, Clifton, et al. (2004) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:10166-10171; Virok, et al. (2005) Infection Immunity 73:1939- 1946.
Тирозиназа родственные белки 1 и 2 (TRP 1 и TRP 2).	Номер доступа GenBank NM_001922. (см. также, например, Bronte, et al. (2000) Cancer Res. 60:253-258).
Меланокортин 1 рецептор (MC1R); MAGE 3; gp100; тирозидаза; допахром таутомераза (ГТО 2); MART 1.	Salazar-Onfray, et al. (1997) Cancer Res. 57:4348-4355; Reynolds, et al. (1998) J. Immunol. 161:6970-6976; Chang, et al. (2002) Clin. Cancer Res. 8:1021-1032.
MUC-1; MUC 2.	См., например,, Davies, et al. (1994) Cancer Lett. 82:179-184; Gambus, et al. (1995) Int. J. Cancer 60:146-148; McCool, et al. (1999) Biochem. J. 341:593-600.
Spas 1.	U.S. Published Pat. Appl. No. 20020150588 of Allison, et al.
CASP 8; FLICE; MACH.	Mandruzzato, et al. (1997) J. Exp. Med. 186:785-793.

CEACAM6; CAP 1.	Duxbury, et al. (2004) Biochem. Biophys. Res. Commun. 317:837-843; Morse, et al. (1999) Clin. Cancer Res. 5:1331-1338.
HMGB1 (ДНК-связывающий белок и цитокин).	Brezniceanu, et al. (2003) FASEB J. 17:1295-1297.
ETV6/AML1.	Codrington, et al. (2000) Br. J. Haematol. 111:1071-1079.
Мутантные и дикие типы аденоматозных полипозных коли (APC); бета катенин; с met; p53; Е кадгерин; циклооксигеназа 2 (COX 2).	Clements, et al. (2003) Clin. Colorectal Cancer 3:113-120; Gulmann, et al. (2003) Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol. 11:230-237; Jungck, et al. (2004) Int. J. Colorectal. Dis. 19:438-445; Wang, et al. (2004) J. Surg. Res. 120:242-248; Abutaily, et al. (2003) J. Pathol. 201:355-362; Liang, et al. (2004) Br. J. Surg. 91:355-361; Shirakawa, et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:4342-4348.
Антиген, карциномы клеток почек, связанный с mAB G250.	Mulders, et al. (2003) Urol. Clin. North Am. 30:455-465; Steffens, et al. (1999) Anticancer Res. 19:1197-1200.
EphA2	См., например, патентную публикацию США № 2005/0281783 A1; номер доступа GenBank NM_004431 (человек); номер доступа GenBank NM_010139 (мышь); номер доступа GenBank AB038986 (курица, частична последовательность); номера доступа GenBank NP_004422, AAN37166, и AAA53375 (человек); номера доступа

	GenBank NP_034269 (мышь), AAN06954 (мышь), XP_345597 (крыса), и BAV63910 (курица).
EGFRvIII	См., например, WO/2012/068360
Антигены <i>Francisella tularensis</i>	
<i>Francisella tularensis</i> А и В.	Полный геном подвида Schu S4 (номер доступа GenBank AJ749949); подвида Schu 4 (номер доступа GenBank NC_006570). Белок наружной мембраны (43 кДа) Bevanger и др. (1988) J. Clin. Microbiol. 27:922-926; Porsch-Ozcurumez, et al. (2004) Clin. Diagnostic. Lab. Immunol. 11:1008-1015). Антигенные компоненты <i>F. tularensis</i> включают, например, 80 антигенов, включая шаперонины 10 кДа и 60 кДа (Havlasova et al. (2002) Proteomics 2: 857-86), нуклеозиддифосфатилканазу, изоцитратдегидрогеназу, РНК связывающий белок Hfq, шаперон ClpB (Havlasova, et al. (2005) Proteomics 5:2090-2103). См. также, например, Oyston and Quarry (2005) Antonie Van Leeuwenhoek 87:277-281; Isherwood, et al. (2005) Adv. Drug Deliv. Rev. 57:1403-1414; Biagini, et al. (2005) Anal. Bioanal. Chem. 382:1027-1034.
Малерийные антигены	
Белок спорозойта (CSP); SSP2; HEP17; Exp 1 ортологи, обнаруженные у <i>P. falciparum</i> ; и LSA 1.	См., например, Haddad, et al. (2004) Infection Immunity 72:1594-1602; Hoffman, et al. (1997) Vaccine 15:842-845; Oliveira Ferreira and

	Daniel Ribeiro (2001) Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 96:221-227. CSP (см., например, номер доступа GenBank AB121024). SSP2 (см., например, номер доступа GenBank AF249739). LSA 1 (см., например, номер доступа GenBank Z30319).
Поверхностный белок кольцевого- инфицированного эритроцита (RESA); поверхностный белок мерозоита 2 (MSP2); Spf66; поверхностный белок мерозоита 1 (MSP1); 195A; BVp42.	См., например, Stirnadel, et al. (2000) Int. J. Epidemiol. 29:579-586; Krzych, et al. (1995) J. Immunol. 155:4072-4077. Смотрите также, Good, et al. (2004) Immunol. Rev. 201:254-267; Good, et al. (2004) Ann. Rev. Immunol. 23:69-99. MSP2 (см., например, номер доступа GenBank X96399; X96397). MSP1 (см., например, номер доступа GenBank X03371). RESA (см., например, номер доступа GenBank X05181; X05182).
Apical membrane antigen 1 (AMA1).	См., например, Gupta, et al. (2005) Protein Expr. Purif. 41:186-198. AMA1 (см., например, номер доступа GenBank A`13; AJ494905; AJ490565).
Вирусы и вирусные антигены	
Гепатит А	Номера доступа GenBank, например, NC_001489; AY644670; X83302; K02990; M14707.
Гепатит В	Полный геном (см., например, номера доступа GenBank AB214516; NC_003977; AB205192; AB205191; AB205190; AJ748098; AB198079; AB198078; AB198076; AB074756).

Гепатит С	Полный геном (см., например, номера доступа GenBank NC_004102; AJ238800; AJ238799; AJ132997; AJ132996; AJ000009; D84263).
Гепатит D	Номера доступа GenBank, например, NC_001653; AB118847; AY261457.
Папилломавирус человека, включая все 200+ подтипов (классифицированных в 16 группах), таких как подтипы высокого риска 16, 18, 30, 31, 33, 45.	См., например, Trimble, et al. (2003) Vaccine 21:4036-4042; Kim, et al. (2004) Gene Ther. 11:1011-1018; Simon, et al. (2003) Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 109:219-223; Jung, et al. (2004) J. Microbiol. 42:255-266; Damasus-Awatai and Freeman-Wang (2003) Curr. Opin. Obstet. Gynecol. 15:473-477; Jansen and Shaw (2004) Annu. Rev. Med. 55:319-331; Roden and Wu (2003) Expert Rev. Vaccines 2:495-516; de Villiers, et al. (2004) Virology 324:17-24; Hussain and Paterson (2005) Cancer Immunol. Immunother. 54:577-586; Molijn, et al. (2005) J. Clin. Virol. 32 (Suppl. 1) S43-S51. Номера доступа GenBank AY686584; AY686583; AY686582; NC_006169; NC_006168; NC_006164; NC_001355; NC_001349; NC_005351; NC_001596).
Лимфотропный Т клеточный вирус человека (HTLV) I и II, включая подтипы типа HTLV I типа космополитный, центрально африканский и	См., например, Capdepon, et al. (2005) AIDS Res. Hum. Retrovirus 21:28-42; Bhigjee, et al. (1999) AIDS Res. Hum. Restrovirus 15:1229-1233; Vandamme, et al. (1998) J. Virol. 72:4327-4340; Vallejo, et al.

южно-малазийский и подтипы HTLV типа II Iia, Iib, Iic и Iid.	(1996) J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol. 13:384-391. HTLV типа I (см., например, номера доступа GenBank AY563954; AY563953. HTLV типа II (см., например, номера доступа GenBank L03561; Y13051; AF139382).
Coronaviridae, включая коронавирусы, такие как SARS-коронавирус (SARS-CoV) и торовирусы.	См., например, Brian and Baric (2005) Curr. Top. Microbiol. Immunol. 287:1-30; Gonzalez, et al. (2003) Arch. Virol. 148:2207-2235; Smits, et al. (2003) J. Virol. 77:9567-9577; Jamieson, et al. (1998) J. Infect. Dis. 178:1263-1269 (номера доступа GenBank AY348314; NC_004718; AY394850).
Вирус краснухи.	Номера доступа GenBank NC_001545; AF435866.
Вирус свинки, включая генотипы A, C, D, G, H и I.	См., например, Orvell, et al. (2002) J. Gen. Virol. 83:2489-2496. См., например, номера доступа GenBank AY681495; NC_002200; AY685921; AF201473.
Вирус Коксаки А, включающий серотипы 1, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22 и 24 (также известные как энтеровирус человека C; HEV C).	См., например, Brown, et al. (2003) J. Virol. 77:8973-8984. Номера доступа GenBank AY421768; AY790926; X67706.
Вирус Коксаки В, включая подтипы 1-6.	См., например, Ahn, et al. (2005) J. Med. Virol. 75:290-294; Patel, et al. (2004) J. Virol. Methods

	120:167-172; Rezig, et al. (2004) J. Med. Virol. 72:268-274. Номер доступа GenBank X05690.
Человеческие энтеровирусы, включая, например, человеческий энтеровирус А (HEV А, CAV2 - CAV8, CAV10, CAV12, CAV14, CAV16 и EV71), а также включая HEV В (CAV9, CBV1-CBV6, E1-E7, E9, E11-E21, E24- E27, E29-E33 и EV69 и E73), а также HEV.	См., например, Oberste, et al. (2004) J. Virol. 78:855-867. Энтеровирус человека А (номера доступа GenBank NC_001612); энтеровирус человека В (NC_001472); энтеровирус человека С (NC_001428); энтеровирус человека D (NC_001430). Симианский энтеровирус А (номер доступа GenBank NC_003988).
Полиовирусы, включая PV1, PV2 и PV3.	См., например, He, et al. (2003) J. Virol. 77:4827-4835; Nahsido, et al. (1999) Microbiol. Immunol. 43:73-77. Номер доступа GenBank AJ132961 (тип 1); AY278550 (тип 2); X04468 (тип 3).
Инфекционные энцефалитные вирусы, включая энцефалит лошадей, венесуэльский энцефалит лошадей (VEE) (включая подтипы IA, IB, IC, ID, IIIC, IIID), восточный энцефалит лошадей (EEE), западный энцефалит лошадей (WEE), энцефалит Сент-Луиса, энцефалит Долины Мюррей (австралийский),	См., например, Hoke (2005) Mil. Med. 170:92-105; Estrada Franco, et al. (2004) Emerg. Infect. Dis. 10:2113-2121; Das, et al. (2004) Antiviral Res. 64:85-92; Aguilar, et al. (2004) Emerg. Infect. Dis. 10:880-888; Weaver, et al. (2004) Arch. Virol. Suppl. 18:43-64; Weaver, et al. (2004) Annu. Rev. Entomol. 49:141-174. Восточный энцефалит лошадей (GenBank Acc No. No. NC_003899; AY722102); Западный энцефалит лошадей (NC_003908).

японский энцефалит и клещевой энцефалит.	
Человеческие герпесвирусы, включая цитомегаловирус (ЦМВ), Эпштейна-Барра (EBV), вирус герпеса человека 1 (HHV 1), HHV 2, HHV 3, HHV 4, HHV 5, HHV 6, HHV 7, HHV 8, вирус герпеса В, вирусы простого герпеса 1 и 2 (ВПГ 1, ВПГ 2) и вирус ветряной оспы (VZV).	См., например, Studahl, et al. (2000) Scand. J. Infect. Dis. 32:237-248; Padilla, et al. (2003) J. Med. Virol. 70 (Suppl. 1) S103-S110; Jainkittivong and Langlais (1998) Oral Surg. Oral Med. 85:399-403. GenBank Nos. NC_001806 (герпесвирус 1); NC_001798 (герпесвирус 2); X04370 и NC_001348 (герпесвирус 3); NC_001345 (герпесвирус 4); NC_001347 (герпесвирус 5); X83413 и NC_000898 (герпесвирус 6); NC_001716 (герпесвирус 7). Человеческие герпесвирусы типа 6 и 7 (HHV 6; HHV 7) раскрыты, например, Padilla, et al. (2003) J. Med. Virol. 70 (Suppl. 1) S103-S110. Вирус герпеса человека 8 (HHV 8), включая подтипы А Е, описаны, например, в Treurnicht и др. (2002) J. Med. Virol. 66:235-240.
ВИЧ 1, включая группу М (включая подтипы А-Ј) и группу О (включая любые различимые подтипы) (ВИЧ-2, включая подтипы А Е.	См., например, Smith, et al. (1998) J. Med. Virol. 56:264-268. См. также, например, номера доступа GenBank DQ054367; NC_001802; AY968312; DQ011180; DQ011179; DQ011178; DQ011177; AY588971; AY588970; AY781127; AY781126; AY970950; AY970949; AY970948; X61240; AJ006287; AJ508597; и

	AJ508596.
Вирус Эпштейна-Барра (EBV), включая подтипы А и В.	См., например, Peh, et al. (2002) Pathology 34:446-450. Штамм вируса Эпштейна-Барра В95-8 (номер доступа GenBank V01555).
Реовирус, включая серотипы и штаммы 1, 2 и 3, тип 1 Lang, тип 2 Jones и тип 3 Dearing.	См., например, Barthold, et al. (1993) Lab. Anim. Sci. 43:425-430; Roner, et al. (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:12362-12366; Kedl, et al. (1995) J. Virol. 69:552-559. Номер доступа GenBank K02739 (sigma 3 ген поверхностного белка).
Подтипы цитомегаловируса (CMV) включают подтипы I-VII CMV.	См., например, Chern, et al. (1998) J. Infect. Dis. 178:1149-1153; Vilas Boas, et al. (2003) J. Med. Virol. 71:404-407; Trincado, et al. (2000) J. Med. Virol. 61:481-487. Номер доступа GenBank X17403.
Риновиринс, включая все серотипы.	Риновиринс человека 2 (номер доступа GenBank X02316); Риновиринс человека В (номер доступа GenBank NC_001490); Риновиринс человека 89 (номер доступа GenBank NC_001617); Риновиринс человека 39 (номер доступа GenBank AY751783).
Аденовиринс, включая все серотипы.	AY803294; NC_004001; AC_000019; AC_000018; AC_000017; AC_000015; AC_000008; AC_000007; AC_000006; AC_000005; AY737798; AY737797; NC_003266; NC_002067; AY594256; AY594254; AY875648; AJ854486; AY163756; AY594255;

	AY594253; NC_001460; NC_001405; AY598970; AY458656; AY487947; NC_001454; AF534906; AY45969; AY128640; L19443; AY339865; AF532578.
Филовирусы, включая вирус Марбург и вирус Эбола, и штаммы, такие как Эбола Судан (ЕВО S), Эбола Заир (ЕВО Z) и Эбола Рестон (ЕВО Р).	См., например, Geisbert and Jahrling (1995) Virus Res. 39:129-150; Hutchinson, et al. (2001) J. Med. Virol. 65:561-566. Вирус Марбург (см., например, номер доступа GenBank NC_001608). Вирус Эбола (см., например, Номера доступа GenBank NC_006432; AY769362; NC_002549; AF272001; AF086833).
Аренавирусы, включая вирус лимфоцитарного хориоменингита (LCM), вирус Lassa, вирус Junin и вирус Machupo.	Вирус Junin, сегмент S (номер доступа GenBank NC_005081); Junin, сегмент L (номер доступа GenBank NC_005080).
Вирус бешенства.	См., например, номера доступа GenBank NC_001542; AY956319; AY705373; AF499686; AB128149; AB085828; AB009663.
Арбовирусы, включая вирус Западного Нила, вирусы денге от 1 до 4, клещевой вирус лихорадки Колорадо, вирус Синдбиса, Togaviridae, Flaviviridae, Bunyaviridae, Reoviridae,	Вирус денге типа 1 (см., например, номер доступа GenBank AB195673; AY762084). Вирус денге типа 2 (см., например, номера доступа GenBank NC_001474; AY702040; AY702039; AY702037). Вирус денге типа 3 (см., например, номер доступа GenBank AY923865; AT858043). Вирус денге типа 4 (см., например, номера

Rhabdoviridae, Orthomyxoviridae и т.п.	доступа GenBank AY947539; AY947539; AF326573). Вирус Sindbis (см., например, номера доступа GenBank NC_001547; AF429428; J02363; AF103728). Вирус Западного Нила (см., например, номера доступа GenBank NC_001563; AY603654).
Поксвирус, включая ортопоксвирус (вирус натуральной оспы, вирус оспы, вирус коровьей оспы, вирус коровьей оспы), ятапоксвирус (вирус танапкса, вирус опухоли обезьян Ябы), парапоксвирус и моллюскипоксвирус.	Variola вирус (см., например, номера доступа GenBank NC_001611; Y16780; X72086; X69198).
Желтая лихорадка.	См., например, номер доступа GenBank NC_002031; AY640589; X03700.
Хантавирусы, включая серотипы Хантаан (HTN), Сеул (SEO), Добрава (DOB), Син Номбре (SN), Пууамала (PUU) и Добрава подобный Сааремаа (SAAV).	См., например, Elgh, et al. (1997) J. Clin. Microbiol. 35:1122-1130; Sjolander, et al. (2002) Epidemiol. Infect. 128:99-103; Zeier, et al. (2005) Virus Genes 30:157-180. Номер доступа GenBank NC_005222 и NC_005219 (Hantavirus). См. также, например, номера доступа GenBank NC_005218; NC_005222; NC_005219.
Флавивirusы, включая вирус лихорадки денге, вирус японского энцефалита, вирус Западного Нила и вирус	См., например, Mukhopadhyay, et al. (2005) Nature Rev. Microbiol. 3:13- 22. Номера доступа GenBank NC_001474 и AY702040 (Dengue). Номера доступа GenBank NC_001563 и AY603654.

желтой лихорадки.	
Вирус кори.	См., например, номера доступа GenBank AB040874 и AY486084.
Вирусы парагриппа человека (ВПЧ), включая типы HPV 1-56.	Вирус парагриппа человека 2 (см., например, номера доступа GenBank AB176531; NC003443). Вирус парагриппа человека 3 (см., например, номер доступа GenBank NC_001796).
Вирус гриппа, включая типы вирусов гриппа А, В и С.	Нуклеокапсид гриппа (см., например, номер доступа GenBank AY626145). Гемагглютинин гриппа (см., например, номер доступа GenBank AY627885, AY555153). Нейраминидаза гриппа (см., например, номер доступа GenBank AY555151, AY577316). Матричный белок 2 гриппа (см., например, номер доступа GenBank AY626144). Основной белок гриппа 1 (см., например, номер доступа GenBank AY627897). Белок кислотной полимеразы гриппа (см., например, номер доступа GenBank AY627896). Нуклеопротеин гриппа (см., например, номер доступа GenBank AY627895).
Подтипы вируса гриппа А, например вирусы свиней (SIV): Вирус гриппа H1N1 и вируса гриппа свиней.	Гемагглютинин H1N1 (номер доступа GenBank S67220). Матричный белок вируса гриппа А (номер доступа GenBank AY700216). Вирус гриппа А H5N1 нуклеопротеин (номер доступа GenBank AY646426). H1N1 гемагглютинин (номер доступа GenBank D00837). Смотрите также, номера

	доступа GenBank BD006058; BD006055; BD006052. См. также, например, Wentworth, <i>et al.</i> (1994) J. Virol. 68:2051-2058; Wells, <i>et al.</i> (1991) J.A.M.A. 265:478-481.
Респираторный синцитиальный вирус (RSV), включая подгруппу А и подгруппу В.	Респираторный синцитиальный вирус (RSV) (см., например, номер доступа GenBank AY353550; NC_001803; NC001781).
Ротавирусы, в том числе ротавирусы человека А-Е, ротавирус вируса крупного рогатого скота, ротавирус макаки-резуса и реассортации человеческого RVV.	Ротавирус человека С сегмент 8 (номер доступа GenBank AJ549087); Наружный капсидный белок ротавируса человека G9 (см., например, номер доступа GenBank DQ056300); ротавирус человека В-штамм неструктурного белка 4 (см., например, номер доступа GenBank AY548957); основной крупный внутренний капсидный белок человеческого ротавируса штамма А (см., например, номер доступа GenBank AY601554).
Полиомавирус, включая вирус обезьяны 40 (SV40), вирус JC (JCV) и BK (BKV).	См., например, Engels, <i>et al.</i> (2004) J. Infect. Dis. 190:2065-2069; Vilchez and Butel (2004) Clin. Microbiol. Rev. 17:495-508; Shivapurkar, <i>et al.</i> (2004) Cancer Res. 64:3757-3760; Carbone, <i>et al.</i> (2003) Oncogene 2:5173-5180; Barbanti-Brodano, <i>et al.</i> (2004) Virology 318:1-9) (SV40 полный геном в, например, номера доступа GenBank NC_001669; AF168994; AY271817; AY271816; AY120890; AF345344;

	AF332562).
Колтивирусы, включая вирус клещевой инфекции Колорадо, вирус Eyach.	Attoui, et al. (1998) J. Gen. Virol. 79:2481-2489. Сегменты вируса Eyach (см., например, номера доступа GenBank AF282475 ; AF282472 ; AF282473 ; AF282478 ; AF282476 ; NC_003707 ; NC_003702 ; NC_003703 ; NC_003704 ; NC_003705 ; NC_003696 ; NC_003697 ; NC_003698 ; NC_003699 ; NC_003701 ; NC_003706 ; NC_003700 ; AF282471 ; AF282477).
Кальцивирусы, в том числе генные группы Норуолк, группа Снежной Горы (SMA) и Саапоро.	Вирус Снежной горы (см., например, номер доступа GenBank AY134748).
Parvoviridae, включая депендовирус, парвовирус (включая парвовирус B19) и эритровирус.	См., например, Brown (2004) Dev. Biol. (Basel) 118:71-77; Alvarez-Lafuente, et al. (2005) Ann. Rheum. Dis. 64:780-782; Ziyaeyan, et al. (2005) Jpn. J. Infect. Dis. 58:95-97; Kaufman, et al. (2005) Virology 332:189-198.

Другие организмы, для которых известны подходящие антигены, включают, но не ограничиваются ими, *Chlamydia trachomatis*, *Streptococcus pyogenes* (группа A Strep), *Streptococcus agalactia* (группа B Strep), пневмония *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Vibrio cholerae*, виды *Salmonella* (в том числе *typhi*, *Typhimurium*), брюшной тиф (в том числе *Helicobacter pylori*, *Shigella flexneri* и других видов шигеллы группы D), *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Klebsiella* пневмонии, виды *Clostridium* (включая *C. difficile*), *Vibrio parahaemolyticus* и *V. vulnificus*. Этот список не предназначен для ограничения.

Фармацевтические композиции.

Используемый в данном документе термин "фармацевтический препарат" относится к химическому веществу, предназначенному для использования в устранении, лечении или профилактике заболевания и которое подлежит утверждению Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (или его неамериканским эквивалентом) как рецепт или безрецептурный лекарственный препарат. Подробная информация о методах приготовления и введения таких композиций может быть найдена в Remington, Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition (Mack Publishing Co., Easton, PA) и Nielloud and Marti-Mestres, Pharmaceutical Emulsions and Suspensions: 2nd Edition (Marcel Dekker, Inc., New York).

Для целей данного раскрытия фармацевтические композиции могут вводиться различными способами, включая не парентеральный, парентеральный, путем ингаляционного спрея, местно или ректально в композициях, содержащих фармацевтически приемлемые носители, адъюванты и транспортные средства. "Непарентеральное введение" охватывает оральный, буккальный, сублингвальный, местный, трансдермальный, офтальмологический, ушной, назальный, ректальный, шейный, легочный, слизистый и вагинальный. Используемый в данном документе термин "парентеральный" включает, но не ограничивается, подкожные, внутривенные, внутримышечные, внутриартериальные, внутрикожные, интратекальные и эпидуральные инъекции с использованием различных методов инфузии. Внутриартериальная и внутривенная инъекция, как используется в данном документе, включает введение через катетеры. Также предполагается введение через внутрикоронарные стенты и внутрикоронарные резервуары. Внутриопухолевые (непосредственно в опухолевую массу) или перипухолевые (вокруг опухолевой массы) введение соединений по изобретению могут непосредственно активировать локальный инфильтрационный ДС, непосредственно способствовать апоптозу опухолевых клеток или сенсибилизировать опухолевые клетки к цитотоксическим агентам. Термин "пероральный", используемый в данном документе, включает, но не ограничивается, пероральное проглатывание, или доставку сублингвальным или буккальным путем. Пероральное введение включает жидкие напитки, энергетические батончики, а также таблетки.

Фармацевтические композиции могут быть в любой форме, подходящей для предполагаемого способа введения. При использовании для перорального применения, например, могут быть приготовлены таблетки, пастилки, лепешки, водные или масляные суспензии, диспергируемые порошки или гранулы,

эмульсии, твердые или мягкие капсулы, сиропы или эликсиры. Композиции, предназначенные для перорального применения, могут быть получены в соответствии с любым способом, известным в данной области для изготовления фармацевтических композиций, и такие композиции могут содержать один или несколько агентов, включая подслащающие агенты, ароматизаторы, красители и консерванты, чтобы обеспечить приемлемые подготовка. Приемлемы таблетки, содержащие лекарственное соединение в смеси с нетоксичным фармацевтически приемлемым наполнителем, которые пригодны для изготовления таблеток. Этими наполнителями могут быть, например, инертные разбавители, такие как карбонат кальция или натрия, лактоза, кальций или фосфат натрия; гранулирующие и дезинтегрирующие агенты, такие как кукурузный крахмал или альгиновая кислота; связывающие агенты, такие как крахмал, желатин или аравийская камедь; и смазочные вещества, такие как стеарат магния, стеариновая кислота или тальк. Таблетки могут быть непокрытыми или могут быть покрыты известными способами, включая энтеросолюбильное покрытие, коллоидное покрытие или микрокапсулирование, чтобы замедлить дезинтеграцию и адсорбцию в желудочно-кишечном тракте и/или обеспечить продолжительное действие в течение более длительного периода. Например, можно использовать материал с временной задержкой, такой как глицерилмоностеарат или глицерилдистеарат, или с воском.

Препараты для перорального применения также могут быть представлены в виде твердых желатиновых капсул, где лекарственное соединение смешивают с инертным твердым разбавителем, например фосфатом кальция или каолином, или в виде мягких желатиновых капсул, в которых активный ингредиент смешивают с водой или масляной средой, таких как арахисовое масло, жидкий парафин или оливковое масло.

Фармацевтические композиции могут быть приготовлены в виде водных суспензий в смеси с наполнителями, подходящими для изготовления водных суспензий. Такие наполнители включают суспендирующий агент, такой как натрийкарбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, альгинат натрия, поливинилпирролидон, трагакантовая камедь и аравийская камедь, а также диспергирующие или смачивающие агенты, такие как природный фосфатид (например, лецитин), продукт конденсации алкиленоксид с жирной кислотой (например, полиоксиэтиленстеарат), продукт конденсации этиленоксида с длинноцепочечным алифатическим спиртом (например, гептадекаэтиленоксидетанол), продукт конденсации этиленоксида с неполным эфиром, полученным из жирной кислоты и ангидрида гексита (например, моноолеат полиоксиэтиленсорбитана). Водная суспензия также может содержать один или несколько консервантов, таких как этил или н-пропил-п-гидроксibenзоат, один или несколько красителей, один или несколько ароматизаторов и один или несколько подсластителей, таких как сахароза или сахарин.

Масляные суспензии могут быть приготовлены путем суспендирования активного ингредиента в растительном масле, таком как арахисовое масло, оливковое масло, кунжутное масло или кокосовое масло или минеральное масло, такое как жидкий парафин. Оральные суспензии могут содержать загуститель, такой как пчелиный воск, твердый парафин или цетиловый спирт. Подсластители, такие как указанные выше, и ароматизаторы могут быть добавлены для обеспечения приемлемого перорального препарата. Эти композиции могут быть сохранены добавлением антиоксиданта, такого как аскорбиновая кислота.

Дисперсные порошки и гранулы раскрытия, подходящие для приготовления водной суспензии добавлением воды, обеспечивают активный ингредиент в смеси с диспергирующим или смачивающим агентом, суспендирующим агентом и одним или несколькими консервантами. Подходящими диспергирующими или смачивающими агентами и суспендирующими агентами являются примеры, описанные выше. Могут также присутствовать дополнительные наполнители, например подсластители, ароматизаторы и красители.

Фармацевтические композиции по изобретению также могут быть в виде эмульсий типа масло-в-воде. Масляная фаза может представлять собой растительное масло, такое как оливковое масло или арахисовое масло, минеральное масло, такое как жидкий парафин или их смесь. Подходящие эмульгаторы включают природные смолы, такие как аравийская камедь и трагакантовая камедь, встречающиеся в природе фосфатиды, такие как лецитин сои, сложные эфиры или неполные эфиры, полученные из жирных кислот и ангидридов гексита, такие как моноолеат сорбитана, и продукты конденсации этих неполных эфиров с этиленоксидом, таким как полиоксиэтиленсорбитанмоноолеат. Эмульсия может также содержать подслащающие средства и ароматизаторы.

Сиропы и эликсиры могут быть приготовлены с подсластителями, такими как глицерин, сорбит или сахароза. Такие составы могут также содержать средство для снижения уровня, консервант, ароматизатор или краситель.

Фармацевтические композиции по изобретению могут быть в виде стерильного инъекционного препарата, такого как стерильная инъекционная водная или масляная суспензия. Эта суспензия может быть приготовлена в соответствии с известным уровнем техники с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов, которые были упомянуты выше. Стерильный препарат для инъекций может также представлять собой стерильный раствор для инъекций или суспензию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, таком как раствор в

1,3-бутандиоле, или полученный в виде лиофилизированного порошка. Среди приемлемых носителей и растворителей, которые могут быть использованы, являются вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, стерильные фиксированные масла обычно можно использовать в качестве растворителя или суспендирующей среды. Для этой цели можно использовать любое мягкое фиксированное масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, жирные кислоты, такие как олеиновая кислота, могут также использоваться при приготовлении инъекционных препаратов.

Количество активного ингредиента, которое может быть объединено с материалом-носителем для получения разовой лекарственной формы, будет варьировать в зависимости от хозяина, подвергающегося лечению и конкретного способа введения. Например, композиция с временным высвобождением, предназначенная для перорального введения людям, может содержать приблизительно от 20 до 500 мг активного вещества, смешанного с подходящим и удобным количеством материала-носителя, который может варьировать от около 5 до около 95% от общего количества композиций. Предпочтительно, чтобы была приготовлена фармацевтическая композиция, которая обеспечивает легко измеряемые количества для введения. Как правило, эффективное количество, которое должно вводиться системно, составляет от около 0,1 мг/кг до около 100 мг/кг и зависит от ряда факторов, включая, например, возраст и массу субъекта (например, млекопитающего, такого как человек), точное состояние, требующее лечения и его серьезность, путь введения, и в конечном итоге будет по усмотрению сопутствующего врача или ветеринара. Однако следует понимать, что конкретный уровень дозы для любого конкретного пациента будет зависеть от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол и рацион человека, которого лечат; время и путь введения; скорость выделения; другие препараты, которые ранее вводились; и степень тяжести конкретного состояния, подвергаемого терапии, что хорошо понятно специалистам в данной области.

Как отмечено выше, композиции раскрытия, подходящие для перорального введения, могут быть представлены в виде отдельных единиц, таких как капсулы, облатки или таблетки, каждая из которых содержит заданное количество активного ингредиента в виде порошка или гранул; в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде или жидкой эмульсии вода-в-масле.

Фармацевтические композиции также можно вводить в виде болуса, электуария или пасты.

Таблетка может быть изготовлена путем прессования или формования, необязательно с одним или несколькими вспомогательными ингредиентами. Прессованные таблетки могут быть получены путем прессования в подходящей машине активного ингредиента в свободно текучей форме, такой как порошок или гранулы, необязательно смешанный со связующим веществом (например, повидон, желатин, гидроксипропилэтилцеллюлоза), смазывающее вещество, инертный разбавитель, консервант, разрыхлитель (например, гликолят крахмала натрия, поперечно-сшитый повидон, поперечно-сшитая натрийкарбоксиметилцеллюлоза) поверхностно-активный или диспергирующий агент. Формированные таблетки могут быть изготовлены на подходящей машине с использованием смеси порошкообразного соединения, смоченного инертным жидким разбавителем. Таблетки могут быть необязательно покрыты или забиты и могут быть составлены таким образом, чтобы обеспечить медленное или контролируемое высвобождение активного ингредиента в нем, используя, например, гидроксипропилметилцеллюлозу в различных пропорциях для обеспечения желаемого профиля высвобождения. Таблетки могут быть необязательно снабжены тонкокишечным или тостокишечным покрытием, чтобы обеспечить высвобождение в частях кишечника, отличных от желудка. Это особенно выгодно для ди-F-CDN-соединения, как описано в данном документе, когда такие соединения подвержены кислотному гидролизу.

Препараты, подходящие для местного введения во рту, включают лепешки, содержащие активный ингредиент в ароматизированном основании, обычно сахарозу и аравийскую камедь или трагакант; пастилки, содержащие активный ингредиент в инертной основе, такой как желатин и глицерин, или сахароза и аравийская камедь; и жидкости для полоскания рта, содержащие активный ингредиент в подходящем жидком носителе.

Препараты для ректального введения могут быть представлены в виде суппозитория с подходящим основанием, включающим, например, масло какао или салицилат.

Препараты, подходящие для введения во влагалище, могут быть представлены в виде pessaries, тампонов, кремов, гелей, паст, пен или аэрозольных составов, содержащих в дополнение к активному ингредиенту такие носители, которые известны в данной области техники.

Препараты, подходящие для парентерального введения, включают водные и неводные изотонические стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостаты и растворенные вещества, которые делают композицию изотоничной с кровью предполагаемого реципиента; и водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты и загустители. Препараты могут быть представлены в однократных или многократных герметичных контейнерах, например ампулах и флаконах, и могут храниться в лиофилизированном состоянии, требующем только добавления стерильного жидкого носителя, например воды для инъекции, непосредственно перед использованием. Растворы для инъекций и суспензии могут быть получены из стерильных порошков, гранул и таблеток, описанных ранее.

Из-за их потенциального использования в медицине соли соединения по данному изобретению предпочтительно являются фармацевтически приемлемыми. Подходящие фармацевтически приемлемые соли включают соединения, описанные P. Heinrich Stahl и Camille G. Wermuth в *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, 2nd ed. (Wiley-VCH: 2011) and also Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 18th ed. (Mack Publishing, Easton PA: 1990) а также Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 19th ed. (Mack Publishing, Easton PA: 1995). Соль, охватываемая термином "фармацевтически приемлемые соли", относится к нетоксичным солям соединений в этом изобретении.

Соли соединения данного изобретения, содержащие основной амин или другую основную функциональную группу, могут быть получены любым подходящим способом, известным в данной области, включая обработку свободных оснований неорганической кислотой, такой как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота и тому подобное, или с органической кислотой, такой как уксусная кислота, трифторуксусная кислота, малеиновая кислота, янтарная кислота, миндальная кислота, фумаровая кислота, малоновая кислота, муравьиная кислота, альгиновая кислота, пировиноградная кислота, щавелевая кислота, гликолевая кислота, салициловая кислота, пиранозилдиловая кислота, такая как глюкоуроновая кислота или галактурионовая кислота, альфагидроксикислота, такая как лимонная кислота или винная кислота, аминокислота, такая как аспарагиновая кислота или глутаминовая кислота, ароматическая кислота, такая как бензойная кислота или коричная кислота, сульфоновая кислота, такая как *p*-толуолсульфоновая кислота, метансульфоновая кислота, этансульфоновая кислота или тому подобное. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают сульфаты, пиросульфаты, бисульфаты, сульфиты, бисульфиты, фосфаты, хлориды, бромиды, иодиды, ацетаты, пропионаты, деканоаты, каприлаты, акрилаты, формиаты, изобутираты, капроаты, гептаноаты, пропиолаты, оксалаты, малонаты, сукцинаты, себакаты, фумараты, малеаты, бутин-1,4-диоаты, гексин-1,6-диоаты, бензоаты, хлорбензоаты, метилбензоаты, динитробензоаты, гидроксibenзоаты, метоксибензоаты, фталаты, фенилацетаты, фенилпропионаты, фенилбутраты, цитраты, лактаты, гликолят, лактаты, камсилаты, тартраты, манделаты и сульфонаты, такие как ксилосульфонаты, метансульфонаты, пропансульфонаты, нафталин-1-сульфонаты и нафталин-2-сульфонаты.

Соли соединения данного изобретения, содержащие сложный диэфир фосфата, сложный фосфориоат или другую кислотную функциональную группу, могут быть получены путем взаимодействия с подходящим основанием. Фармацевтически приемлемые соли включают, но не ограничиваются ими: ацетат, пиридин, аммоний, пиперазин, диэтиламин, никотинамид, муравьиную кислоту, мочевины, натрий, калий, кальций, магний, цинк, литий, коричный, метиламино, метансульфоновый, пикриновый, винный, триэтиламино, диметиламино и трис (гидроксиметил) аминометан. Специалистам в данной области известны дополнительные фармацевтически приемлемые соли.

Такую фармацевтически приемлемую соль можно получить с основанием, которое дает фармацевтически приемлемый катион, который включает соли щелочных металлов (особенно натрия и калия), соли щелочноземельных металлов (особенно кальция и магния), соли алюминия и соли аммония, цинк, а также соли, полученные из физиологически приемлемых органических оснований, таких как диэтиламин, изопропиламин, оламин, бензатин, бенатамин, трометамин (2-амино-2-(гидроксиметил) пропан-1,3-диол), морфолин, эполамин, пиперидин, пиперазин, пиколин, дициклогексиламин, *N,N'*-дибензилэтилендиамин, 2-гидроксиэтиламин, три-(2-гидроксиэтил) амин, хлорпрокаин, холин, деанол, имидазол, диэтанолламин, этилендиамин, меглумин (*N*-метилглуктамин), прокаин, дибензилпиперидин, дегидроабетиламин, коллидин, хинин, хинолон, эрбумин и основные аминокислоты, такие как лизин и аргинин.

Могут быть использованы другие не фармацевтически приемлемые соли, например, трифторацетат или триэтиламмоний, например, при выделении соединений по изобретению и включены в объем данного изобретения.

Изобретение включает в свой объем все возможные стехиометрические и нестехиометрические формы солей соединений по данному изобретению.

Если соединение по данному изобретению, содержащее основной амин или другую основную функциональную группу, выделяют в виде соли, соответствующая форма свободного основания этого соединения может быть получена любым подходящим способом, известным в данной области, включая обработку соли неорганическим или органическим основанием, подходящим образом неорганическим или органическим основанием, имеющим более высокий pK_a , чем форма свободного основания соединения. Аналогично, если соединение по данному изобретению, содержащее сложный диэфир фосфата, сложный дифосфор фосфориоат или другую кислотную функциональную группу, выделяют в виде соли, соответствующая свободная кислотная форма этого соединения может быть получена любым подходящим способом, известным в данной области, включая обработку соли с неорганической или органической кислотой, подходящей неорганической или органической кислотой, имеющей более низкую pK_a , чем свободная кислотная форма соединения.

Эффективное количество ди-F-CDN-соединения или его фармацевтически приемлемой соли, как описано в данном документе, для пациента может варьироваться в зависимости от таких факторов, как состояние, общее состояние здоровья пациента, путь и доза введения и тяжесть побочных эффектов. Имеется руководство по методам лечения и диагностики (см., например, Maynard et al. (1996) A Hand-

book of SOPs for Good Clinical Practice, Interpharm Press, Boca Raton, FL; Dent (2001) Good Laboratory and Good Clinical Practice, Urch Publ., London, UK).

Эффективное количество может быть дано в разовой дозе, но не ограничивается одной дозой. Таким образом, введение может состоять из двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти, десяти, одиннадцати, двенадцати, тринадцати, четырнадцати, пятнадцати, шестнадцати, семнадцати, восемнадцати, девятнадцати, двадцати или более введений фармацевтической композиции, содержащей соединение ди-F-CDN или его фармацевтически приемлемую соль, как описано в данном документе. В тех случаях, когда в настоящих способах имеется более одного введения фармацевтической композиции, введение может быть разнесено интервалами времени в одну минуту, две минуты, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или более минут, с интервалом около одного часа, два часа, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 ч и т.д. В контексте часов термин "около" означает плюс или минус любой временной интервал в течение 30 мин. Введения могут быть также разделены интервалами времени от одного интервала в 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 дня и их комбинацией. Изобретение не ограничивается интервалами дозирования, которые распределены одинаково во времени, но включают дозы при неравных интервалах.

График дозирования, например один раз в неделю, два раза в неделю, три раза в неделю, четыре раза в неделю, пять раз в неделю, шесть раз в неделю, семь раз в неделю, раз в две недели, раз в три недели, раз в четыре недели, раз в пять недель и тому подобное, доступно для изобретения. Графики дозирования включают дозирование на общий период времени, например одну, две, три, четыре, пять, шесть недель, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать и двенадцать месяцев.

Предусмотрены циклы вышеуказанных графиков дозирования. Цикл можно повторять, например, каждые 7 дней; каждые 14 дней; каждые 21 день; каждые 28 дней; каждые 35 дней; 42 дня; каждые 49 дней; каждые 56 дней; каждые 63 дня; каждые 70 дней; и тому подобное. Между циклом может быть интервал без дозирования, где интервал может быть примерно, например, 7; 14; 21; 28; 35; 42; 49; 56; 63; 70 дней; и тому подобное. В этом контексте термин "около" означает плюс или минус один день, плюс или минус два дня, плюс или минус три дня, плюс или минус четыре дня, плюс или минус пять дней, плюс или минус шесть дней или плюс или минус семь дней.

Способы совместного введения с дополнительным терапевтическим агентом хорошо известны в данной области (Hardman et al. (eds.) (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed., McGraw-Hill, New York, NY; Poole and Peterson (eds.) (2001) Pharmacotherapeutics for Advanced Practice: A Practical Approach, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., PA; Chabner and Longo (eds.) (2001) Cancer Chemotherapy and Biotherapy, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., PA). Как правило, совместное введение или введение вместе указывает на лечение субъекта двумя или более агентами, при этом агенты могут вводиться одновременно или в разное время. Например, агенты могут быть доставлены одному субъекту в виде отдельных введений, которые могут быть, по существу, в одно и то же время или в разное время и которые могут быть одним и тем же путем или разными путями введения. Такие агенты могут быть доставлены одному субъекту в одном и том же введении (например, в том же составе), так что их вводят одновременно одним и тем же способом введения.

Как отмечено, композиции по данному изобретению предпочтительно составлены в виде фармацевтических композиций для парентеральной или энтеральной доставки. Типичная фармацевтическая композиция для введения субъекту животному включает фармацевтически приемлемый носитель, такой как водные растворы, нетоксичные эксципиенты, включая соли, консерванты, буферы и тому подобное. См., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., Easton ed., Mack Publishing Co., pp 1405-1412 and 1461-1487 (1975); The National Formulary XIV, 14th Ed., American Pharmaceutical Association, Washington, DC (1975). Примерами неводных растворителей являются пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла и инъекционные органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Водные носители включают воду, спиртовые/водные растворы, солевые растворы, парентеральные носители, такие как хлорид натрия, декстрозу Рингера и т.д. Внутривенные носители включают жидкие и питательные вещества. Консерванты включают противомикробные агенты, антиоксиданты, хелатирующие агенты и инертные газы. pH и точная концентрация различных компонентов фармацевтической композиции регулируются в соответствии с обычными навыками в данной области.

Повторные введения конкретной вакцины (гомологичная стимуляция) оказались эффективными для усиления гуморальных реакций. Такой подход не может быть эффективным для повышения клеточного иммунитета, поскольку предыдущий иммунитет к вектору имеет тенденцию ухудшать представление надежного антигена и генерирование соответствующих воспалительных сигналов. Одним из способов обхода этой проблемы было последовательное введение вакцин, которые используют разные системы доставки антигенов (гетерологичное усиление). В гетерологичном режиме стимуляции по меньшей мере одна первичная или импульсная доставка включает доставку инактивированной опухолевой клетки/ди-F-CDN-соединения или его композиций, описанных в данном документе. Гетерологичный рычаг схемы может включать доставку антигена с использованием одной или нескольких из следующих стратегий:

инактивированные или аттенуированные бактерии или вирусы, содержащие представляющий интерес

антиген, которые являются частицами, которые были обработаны с некоторым денатурирующим состоянием, чтобы сделать их неэффективными или неэффективными при установлении патогенной инвазии;

очищенные антигены, которые обычно представляют собой природные антигены, очищенные от клеточной культуры патогена или образец ткани, содержащий патоген, или его рекомбинантный вариант;

живые вирусные или бактериальные векторы доставки, рекомбинантно сконструированные для экспрессии и/или секретирования антигенов в клетках-хозяевах субъекта. Эти стратегии полагаются на ослаблении (например, посредством генной инженерии) вирусных или бактериальных векторов, чтобы они не были патогенными и токсичными;

векторах антигенпредставляющих клеток (APC), такие как вектор дендритной клетки (DC), которые содержат клетки, загруженные антигеном или трансфицированные композицией, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антиген (например, Provenge® (Dendreon Corporation) для лечения метастатического кастрат-резистентного рака предстательной железы);

липосомных средствах доставки антигена; а также

голых ДНК-векторах и голых РНК-векторах, которые могут вводиться геном-пистолетом, электропорацией, бактериальными призраками, микросферами, микрочастицами, липосомами, поликатионными наночастицами и тому подобное.

Первичную вакцину и вакцину-стимулятор можно вводить любым способом или комбинацией следующих путей. В одном аспекте основную вакцину и вакцину-стимулятор эффективности вводят по тому же пути. В другом аспекте первичную вакцину и вакцину-стимулятор вводят различными путями. Термин "разные пути" охватывает, но не ограничивается ими, различные участки на теле, например участок, который представляет собой оральный, неинвазивный, энтеральный, парентеральный, ректальный, интранодный (лимфатический узел), внутривенный, артериальный, подкожный, внутримышечный, перитуморальный, внутриутробный, инфузионный, слизистый, назальный, в спинномозговом пространстве или цереброспинальной жидкости и т.д., а также в разных режимах, например, оральном, внутривенном и внутримышечном.

Эффективное количество первичной или стимулирующей вакцины может быть назначено в одной дозе, но не ограничивается одной дозой. Таким образом, введение может быть введением двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти, десяти, одиннадцати, двенадцати, тринадцати, четырнадцати, пятнадцати, шестнадцати, семнадцати, восемнадцати, девятнадцати, двадцати или более вакцины. В тех случаях, когда имеется более одного введения вакцины, введения могут быть разнесены с интервалами в одну минуту, две минуты, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или более минут с интервалом около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 ч и так далее. В контексте часов термин "около" означает плюс или минус любой временной интервал в течение 30 мин. Введения могут быть также разделены интервалами времени от одного интервала в 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 день и их комбинацией. Изобретение не ограничивается интервалами дозирования, которые распределены одинаково во времени, но включают дозы в неравные интервалы, такие как график прайминга, состоящий из введения через 1, 4, 7 и 25 дней, только чтобы обеспечить не ограничивающий пример.

Примеры

Следующие примеры служат для иллюстрации данного изобретения. Эти примеры никоим образом не предназначены для ограничения объема изобретения.

Общие способы.

Безводные растворители и реагенты, подходящие для синтеза олигонуклеотидов в фазе раствора, были приобретены у коммерческих поставщиков (Aldrich, ChemGenes Corporation, Wilmington, MA, USA) и обработаны в сухом аргоне или азоте с использованием безводного метода. Реакции взаимодействия фосфорамидитов и циклизацию Н-фосфонатов проводили в безводном ацетонитриле или пиридине в сухом аргоне или азоте. Исходные вещества для всех реакций в сухом пиридине сушат путем концентрирования (три раза) из пиридина, если не указано иное. Условия хроматографии были следующими, если в приведенном ниже примере не указано иное. Препаративную флеш-хроматографию на силикагеле проводили при хроматографии среднего давления (MPLC) с использованием колонок диоксида кремния Redisep Rf (Teledyne Isco, Lincoln, NE) на Combiflash Rf+UV-Vis (Teledyne Isco) с использованием градиентов метанола в дихлорметане. Обращенно-фазовую препаративную хроматографию проводили в условиях MPLC с использованием колонок RediSep Rf C18 Aq (Teledyne Isco) на Combiflash Rf+UV-Vis с использованием градиентов ацетонитрила в водном 10 mM растворе ТЕАА. Аналитическая жидкостная хроматография высокого давления (ВЭЖХ) проводилась на системе высокоэффективной жидкостной хроматографии Shimadzu Prominence с двумя насосами LC-20AD и детектором фотодиодных матриц SPD-M30A при 254 нм. Градиенты 10 mM ТЕАА в ацетонитриле или 20 mM NH₄ ОАс в ацетонитриле использовали с 5-микронной колонкой (Thermo Scientific Acclaim 120) C-18 (4,6×250 мм) или 10-микронной (Thermo Scientific Hypersil) C-18 колонкой (4,0×250 мм) при комнатной температуре. Препаративную ВЭЖХ проводили на препаративной жидкостной хроматографической системе LC20-AP с использованием Shimadzu, оснащенной детектором ультрафиолетового/ультрафиолетового излучения SPD-

20А на 254 нм на колонке Varian Microsorb 60-8 C-18 41,6×250 мм с использованием градиентов 10 мМ ТЕАА и ацетонитрила со скоростью потока 50 мл/мин. Экстракция твердой фазы с использованием C-18 Sep-Pak (Waters) проводилась при нагрузках 3% (мас./мас.). Аналитические LCMS регистрировали с использованием системы LCMS Shimadzu, включающей высокоэффективную жидкостную хроматографию Prominence, соединенную с одиночным квадрупольным масс-спектрометром Shimadzu LCMS-2020 с использованием источника электрораспылительной ионизации (ESI).

^1H ЯМР, ^{19}F ЯМР, ^{31}P ЯМР и ^{13}C ЯМР-спектры регистрировали в CDCl_3 , d_6 -DMSO, CD_3OD или D_2O в качестве растворителя. Рабочая частота для ^1H составляла 400 МГц, ^{19}F - 376 МГц, ^{31}P - 162 МГц, а ^{13}C - 100 МГц. Все спектры регистрировались при температуре окружающей среды (20-25°C), если не указано иное. Температуру для экспериментов с переменной температурой калибровали ежемесячно или раз в два месяца с использованием метода этиленгликоля, описанного в С. Amman, P. Meier and A.E. Merbach, J. Magn. Reson. 1982, 46, 319-321.

Конечные соединения могут существовать в виде соли триэтиламмония (TEAH^+ или Et_3NH^+), которая может быть преобразована в другие формы соли (включая, но не ограничиваясь ими, натрий (Na^+) или аммоний (NH_4^+)) с использованием стандартного ионного обмена методов или других хорошо известных методов.

Определения стереохимической структуры на фосфоре были проведены аналогично литературным методам (Zhao et al. Nucleosides, Nucleotides, and Nucleic Acid 289:352-378, 2009) или, как описано в примерах ниже.

Названия соединений были сгенерированы с использованием программного обеспечения ChemBioDraw Ultra V 14.0, доступного от CambridgeSoft Corporation, 100 CambridgePark Drive, Cambridge, MA 02140 USA (<http://www.cambridgesoft.com>). Сокращенные названия соединений или ссылочных соединений, используемых в примерах, также представлены в следующей таблице 3. Исходные соединения 3'3'-RR-(G)(A), 3'3'-RR-(G)(G) и 3'3'-RR-(A)(A) получали в соответствии со способами, описанными выше в публикации PCT № WO 2014/093936, включенной в качестве ссылки в отношении таких синтезов. Структуры в примерах также могут быть представлены в виде солей, например O^-A^+ или $-\text{S}^-\text{A}^+$, где A^+ - катион соли.

Таблица 3. Сокращенные названия и структуры соединений

Номер примера и сокращенные названия соединений

Структура

Пример 1 соединение 6

3'3'-RR- (2'F-A) (2'F-A) ;

Дитио- (*Rp*, *Rp*) -циклический- [2'F-A (3', 5') p-2'F-A (3', 5') p] (2*R*, 3*R*, *R*3*a*, *R*5, *R*7*a*, *R*9, *R*10, *R*10*a*, *R*12, *R*14*a*) -2, 9-бис (6-амино-9*H*-пурин-9-ил) -3, 10-дифтор-5, 12-димеркаптооктагидро-2*H*, *H*7-дифтор [3, 2-

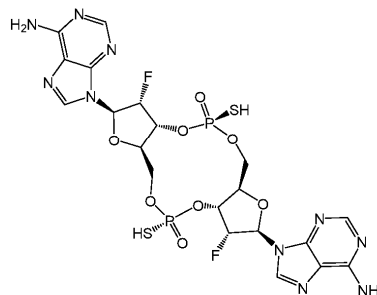
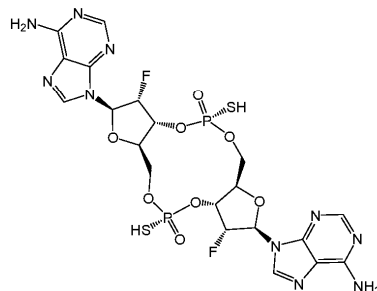
d: 3', 2'J] [1, 3, 7, 9] тетраокса [2, 8] дифосфациклододецин 5, 12-диоксид

Пример 1 Соединение 6*a*

3'3'-RS- (2'F-A) (2'F-A) ;

Дитио- (*Rp*, *Sp*) -циклический- [2'F-A (3', 5') p-2'F-A (3', 5') p] (2*R*, 3*R*, *R*3*a*, *R*5, *R*7*a*, *R*9, *R*10, *R*10*a*, 12*S*, 14*aR*) -2, 9-бис (6-амино-9*H*-пурин-9-ил) -3, 10-дифтор-5, 12-димеркаптооктагидро-2*H*, *H*7-дифтор [3, 2-

d: 3', 2'J] [1, 3, 7, 9] тетраокса [2, 8] дифосфациклододецин 5, 12-диоксид



Пример 2 соединение 14

3'3'-RR- (2'F-G) (2'F-A) ;

Дитио- (Rp, Rp) -циклический- [2'F-G (3', 5') p-2'F-A (3', 5') p]

2-амино-9-

((R2, R3, R3a, R5, R7a, R9, R10, R10a, R1

2, R14a) -9- (6-амино-9H-пурин-9-

ил) -3,10-дифтор-5,12-димеркапто-

5,12-диоксидооктагидро-2H, H7-

дифтор [3,2-d:3', 2'-J]

[1,3,7,9]тетраокса [2,8]дифосфацик

лододецин-2-ил) -1,9-дигидро-6H-

пурин-6-он

Пример 2 Соединение 14a

3'3'-RS- (2'F-G) (2'F-A) ;

Дитио- (Rp, Sp) -циклический- [2'F-G (3', 5') p-2'F-A (3', 5') p]

2-амино-9-

((R2, R3, R3a, R5, R7a, R9, R10, R10a, 12

S, R14a) -9- (6-амино-9H-пурин-9-

ил) -3,10-дифтор-5,12-димеркапто-

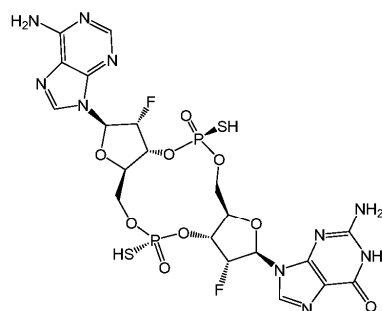
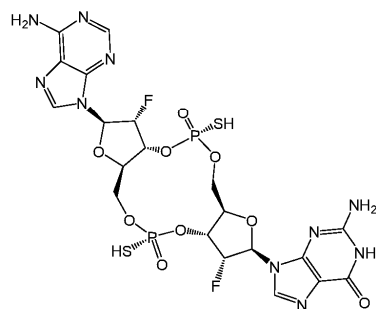
5,12-диоксидооктагидро-2H, H7-

дифтор [3,2-d:3' 2'-

J] [1,3,7,9]тетраокса [2,8]дифосфац

иклододецин-2-ил) -1,9-дигидро-6H-

пурин-6-он



Пример 3 соединение 17

3'3'-RR- (2'F-G) (2'F-G) ;

Дитио- (Rp, Rp) -циклический- [2'F-G (3', 5') p-2'F-G (3', 5') p]

9, 9'-

((R2, R3, R3a, R5, R7a, R9, R10, R10a, R1

2, R14a) -3, 10-дифтор-5, 12-

димеркапто-5, 12-

диоксидооктагидро-2H, H7-

дифтор [3, 2-d:3', 2'-

J] [1, 3, 7, 9] тетраокса [2, 8] дифосфац

иклододецин-2, 9-диил бис (2-амино-

1, 9-дигидро-6H-пурин-6-он

Пример 3 Соединение 17a

3'3'-RS- (2'F-G) (2'F-G) ;

Дитио- (Rp, Sp) -циклический- [2'F-G (3', 5') p-2'F-G (3', 5') p]

9, 9'- ((R2, R3, R3a, R5, R7a, R9, R10

R10a, S12, R14a) -3, 10-дифтор-5, 12-

димеркапто-5, 12-

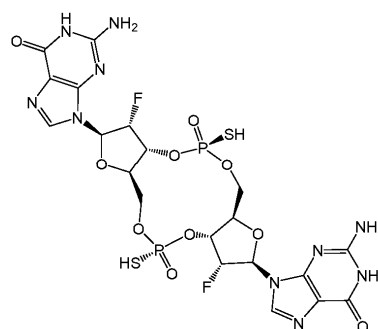
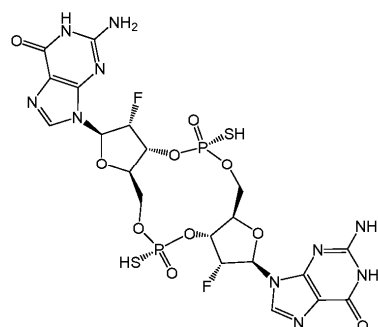
диоксидооктагидро-2H, H7-

дифтор [3, 2-d:3', 2'-

J] [1, 3, 7, 9] тетраокса [2, 8] дифосфац

иклододецин-2, 9-диил бис (2-амино-

1, 9-дигидро-6H-пурин-6-он



Пример 7 соединение 25

3'3'-RR- (2'F-iBuG) (2'F-BzA) ;

Дитио- (Rp, Rp) -циклический- [2'F-iBuG (3', 5') p-2'F-BzA (3', 5') p]

N- (9-

((R2, R3, R3a, R5, R7a, R9, R10, R10a, R1

2, R14a) -3, 10-дифтор-9- (2-

изобутирамидо-6-оксо-1, 6-дигидро-

9H-пурин-9-ил) -5, 12-димеркапто-

5, 12-диоксидооктагидро-2H, H7-

дифтор [3, 2-d:3', 2'-

J] [1, 3, 7, 9] тетраокса [2, 8] дифосфац

иклододецин-2-ил) -9H-пурин-6-

ил) бензамид.

Пример 7 Соединение 25a

3'3'-RS- (2'F-iBuG) (2'F-BzA) ;

Дитио- (Rp, Sp) -циклический- [2'F-iBuG (3', 5') p-2'F-BzA (3', 5') p]

N- (9-

((R2, R3, R3a, S5, R7a, R9, R10, R10a, R1

2, R14a) -3, 10-дифтор-9- (2-

изобутирамидо-6-оксо-1, 6-дигидро-

9H-пурин-9-ил) -5, 12-димеркапто-

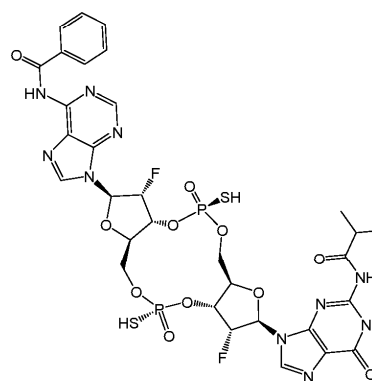
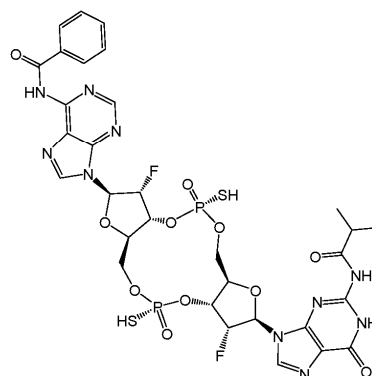
5, 12-диоксидооктагидро-2H, H7-

дифтор [3, 2-d:3', 2'-

J] [1, 3, 7, 9] тетраокса [2, 8] дифосфац

иклододецин-2-ил) -9H-пурин-6-

ил) бензамид.



Пример 8 соединение 26

3'3'-RR- (2'F-iBuG) (2'F-A) ;

Дитио- (Rp, Rp) -циклический- [2'F-

iBuG (3', 5') p-2'F-A (3', 5') p]

N- (9-

((R2, R3, R3a, R5, R7a, R9, R10, R10a, R1

2, R14a) -9- (6-амино-9Нпурин-9-ил) -

3,10-дифтор-5,12-димеркапто-5,12-

диоксидооктагидро-2Н,Н7-

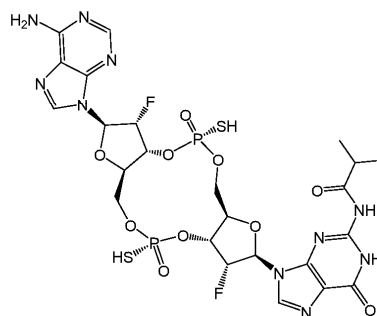
дифтор [3,2-d:3',2'-

J] [1,3,7,9] тетраокса [2,8] дифосфац

иклододецин-2-ил) -6-оксо-6,9-

дигидро-1Н-пурин-2-

ил) изобутирамид.



Пример 9 соединение 27

3'3'-RR- (2'F-BzA) (2'F-BzA) ;

Дитио- (Rp, Rp) -циклический- [2'F-

BzA (3', 5') p-2'F-BzA (3', 5') p]

N, N'-

(((R2, R3, R3a, R5, R7a, R9, R10, R10a, R

12, R14a) -3,10-дифтор-5,12-

димеркапто-5,12-

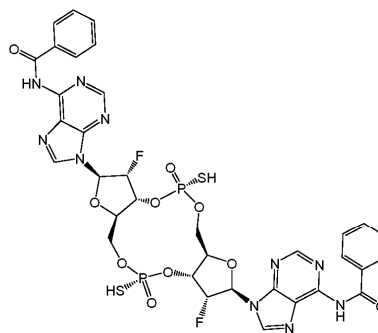
диоксидооктагидро-2Н,Н7-

дифтор [3,2-d:3',2'-

J] [1,3,7,9] тетраокса [2,8] дифосфац

иклододецин-2,9-диил) бис (9Н-

пурин-9,6-диил)) дибензамид



Пример 4 соединение 22

3'3'-RR- (A) (2'F-A) ;

Дитио- (Rp, Rp) -циклический-

[A (3', 5') p-2'F-A (3', 5') p]

(2R, 3R, R3a, R5, R7a, R9, R10, S10a, R12, R14a) -2, 9-бис (6-амино-9H-пурин-

9-ил) -3-фтор-10-гидрокси-5, 12-

димеркаптооктагидро-2H, H7-

дифтор [3, 2-

d:3', 2'J] [1, 3, 7, 9] тетраокса [2, 8] д

ифосфациклододецин 5, 12-диоксид

Пример 4 Соединение 22a

3'3'-RS- (A) (2'F-A) ;

Дитио- (Rp, Rp) -циклический-

[A (3', 5') p-2'F-A (3', 5') p]

(2R, 3R, R3a, S5, R7a, R9, R10, S10a, R12, R14a) -2, 9-бис (6-амино-9H-пурин-

9-ил) -3-фтор-10-гидрокси-5, 12-

димеркаптооктагидро-2H, H7-

дифтор [3, 2-

d:3', 2'J] [1, 3, 7, 9] тетраокса [2, 8] д

ифосфациклододецин 5, 12-диоксид

Пример 5 соединение 23

3'3'-RR- (2'F-G) (A)

Дитио- (Rp, Rp) -циклический- [2'F-

G (3', 5') p-A (3', 5') p]

2-амино-9-

((R2, R3, R3a, R5, R7a, R9, R10, S10a, R1

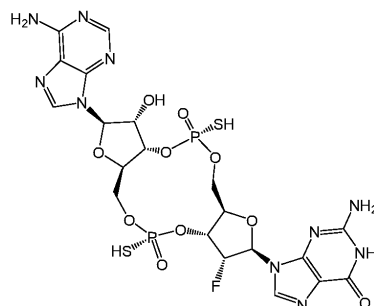
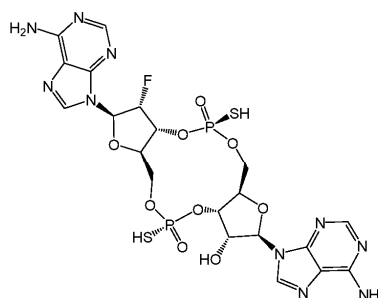
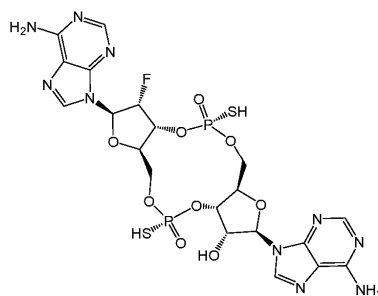
2, R14a) -9- (6-амино-9H-пурин-9-ил) -

--3-фтор-10-гидрокси-5, 12-

димеркапто-5, 12-

диоксидооктагидро-2H, H7-

дифтор [3, 2-d:3', 2'-



JJ [1, 3, 7, 9] тетраокса [2, 8] дифосфац
иклододецин-2-ил) -1, 9-дигидро-6*H*-
пурин-6-он

Пример 5 Соединение 23а

3'3'-SR- (2'F-G) (A)

Дитио- (*Sp*, *Rp*) -циклический- [2'F-
G (3', 5') p-A (3', 5') p]

2-амино-9-

(*R*2, *R*3, *R*3а, *S*5, *R*7а, *R*9, *R*10, *S*10а, *R*1

2, *R*14а) -9- (6-амино-9*H*пурин-9-ил) -

--3-фтор-10-гидрокси-5, 12-

димеркапто-5, 12-

диоксидооктагидро-2*H*, *H*7-

дифтор [3, 2-*d*:3', 2'-

JJ [1, 3, 7, 9] тетраокса [2, 8] дифосфац

иклододецин-2-ил) -1, 9-дигидро-6*H*-

пурин-6-он

Пример 6 соединение 24

3'3'-RR- (G) (2'F-A)

Дитио- (*Rp*, *Rp*) -циклический-

[G (3', 5') p-2'F-A (3', 5') p]

2-амино-9-

(*R*2, *R*3, *S*3а, *R*5, *R*7а, *R*9, *R*10, *R*10а, *R*1

2, *R*14а) -9- (6-амино-9*H*пурин-9-ил) -

10--3-фтор-3-гидрокси-5, 12-

димеркапто-5, 12-

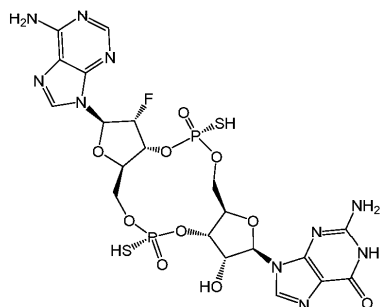
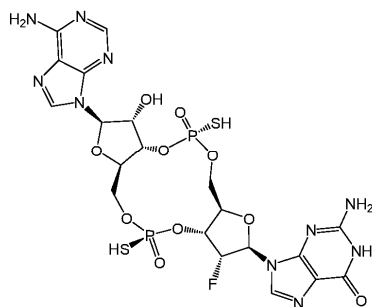
диоксидооктагидро-2*H*, *H*7-

дифтор [3, 2-*d*:3', 2'-

JJ [1, 3, 7, 9] тетраокса [2, 8] дифосфац

иклододецин-2-ил) -1, 9-дигидро-6*H*-

пурин-6-он



Пример 6 Соединение 24а

3'3'-RS- (G) (2'F-A)

Дитио- (Rp, Sp) -циклический-

[G (3', 5') p-2'F-A (3', 5') p]

2-амино-9-

((R2, R3, S3a, R5, R7a, R9, R10, R10a, S1

2, R14a) -9- (6-амино-9Нпурин-9-ил) -

10--фтор-3-гидроксидифтор-5, 12-

димеркапто-5, 12-

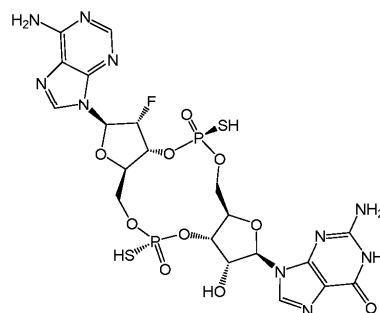
диоксидооктагидро-2Н, Н7-

дифтор [3, 2-d:3', 2'-

J] [1, 3, 7, 9] тетраокса [2, 8] дифосфаз

иклододецин-2-ил) -1, 9-дигидро-6Н-

пурин-6-он



Пример 10 соединение 30

3'3'- (2'F-G) (2'F-A) ;

Циклический- [2'F-G (3', 5') p-2'F-

A (3', 5') p]

2-амино-9-

((R2, R3, R3a, R7a, R9, R10, R10a, 14aR)

-9- (6-амино-9Н-пурин-9-ил) -3, 10-

дифтор-5, 12-дигидрокси-5, 12-

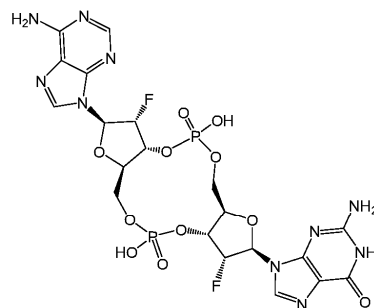
диоксидооктагидро-2Н, Н7-

дифтор [3, 2-

d:3', 2'J] [1, 3, 7, 9] тетраокса [2, 8] д

ифосфациклододецин-2-ил) -1, 9-

дигидро-6Н-пурин-6-он



Пример 1 соединение 7

3'3'-RR- (2'βF-A) (2'βF-A)

Дитио- (Rp, Rp) -циклический- [2'βF-A(3', 5')p-2'βF-A(3', 5')p]
(2R, 3S, R3a, R5, R7a, R9, S10, R10a, R12, R14a)-2, 9-бис (6-амино-9H-пурин-9-ил)-3, 10-дифтор-5, 12-димеркаптооктагидро-2H, H7-дифтор[3, 2-

α:3', 2'J][1, 3, 7, 9]тетраокса[2, 8]дифосфациклододecin 5, 12-диоксид

Пример 1 Соединение 7a

3'3'-RS- (2'βF-A) (2'βF-A)

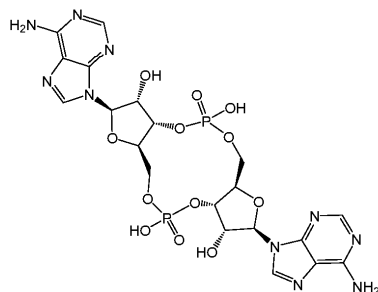
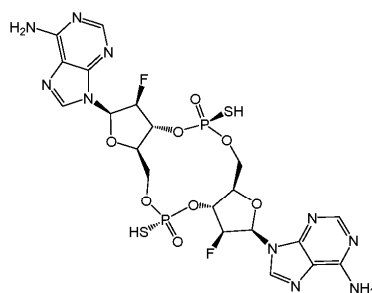
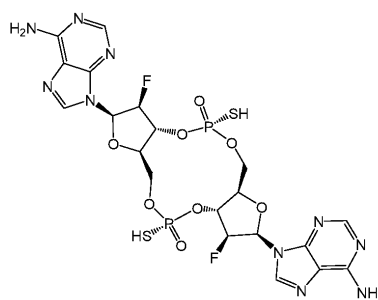
Дитио- (Rp, Sp) -циклический- [2'βF-A(3', 5')p-2'βF-A(3', 5')p]
(2R, 3S, R3a, R5, R7a, R9, S10, R10a, S12, R14a)-2, 9-бис (6-амино-9H-пурин-9-ил)-3, 10-дифтор-5, 12-димеркаптооктагидро-2H, H7-дифтор[3, 2-

α:3', 2'J][1, 3, 7, 9]тетраокса[2, 8]дифосфациклододecin 5, 12-диоксид

CDA

3'3'-(A) (A)

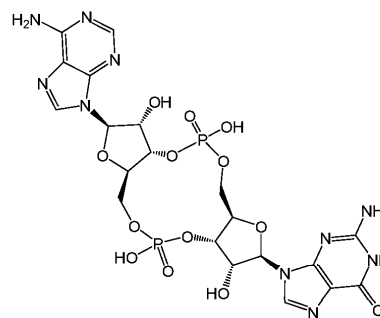
Циклический- [A(3', 5')p-A(3', 5')p]



цГАМФ

3'3'-(G)(A)

Циклический-[G(3',5')p-A(3',5')p]

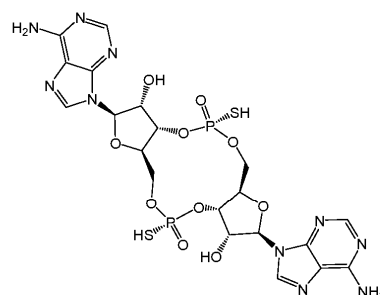


RR-CDA

3'3'-RR-(A)(A)

Дитио-(Rp,Rp)-циклический-

[A(3',5')p-A(3',5')p]

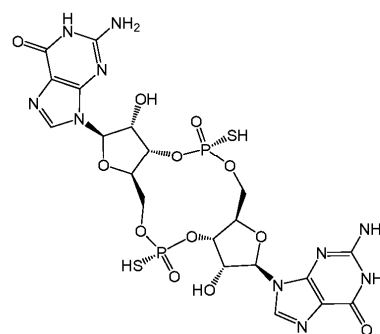


RR-CDG

3'3'-RR-(G)(G)

Дитио-(Rp,Rp)-циклический-

[G(3',5')p-G(3',5')p]

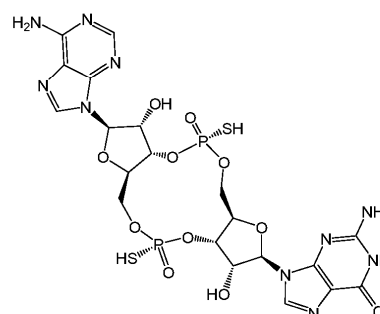


RR-цГАМФ

3'3'-RR-(G)(A)

Дитио-(Rp,Rp)-циклический-

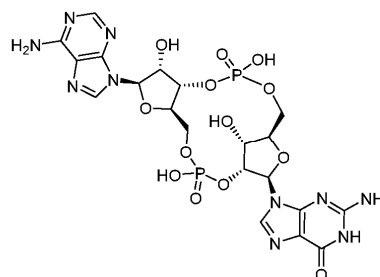
[G(3',5')p-A(3',5')p]



ML-цГАМФ

2'3'-(G)(A);

циклический-[G(2',5')pA(3',5')p]



Аббревиатуры и акронимы.

SalPCl - Салицилхлорфосфит (2-хлор-4Н-бензо[d][1,3,2]диоксафосфинин-4-он);

DCA - дихлоруксусная кислота;

DDTT - 3-((N,N-диметиламиноэтилидин)амино)-3Н-1,2,4-дитиазол-5-тиона;

DAST - диэтиламиносульфтрифторид;

NaHCO₃ - бикарбонат натрия;DCM - CH₂Cl₂ - дихлорметан;

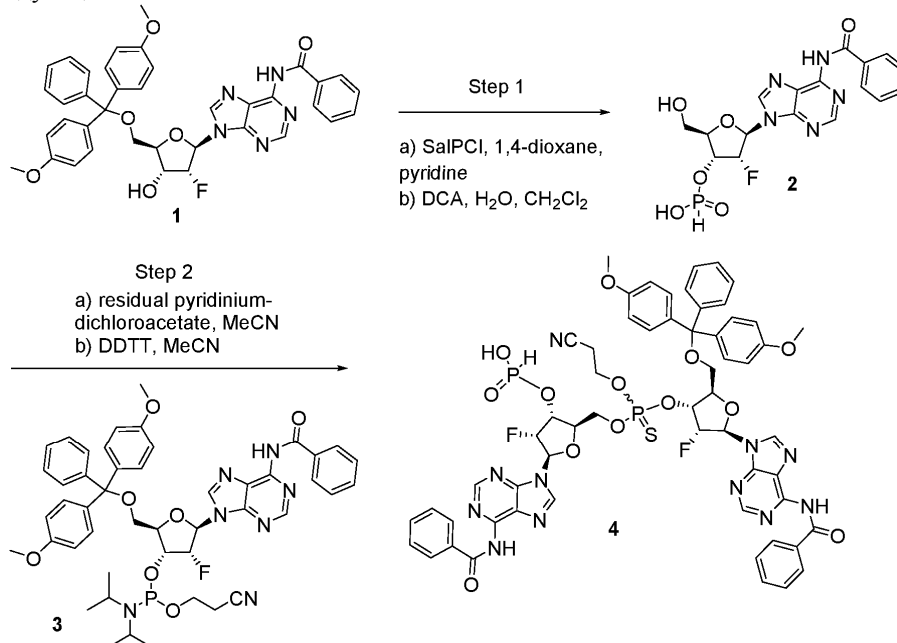
EtOH - этанол;

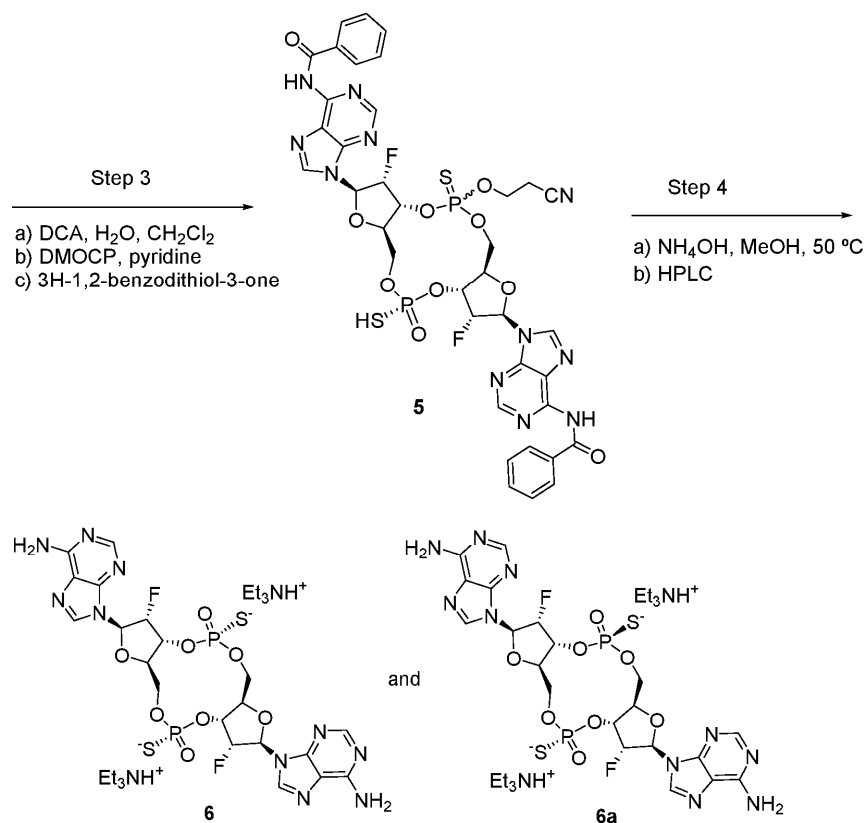
EtOAc - этилацетат;

KOAc - ацетат калия;
 MeCN - ацетонитрил;
 MeOH - метанол;
 NH₄OAc - ацетат аммония;
 DMAP - N,N-диметилпиридин-4-амин;
 DMOCР - 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфорин-2-оксид;
 DMTCl - 4,4'-диметокситритилхлорид;
 DMT - 4,4'-диметокситритил;
 N-фенилтрифламид - 1,1,1-трифтор-N-фенил-N-((трифторметил)сульфонил)метансульфонамид;
 TBAF - фторид тетрабутиламмония;
 TBS - трет-бутилдиметилсилил;
 TEAA - ацетат триэтиламмония;
 TEA - триметиламин;
 TEAH⁺ - триэтиламмоний;
 TEAB - бикарбонат третиламмония;
 TEA - трифторуксусная кислота;
 TBSCl - триметилсилилхлорид;
 HF - фтористоводородная кислота;
 THF - тетрагидрофуран;
 G - гуанин;
 G^{ib} - изобутирил гуанин;
 A - аденин;
 A^{Bz} - бензоил аденин;
 АМА - гидроксид аммония/40% раствор метиламина в воде.

Пример 1. Синтез 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A) (6) и 3'3'-RS-(2'F-A)(2'F-A) (6a).

(2R,3R,R3a,R5,R7a,R9,R10,R10a,R12,R14a)-2,9-бис(6-амино-9H-пурин-9-ил)-3,10-дифтор-5,12-димеркаптооктагидро-2H,Н7-дифтор[3,2-d:3',2'J][1,3,7,9]тетраокс[2,8]дифосфациклододecin 5,12-диоксид (6), также называемый 3'3'-RR(2'F-A)(2'F-A) или дитио-(Rp,Rp)-циклический-[2'F-A(3',5')p-2'F-A(3',5')p], и (2R,3R,R3a,R5,R7a,R9,R10,R10a,12S,14aR)-2,9-бис(6-амино-9H-пурин-9-ил)-3,10-дифтор-5,12-димеркаптооктагидро-2H,Н7-дифтор[3,2-d:3',2'-J][1,3,7,9]тетраокса[2,8]дифосфациклододecin 5,12-диоксид (6a), 3'3'-RS-(2'F-A)(2'F-A) или дитио-(Rp,Sp)-циклический-[2'F-A(3',5')p-2'F-A(3',5')p], были получены по следующей схеме 1:





Этап 1. Получение (R2,R3,R4,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-илгидрофосфоната (2). К раствору N-(9-(((2R,3R,4R,5R)-5-(((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3-фтор-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)-9H-пурин-6-ил)бензамида (1, 2,0 г, 3,0 ммоль, ChemGenes) в 1,4-диоксане (25 мл) и пиридин (8 мл) добавляли раствор SalPCl (0,84 г, 4,1 ммоль) в 1,4-диоксане (12 мл). Через 30 мин к перемешиваемой реакционной смеси при комнатной температуре вводили воду (4 мл) и полученную смесь выливали в 1н. водный раствор NaHCO₃ (100 мл). Эту водную смесь экстрагировали EtOAc (3×100 мл) и слои распределяли. Экстракты EtOAc объединяли и концентрировали досуха в вакууме в виде бесцветной пены. Бесцветную пену растворяли в CH₂Cl₂ (30 мл), получая бесцветный раствор. К этому раствору добавляли воду (0,5 мл) и 6% (об./об.) Раствор DCA в CH₂Cl₂ (30 мл). После 10 мин перемешивания при комнатной температуре к красному раствору загружали пиридин (3,5 мл). Полученную белую смесь концентрировали в вакууме и воду удаляли в виде азеотропа после концентрирования с MeCN (30 мл). Этот азеотропный процесс повторяли еще два раза с MeCN (30 мл). При последнем выпаривании полученную белую суспензию соединения 2 оставляли в MeCN (15 мл).

Этап 2. Получение (2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-2-((((((2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-2-(((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианоэтокси)фосфоротиоил)окси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-илгидрофосфоната (4). К раствору (R2,R3,R4,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-2-(((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил (2-цианоэтил) диизопропилфосфорамидит (3, 2,5 г, 2,9 ммоль, ChemGenes) в MeCN (20 мл) сушили путем концентрации в вакууме. Этот процесс повторяли еще два раза, чтобы удалить воду как азеотроп. На последнем азеотропе к раствору соединения 3 в MeCN (7 мл) вводили 3 Å молекулярных сита и раствор хранили в атмосфере азота. К перемешиваемой смеси соединения 2 с остаточным дихлорацетатом пиридин-1-има в MeCN (15 мл) добавляли раствор соединения 3 в MeCN (7 мл). Через 5 мин к перемешиваемой смеси добавляли ДДТТ (650 мг, 3,2 ммоль). Через 30 мин желтую смесь концентрировали в вакууме, получая соединение 4 в виде желтого масла.

Этап 3. Получение N,N'-((((((2R,3R,3aR,R7a,R9, R10,R10a,R12,R14a)-5-(2-цианоэтокси)-3,10-дифтор-12-меркапто-12-оксидо-5-сульфидооктагидро-2H,N7-дифтор[3,2-d:3',2'J][1,3,7,9]тетраокса[2,8]дифосфациклододецин-2,9-диил)бис(9H-пурин-9,6-диил)дибензамид (5). К раствору соединения 4 в CH₂Cl₂ (60 мл) добавляли воду (0,35 мл) и 6% (об./об.) Раствор DCA в CH₂Cl₂ (60 мл). Через 10 мин при комнатной температуре к красному раствору вводили пиридин (20 мл). Полученную желтую смесь концентрировали в вакууме до тех пор, пока не осталось примерно 20 мл желтой смеси. К желтой смеси вводили пиридин (20 мл) и смесь концентрировали в вакууме до тех пор, пока не осталось примерно 20 мл желтой смеси. К желтой смеси добавляли пиридин (30 мл) и смесь концентрировали в вакууме до тех пор, пока не оставалось приблизительно 30 мл желтой смеси. К перемешиваемой желтой смеси в пиридине (30 мл) добавляли DMOCP (1,6 г, 8,4 ммоль). Через семь минут к темно-оранжевому раствору добавляли воду (1,4 мл),

затем сразу же добавляли 3Н-1,2-бензодитил-3-он (0,71 мг, 4,2 ммоль). Через пять минут темно-оранжевый раствор выливали в 1н. водный раствор NaHCO_3 (400 мл). Через десять минут двухфазную смесь экстрагировали EtOAc (200 мл) и диэтиловым эфиром (200 мл). После отделения водный слой снова экстрагировали EtOAc (200 мл) и диэтиловым эфиром (200 мл). Органические экстракты объединяли и концентрировали в вакууме. К концентрированному желтому маслу добавляли толуол (75 мл) и смесь выпаривали в вакууме для удаления остаточного пиридина. Эту процедуру дважды повторяли с толуолом (75 мл). Полученное масло очищали хроматографией на силикагеле (от 0 до 10% MeOH в CH_2Cl_2), получая соединение 5 (выход 67 мг, 2,5%) в виде оранжевого масла.

Получение 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A) (6 и 3'3'-RS-(2'F-A) (2'F-A) (6a). К перемешиваемому раствору соединения 5 (65 мг, 0,07 ммоль) в MeOH (0,9 мл) добавляли водный раствор гидроксида аммония (0,9 мл) и оранжевую суспензию нагревали при 50°C. Через два часа оранжевому раствору дают остыть и концентрируют в вакууме. Оранжевый остаток очищали хроматографией на силикагеле с обращенной фазой (от 0 до 30% MeCN в 10 mM водной TEAA) с получением соединения 6 (18 мг, выход 38%) в виде белой монотриэтиламмониевой соли после лиофилизации. LCMS-ESI: 693,25 [M-H]⁻ ~ (рассчитано для $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{F}_2\text{N}_{10}\text{O}_8\text{P}_2\text{S}_2$: 694.305); R_t : 16,698 мин в условиях ВЭЖХ (10 mM TEAA, от 2 до 20%); R_t : 20,026 мин в условиях LCMS (20 mM NH_4OAc , от 2 до 20%); ^1H NMR (400 МГц, 45°C, D_2O) δ 8,44 (s, 2H), 8,24 (s, 2H), 6,52 (d, $J=16,4$ Гц, 2H), 5,80 (d, $J=3,6$ Гц, 1H), 5,67 (d, $J=4,0$ Гц, 1H), 5,37-5,26 (m, 2H), 4,77-4,65 (m, 4H), 4,22 (dd, $J=11,4$ Гц, 6,0 Гц, 2H), 3,34 (q, $J=7,0$ Гц, 6H), 1,43 (t, $J=7,0$ Гц, 9H). ^{19}F NMR (400 МГц, 45°C, D_2O) δ -200,74 до 200,98 (m). ^{31}P NMR (45°C, D_2O) δ 54,46. Стереохимическая структура этого соединения, как показано на схеме 1, была подтверждена сокристаллической структурой, связанной с белком STING дикого типа.

Также была приготовлена натриевая соль соединения 6. На небольшой микроколонке (емкость 1 мл) от Bio-Rad (Bio-Spin, Cat # 732-6008) была загружена смола Bio-Rad AG® 50W-X2 (каталог 143-5241, степень биотехнологии, 100-200 меш, водородная форма, CAS 69011-20-7) до маркера 0,2 на микроколонке. Смолу вымачивали пять раз с мелкоподобной фильтрованной водой (0,5 мл) и полученную в результате промывку водой пропускали под действием силы тяжести. Моющие средства были отброшены. Смолу обрабатывали 2 мл 1н. водного раствора гидроксида натрия. Затем конденсированную смолу промывали шесть раз с 2 мл воды, фильтрованной миллипором. Соль TEAH+соединения 6 (5 мг) растворяли в 2 мл воды, фильтрованной миллипором и загружали на смолу. Смолу промывали шесть раз 2 мл воды, фильтрованной миллипором и целевой продукт собирали из фракций элюирования и лиофилизировали в течение ночи для получения натриевой соли соединения 6 (3 мг).

Изомер Rp, Sp также выделяли после очистки на стадии обращенной фазовой хроматографии, чтобы получить соединение 6a (9,0 мг, 99%) в виде соли бис-триэтиламмония после лиофилизации. LCMS-ESI: 693,30 [M-H]⁻ (рассчитано для $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{F}_2\text{N}_{10}\text{O}_8\text{P}_2\text{S}_2$: 694,05); R_t 13,830' мин в условиях ВЭЖХ (10 mM TEAA, от 2 до 20%). R_t 15,032' мин в условиях LCMS (20 mM NH_4OAc , от 2 до 20%). ^1H NMR. (400 МГц, 45°C, D_2O) δ 8,65 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,26 (s, 1H), 6,58 (dd, $J=16,4$, 2,8 Гц, 2H), 6,00 (dd, $J=51,2$, 3,6 Гц, 1H), 5,69 (dd, $J=51,2$, 3,8 Гц, 1H), 5,32-5,15 (m, 2H), 4,77-4,67 (m, 3H), 4,61 (d, $J=12,4$ Гц, 1H), 4,25 (dd, $J=11,8$, 4,2 Гц, 2H), 3,33 (q, $J=7,2$ Гц, 12H), 1,43 (t, $J=7,2$ Гц, 18H). ^{19}F NMR (400 МГц, 45°C, D_2O) δ -200,75 до 201,31 (m). ^{31}P NMR (45°C, D_2O) δ 54,69, 54,64.

Пример 11. Анализ связывания *in vitro* моно- или ди-F-CDN с очищенным белком STING.

ДНК-кодирующие аминокислоты 140-379 (нумерация аминокислот, соответствующая Swiss Prot Q86WV6) амплифицировали из плазмид, содержащих полноразмерную последовательность человеческих STING-аллелей, с помощью полимеразной цепной реакции со следующими праймерами: вперед TACTTCCAATCCAATGCAGCCCCAGCTGAGATCTCTG (SEQ ID NO: 8) и обратный TTATCCAC TTCCAATGTTATTATTATCAAGAGAAATCCGTGCGGAG (SEQ ID NO: 9). Варианты аллелей STING были назначены в соответствии с Yi et al., (2013), PLoS One, 8 (10), e77846 (DOI: 10.1371/journal.pone.0077846). ПЦР-продукты клонировали в бактериальный экспрессионный вектор, кодирующий N-концевую гексагистидиновую аффинную метку (6xHIS), а затем небольшую последовательность растворимости в виде убиквитина (SUMO) (Butt et al., 2005) Экспрессия и очистка белка 43,1, 1-9) и сайт расщепления протеазой вируса травянистой травы (TEV) с использованием лигирующего независимого клонирования (Aslanidis et al., (1990) Nucleic acid research, 18.20, 6069-6074).

Плазмиды, кодирующие 6xHIS-SUMO-TEV-STING аминокислоты 140-379, трансформировали в клетки Rosetta2 (DE3) E.coli (EMD Millipore) для экспрессии белка. Клетки выращивали в лизогениальном бульоне при 37°C до достижения оптической плотности 600 нМ 0,6. Клетки затем переносили до 18°C и экспрессию белка индуцировали в течение ночи добавлением изопропил β-D-1-тиогалактопиранозида к среде при концентрации 0,25 mM. Клетки собирали центрифугированием при 6000 раз гравитации в течение 10 мин. Клеточные гранулы повторно суспендировали на льду в буфере, содержащем 50 mM Трис гидрохлорид (Трис-HCl), pH 7,5, 500 mM хлорид натрия (NaCl), 20 mM имидазол, 10% глицерин, 1 mM трис (2-карбоксиэтил) фосфин гидрохлорид (ТСЕР) и таблетку ингибитора протеазы (Pierce) (буфер А). Клетки лизировали с использованием S-450D-сонаполнителя (Emmerson industrial) на льду. Клеточный лизат центрифугировали при 15000 раз гравитации в течение 30 мин при 4°C. Растворимый

материал наносили на никель-нитрилотриуксусную кислоту (Ni-NTA), связанную с Sepharose CL-6B (Qiagen) в течение 1 ч с нежным качанием при 4°C. После переноса в колонну полипропилена гравитационного потока (Bio-Rad) смола интенсивно промывали в буфере А. Белок элюировали из колонки в буфере, содержащем 20 мМ Трис-HCl, pH 7,5, 150 мМ NaCl, 300 мМ имидазола, 10% глицерина и 0,5 мМ ТСЕР. Для удаления тестера 6xHIS-SUMO элюированный белок смешивали с протеазой TEV (Sigma) в соотношении 1: 250 (w: w) и диализовали в течение ночи против буфера, содержащего 20 мМ Трис-HCl, pH 7,5, 150 мМ NaCl, 5 мМ имидазола, 10% глицерина и 0,5 мМ ТСЕР. Протеины TEV и теги 6xHIS-SUMO были истощены добавлением Ni-NTA-смолы (Qiagen) к образцу, очищенные аминокислоты STING 140-379 собирали удалением смолы с использованием колонны полипрепаратов. STING AA140-379 концентрировали концентрированным центрифужным концентратором (EMD Millipore) с концентрацией 10000 Да до конечной концентрации приблизительно 10 мг/мл. Белок подвергали аликвоте, замораживали в жидком азоте и хранили при -80°C до использования.

По данным дифференциальной сканирующей флуориметрии (DSF) представляет собой метод, который измеряет способность лигандов связываться и стабилизировать очищенные белки (Niesen и др., (2007) Природа протоколы 2.9, 2212-2221). Белок нагревают в присутствии красителя, который связывается и флуоресцирует в гидрофобных средах. Белок термически денатурируется нагреванием, что приводит к увеличению связывания красителя с разложенным белком и флуоресценцией. Температурная средняя точка (T_m) денатурации белков устанавливается путем вычисления половины максимального значения кривой денатурации. Среднее значение температуры белка в присутствии лиганда непосредственно связано с аффинностью лиганда для белка и, следовательно, его способностью стабилизировать белок при более высоких температурах.

DSF проводили в 20 мкл реакции, содержащей 20 мМ Трис-HCl, pH 7,5, 150 мМ NaCl, 1: 500 разведение SYPRO Orange (Life Technologies), 1 мг/мл очищенного белка STING AA140-379 и лиганда в концентрации 1 мМ. Образцы помещали в пластину PCR с твердой оболочкой (Bio-Rad). Флуоресценция в зависимости от температуры регистрировалась в CFX 96 в режиме реального времени ПЦП-машина (Bio-Rad), показанная на канале HEX, возбуждение 450-490, излучение 560-580 нм. Градиент температуры составлял от 15 до 80°C, равный 0,5°C за 15 с и регистрирующий каждые 0,5°C. После вычитания фонового сигнала из образца без белка и лиганда. Средняя температура (T_m) рассчитывалась путем подгонки кривых флуоресценции в зависимости от температуры к сигмоидальной функции Больцмана (Graph Pad Prism). Изменение термической стабильности STING AA140-379 в присутствии лиганда (T_m Shift) рассчитывали путем вычитания T_m (белка и лиганда) от T_m (только белок).

CDN-соединения циклические [A(3',5')pA(3',5')p](CDA,3'3'-(A)(A)), дитио(Rp,Rp)-циклический [A(3',5')pA(3',5')p](3'3'-RR-(A)(A)), дитио(Rp,Rp)циклический[2'FA(3',5')p2'FA(3',5')p](3'3'-RR-(2'FA)(2'FA)), циклический[G(3',5')pA(3',5')p](cGAMP,3'3'-(G)(A)), циклический[G(2',5')pA(3',5')p](MLcGAMP, 2'3'-(G)(A)) и дитио(Rp,Rp)циклический[2'FG(3',5')p2'FA(3',5')p](3'3'RR(2'FG)(2'FA)) оценивали на их способность связываться с очищенными белками STING с помощью DSF.

Фиг. 2 и 3 демонстрируют, что замещенные фтором CDN-соединения 3'3'RR(2'FA)(2'FA) и 3'3'RR(2'F-G)(2'F-A) показал увеличенный сдвиг T_m над не фторзамещенными соединениями 3'3'-(A)(A), 3'3'-RR-(A)(A), 3'3'-(G)(A) и эндогенный клеточный лиганд 2'3'-(G)(A). Увеличение T_m сдвига замещенных фтором соединений 3'3'RR(2'FA)(2'FA) и 3'3'RR(2'FG)(2'FA) продемонстрировали, что они повышают термическую стабильность как белков hSTING (REF) (фиг. 2), так и hSTING (WT) (фиг. 3), что указывает на усиленное связывание между hSTING (WT), hSTING (REF) и фторзамещенных CDN-соединений. На фиг. 2 дополнительно продемонстрировано, что CDN, содержащие (3',5')p(3',5')p-интронуклеотид-фосфатные связи с заместителями 2',2"-дифтордитио-(Rp,Rp), могут сильно связываться к варианту, который еженедельно связывается с немодифицированными CDN, содержащими (3',5')p(3',5')p внутринуклеотидные фосфатные связи.

Каждый из типов hSTING, HAQ аллеля hSTING и REF был также использован с каждым из эталонных соединений и соединений по изобретению, как указано в следующей табл. 4. Эти результаты демонстрируют улучшенное связывание при 3'3'RR (2'FA)(2'FA), 3'3'RR (2'FG), (2'FG) и 3'3'RR (2'FG), (2'FA) относительно каждого из их опорных сигналов OH, т.е. 3'3'RR(A)(A), 3'3' RR(G)(G) и 3'3'RR(G)(A), соответственно, во всех трех hSTING, с 3'3'RR (2'FA)(2'FA) и 3'3'RR (2'FG), (2'FA), демонстрируя улучшенное связывание над естественно продуцируемым 2'3'-(G)(A). Соединения 3'3'RR(2'F BzA)(2'F BzA), 3'3'RR (2'F iBuG)(2'F BzA) и 3'3'RR (2'F iBuG)(2'F A), имеющий защитную группу на одной из основных аминогрупп, также показал улучшенное связывание относительно 3'3'RR (A)(A) или 3'3'RR (G)(A) при измерении с помощью REF-аллеля. Моно F-производные 3'3'RR (2'FG)(A) и 3'3'RR (G), (2'FA) также продемонстрировали улучшенное связывание относительно OH-ссылки 3'3'RR (G)(A) во всех трех hSTING.

Таблица 4. T_m сдвигается в hSTING WT, аллеле HAQ и REF-аллеле

Пример/Соединение	Название соединения	hSTING T _m сдвиг (°C)		
		WT	HAQ	REF
Ссылка	3'3'- (A) (A)	4,5	10,2	2,0
Ссылка	3'3'- (2'F-A) (2'F-A)	12,6	20,6	6,4
Ссылка	3'3'-RR- (A) (A)	9,6	15,5	5,7
Пример 1 соединение 6	3'3'-RR- (2'F-A) (2'F-A)	19,3	32,4	9,1
Пример 1 Соединение 6a	3'3'-RS- (2'F-A) (2'F-A)	*	*	*
Пример 4 соединение 22	3'3'-RR- (A) (2'F-A)	9,4	16,0	5,4
Пример 4 Соединение 22a	3'3'-RS- (A) (2'F-A)	6,4	11,4	4,3
Пример 9 соединение 27	3'3'-RR- (2'F-BzA) (2'F-BzA)	8,9	10,1	8,7
Пример 1 соединение 7	3'3'-RR- (2'βF-A) (2'βF-A)	3,1	11,2	0,3
Пример 1 Соединение 7a	3'3'-RS- (2'βF-A) (2'βF-A)	0,1	3,1	0
Ссылка	3'3'- (G) (G)	6,1	9,97	6,1
Ссылка	3'3'-RR- (G) (G)	9,5	15,3	10,3
Пример 3 соединение 17	3'3'-RR- (2'F-G) (2'F-G)	12,6	22,6	11,4
Пример 3 Соединение 17a	3'3'-RS- (2'F-G) (2'F-G)	*	*	*
Ссылка	2'3'- (G) (A)	16,1	26,8	7,0
Ссылка	3'3'- (G) (A)	2	10,5	2,5
Ссылка	3'3'-RR (G) (A)	11,1	21,0	7,2
Пример 2 соединение 14	3'3'-RR- (2'F-G) (2'F-A)	19,3	34,2	12,5
Пример 2 Соединение 14a	3'3'-RS- (2'F-G) (2'F-A)	*	*	*
Пример 5 соединение 23	3'3'-RR- (2'F-G) (A)	14,7	25,9	9,5
Пример 5 Соединение 23a	3'3'-SR- (2'F-G) (A)	10,6	16,5	7,8
Пример 6 соединение 24	3'3'-RR- (G) (2'F-A)	15,9	28,8	9,7
Пример 6 Соединение 24a	3'3'-RS- (G) (2'F-A)	9,3	15,3	7,0
Пример 10 соединение 30	3'3'- (2'F-G) (2'F-A)	14,3	27,7	7,8
Пример 7 соединение 25	3'3'-RR- (2'F-iBuG) (2'F-BzA)	10,6	14,7	8,6
Пример 7 Соединение 25a	3'3'-RS- (2'F-iBuG) (2'F-BzA)	6,8	8,9	5,4

Пример 8
соединение 26 3'3'-RR- (2'F-iBuG) (2'F-A) 13,3 18,4 10,5

* Соединение не было совместимо с анализом.

Пример 12. 3'3'-ди-F-CDN-Молекулы активации передачи сигналов STING человека в клетках HEK293T.

Для оценки пропускной способности двух известных вариантов человеческого STING, hSTING (WT) и hSTING (REF), в ответ на нативные и фторзамещенные CDN-соединения, мы измерили активность IFN- β -репортер в клеточных линиях эмбриональной почки человека (HEK)293T, которые стабильно выражают hSTING (WT) или hSTING (REF). Была описана последовательность аллеля hSTING (REF) (Ishikawa H., and Barber G.N. (2008). Nature 455, 674-678) и имеет эталонную последовательность NCBI NP 938023 (фиг. 6). Последовательности вариантов аллелей h STING (WT) и hSTING (REF) были также описаны в Yi et al., 2013, PLoS One, 8 (10), e77846 (DOI: 10. 1371/journal.pone. 0077846).

Родительская клеточная линия HEK293T не экспрессирует эндогенный функциональный STING, поэтому чувствительность экзогенно экспрессируемых аллелей STING к различным CDN-соединениям может быть оценена с использованием стабильных линий экспрессии HEK293T STING. Эти линии были получены с помощью ретровирусных плазмид MSCV2.2, которые содержат полноразмерную кДНК STING с с-концевой меткой эпитопа HA, клонированной выше IRES в рамке с зеленым флуоресцентным белком (GFP). Ретровирусные векторы трансфицировали в амфотропную клеточную линию Phoenix, используя липофектамин (Invitrogen). Через два дня вирусные супернатанты собирали и использовали для трансдукции клеток HEK293T.

GFP-положительные клетки сортировали с использованием сортировщика клеток Mo Flo в Исследовательской лаборатории проточной цитометрической лаборатории в Калифорнийском университете в Беркли. 10^4 клетки HEK293T STING высевали в 96-луночные планшеты и временно трансфицировали (используя Lipofectamine 2000) с 50 нг репортерной плазмиды IFN- β человека (pLuc-IFN- β), экспрессирующей промотор IFN- β человека выше по потоку от люциферазы светлячков репортерный ген (Fitzgerald et al., 2003, Nature Immunology, 4(5): 491-496) и 10 нг плазмиды, экспрессирующей конституционально активный тимидинкиназу (TK) Renilla reniformis luciferase reporter gene (Promega) для нормализации. Через 24 ч клетки стимулировали нативные и синтетические молекулы CDN-производных, используя пермеабиллизацию дигитонина, чтобы обеспечить равномерное поглощение. Каждую линию клеток STING стимулировали в 25 мкл дигитонинового буфера (50 mM HEPES, 100 mM KCl, 3 mM MgCl₂, 0,1 mM DTT, 85 mM сахарозы, 0,2% BSA, 1 mM АТФ, 0,1 mM GTP, 10 мкг/мл дигитонина) с 2-кратным разведением от 0,1 до 100 мкМ каждого из следующих CDN-соединений: циклический [A(3',5')pA(3',5')p] (CDA,3'3'-(A)(A)), дитио-(Rp,Rp)-циклический-[A(3',5')pA(3',5')p](3'3'-RR-(A)(A)), дитио(Rp,Rp)циклический[2'FA(3',5')p2'FA(3',5')p](3'3'-RR-(2'FA)(2'FA)), циклический[G(3',5')pA(3',5')p](3'3'(G)(A)), циклический[G(2',5')pA(3',5')p](2'3'(G)(A)) и дитио-(Rp,Rp)-циклические-[2'FG(3',5')p2'FA(3',5')p](3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-A)).

Через 20 мин удаляли стимулирующие смеси и добавляли 200 мкл среды DMEM с добавлением 10% (об./об.) эмбриональной бычьей сыворотки, 1% L-глутамина и 1% пенициллина/стрептомицина. Клетки инкубировали еще 6 ч (37°C, 5% CO₂), а затем были получены клеточные лизаты и активность репортерного гена, измеренная на люминометре Spectramax M3, с использованием системы анализа ДНК люциферазы Dual-Glo (Promega, каталог # E2920), как описано производителем. IFN β Активность репортерного гена люциферазы светляка была нормализована к активности гена рецептора люциферазы ТК и нанесена как временная индукция по активности в нестимулированных клетках (средняя +/-s.e.m.).

Как показано на фиг. 5A (курс дозы) и 5B (6,25 мкМ CDN), замещенное фтором CDN-соединение 3'3' RR (2'FA) (2'FA) индуцировали более высокие уровни репортерной активности IFN β с помощью hSTING (WT), чем нефторзамещенные соединения 3'3'-(A)(A) и производное дитио-(Rp,Rp)-ОН, 3'3'-RR-(A)(A), при испытанных дозах. 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A) также стимулировали более высокие уровни репортерной активности IFN β посредством hSTING (WT) по сравнению с эндогенным клеточным лигандом 2'3'-(G)(A). Фторзамещенное соединение CDN 3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-A) также сильно индуцирует репортерную активность IFN β посредством hSTING(WT), а в более низких дозах 3'3'-RR- (2'F-G)(2'F-A) более сильно индуцирует репортерную активность IFN β посредством hSTING(WT), чем соединение 3'3'-(G)(A). Как показано в 6A (курс дозы) и 6B (6,25 мкМ CDN), клетки HEK 293T, экспрессирующие hSTING(REF), плохо реагировали на стимуляцию 3'3'-(A)(A),3'3'-RR(A)(A) и 3'3'-(G)(A), все из которых содержат канонические (3',5')p(3',5')p внутринуклеотидные фосфатные связи.

Напротив, замещенные фтором CDN-соединения 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A) и 3'3'-RR(2'F-G)(2'F-A) сильно индуцированный IFN β репортерной активности до уровня, подобного эндогенному клеточному лиганду 2'3'-(G)(A), который имеет (2',5')p(3',5')p внутринуклеотидных фосфатных связей. Эти результаты показали, что CDN-соединения, содержащие канонические (3',5')p(3',5')p внутринуклеотидных фосфатных связей с 2',2"-дифтордитио-(Rp,Rp) заменами сильно активированного hSTING(REF), аллель, который обычно является резистентным к стимуляции CDN, содержащим канонические (3',5')p(3',5')p

внутринклеотидных фосфатных связей.

Взяты вместе данные на фиг. 5А, В и 6А, В демонстрируют, что замещенные фтором CDN, 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A) и 3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-A), способны интенсивно активировать hSTING (REF) и hSTING (WT) и, следовательно, позволяют сигнализировать STING человека в широком диапазоне человеческой популяции, которые выражают разные варианты STING.

Пример 13. Индукция интерферона I типа CDN.

Индукцию интерферона типа I измеряли в мононуклеарных клетках первичной крови человека (hPBMC) для оценки активности моно- или ди-F-CDN-соединений, как описано в данном документе. Были использованы hPBMCs из двух уникальных доноров: один донор был гомозиготным по дикому типу (WT), STING аллель (STING^{WT/WT}), а другой донор был гомозиготным по так называемой ссылке (REF) STING аллель (STING^{REF/REF}). Генотип STING этих доноров определяли с помощью ПЦР-амплификации и секвенирования: геномную ДНК выделяли из 10⁴ hPBMC с использованием экстракционного экстракта для быстрой экстракции ДНК (Epicenter) и использовали для амплификации областей экзона 3, 6 и 7 человеческого STING-гена. Праймеры для амплификации и секвенирования были следующими: hSTING экзон3F GCTGAGACAGGAGCTTTGG (SEQ ID NO: 10), hSTING экзон3R AGCCAGA GAGGTTCAAGGA (SEQ ID NO: 11), hSTING экзон6F GGCCAATGACCTGGGTCTCA (SEQ ID NO: 12), hSTING экзон6R CACCCAGAATAGCATCCAGC (SEQ ID NO: 13), hSTING экзон7F TCA-GAGTTGGGTATCAGAGGC (SEQ ID NO: 14), hSTING экзон7R ATCTGGTGTGCTGGGAAGAGG (SEQ ID NO: 15). Варианты аллелей STING были определены в соответствии с Yi, et al., 2013, PLoS One, 8 (10), e77846 (DOI: 10.1371/journal.pone.0077846).

Криоконсервированные hPBMC оттаивали и 10⁶ клеток либо не обрабатывали, либо обрабатывали эталонными соединениями 3'3'-RR-(A)(A), 3'3'-RR-(G)(G), 2'3'-(G)(A), 3'3'-(G)(A) или 3'3'-RR-(G)(A) или моно- или ди-Е-соединения 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A), 3'3'-RR-(2'F-A)(A), 3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-G), 3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-A), 3'3'-RR-(2'F-G)(A) и 3'3'-RR-(G)(2'F-A) в среде RPMI с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки, 1% L-глутамин и 1% пенициллин/стрептомицин. Клетки инкубировали при 37°C, 5% CO₂ с концентрацией в диапазоне от 100 до 0,1 мкМ каждого CDN. Через 2 ч (фиг. 7 и 8) или 2 и 6 ч (фиг. 9-13), клетки собирали центрифугированием и один раз промывали забуференным фосфатом физиологическим раствором. Клеточную РНК выделяли с использованием набора Aurum Total RNA 96 Kit, и кДНК синтезировали с использованием набора для синтеза кДНК iScript. Экспрессию целевого и эталонного генов оценивали с помощью qRT-PCR в реальном времени с использованием анализатора PrimePCR и циклического гена CFX96 (все реагенты и оборудование от BioRad). Нормализованная экспрессия IFN β была выражена относительно необработанных клеток. Целевые гены включали интерферон типа I (IFN β), Th1-ассоциированные цитокины (IFN γ , IL-12p40) и зависимые от NF- κ B воспалительные цитокины (TNF α , IL-6). Контрольные гены включали только GUSB (фиг. 7 и 8) или GUSB и HSP90AB1 (фиг. 9-13).

На фиг. 7А и 8А (курс дозы) и 7В и 8В (6,25 мкМ CDN) продемонстрирована относительная нормализованная экспрессия IFN β hPBMC, гомозиготная по аллелю WT STING (фиг. 7А, 7В) или для аллеля REF STING (фиг. 8А, 8В). Что касается STING^{WT/WT} hPBMCs, то 3'3'-RR-(A)(A) и 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A) индуцировали подобные уровни IFN β ; однако обе эти производные индуцировали более высокие уровни транскрипта IFN β по сравнению с соединением 3'3'-(A)(A), которое было наименее мощным агонистом WT STING в этом примере. Во всех дозах 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A) стимулировал более высокие уровни транскрипта IFN β по STING^{WT/WT} hPBMCs по сравнению с неканоническими 2'3'-(G)(A), естественно продуцируемого клетками млекопитающих. Кроме того, 3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-A) был самым мощным индуктором интерферона I типа в hPBMC STING^{WT/WT}, вызывая в 10-100 раз более высокие уровни IFN β по сравнению с родительское соединение cGAMP в тестируемом диапазоне доз. Что касается STING^{REF/REF} hPBMCs, 3'3'-(A)(A), 3'3'-RR-(A)(A) и 3'3'-(G)(A) не стимулировали производство заметных Уровни транскрипции IFN β при тестируемых дозах. Напротив, 2'3'-(G)(A), 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A) и 3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-A) стимулировали дозозависимое продуцирование IFN β транскрипция STING^{REF/REF} hPBMCs.

В диапазоне доз, испытанном на фиг. 7 и 8, оба 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A) и 3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-A) были более мощными индукторами транскрипта IFN β STING^{REF/REF} hPBMCs, чем 2'3'-(G)(A). 3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-A) был чрезвычайно мощным стимулятором аллеля REF STING, поскольку уровни транскрипта IFN β были в 12-70 раз выше, когда клетки стимулировали 3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-A) по сравнению с клетками, аналогично дозированными 2'3'-(G), (A). Эти результаты показали, что 2',2"-dif-RR производные CDA и cGAMP являются более мощными стимуляторами человеческих клеток, гомозиготных по WT или REF STING, чем их соответствующие исходные соединения или природные неканонические 2'3'-(G), (A). Эти результаты также показали, что соединения, содержащие канонические R(3',5')pR(3',5')-р внутринклеотидные фосфатные связи с модификациями 2',2"-дифтордитио-(Rp,Rp) может стимулировать продуцирование IFN β клетками человека, гомозиготными по аллелю REF STING, который обычно не поддается стимуляции CDN, содержащим канонические связи.

Результаты для моно- или ди-F-CDN 3'3'-RR-(2'F-G)(A), 3'3'-RR-(G)(2'F-A) и 3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-A) с 3'3'-(G)(A) и 3'3'-RR-(G)(A) в качестве эталона; 3'3'-RR-(2'F-A)(A) и 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A) с 3'3'-RR-(A)(A) в качестве эталона; и 3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-G) с 3'3'-RR-(G)(G) в качестве эталона показаны на фиг. 9А

(IFN β , WT/WT), фиг. 9B (IFN β , REF/REF), фиг. 10A (TNF α , WT/WT), фиг. 10B (TNF α , REF/REF), фиг. 11A (IL-6, WT/WT), фиг. 11B (IL-6, REF/REF), фиг. 12A (IFN γ , WT/WT), фиг. 12B (IFN γ , REF/REF), фиг. 13A (IL-12p40, WT/WT) и фиг. 13B (IL-12p40, REF/REF). Что касается STING^{WT/WT} hPBMCs, за исключением 3'3'-RR-(G)(G), все испытываемые соединения выявили сильные, зависящие от дозы ответы цитокинов. В зависимости от цитокинов ответы в STING^{WT/WT} hPBMC были самыми высокими при стимуляции через 2 ч (IFN β , TNF α) или 6 ч (IFN γ). Ответы IL-6 и IL-12p40 были одинаковыми в STING^{WT/WT} hPBMC в оба момента времени. Что касается STING^{REF/REF} hPBMC, естественно произведенное соединение млекопитающих 2'3'-(G)(A) индуцировало устойчивые дозозависимые ответы для всех цитокинов, которые достигли пика в течение 6 ч стимуляции. По сравнению с 3'3'-(G)(A) и 3'3'-RR-(G)(A), 3'3'-RR-(2'F-G)(A), 3'3'-RR-(G)(2'F-A) и 3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-A) индуцировали более надежные дозозависимые ответы каждого из тестируемых цитокинов. Наличие 2'F-замещений на аденине и гуанине давало наиболее надежные ответы, а замещение моно-2'F на адениновой основе вызывало более сильные реакции, чем замещение моно 2'F на гуаниновой основе. По сравнению с 3'3'-RR-(A)(A), ди-F, замещенный 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A) индуцировали более надежные ответы всех тестируемых цитокинов, причем ответы IFN β и TNF α достигали пика после 2-часовой стимуляции. Хотя он менее устойчив, чем соединение ди-F, моно-F замещенный 3'3'-RR-(2'F-A)(A) также способен вызывать реакции цитокинов при стимуляции через 6 ч 100 мкМ соединения. Соединения моно- и ди-F-CDN обычно показывают устойчивый ответ цитокинов в hPBMC, в частности 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A) и 3'3'-RR-(2'F-G)(2'F-A), демонстрируя более надежный ответ, чем их сылочное соединение ОН в STING^{REF/REF}, с ответами, аналогичными или в некоторых случаях более надежными, чем природные 2'3'-(G)(A).

Пример 14. Активация передачи сигналов STING человека в клетках THP1 с помощью моно и ди-F CDN-соединение.

Чтобы определить относительный уровень интерферона типа I, индуцированного в клетках человека каждым из моно- или ди-F CDN в качестве сигнатуры адъювантной потенции, 100 000 THP1 Двойные клетки (клеточная линия человеческого моноцита, содержащая аллель hSTING HAQ, трансфицированный IRF-3-индуцибельным секретируемым репортерным геном люциферазы (Invivogen), который экспрессирует секретируемую люциферазу под контролем промотора, состоящего из пяти IFN-стимулированных элементов ответа) активировали 30 нг/мл форбол 12-миристат 13 ацетата в течение ночи в 96-луночном планшете. Клетки промывали свежей средой и инкубировали в течение 30 мин при 37°C с 5% CO₂ с соединениями в 3-кратной стадии титрования от 2000 до 0,0388 мкМ в PB-буфере (50 mM 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфокислоту, 100 mM KCl, 3 mM MgCl₂, 0,1 mM дитиотреитола, 85 mM сахарозы, 1 mM АТФ, 0,1 mM ГТФ и 0,2% бычьего сывороточного альбумина). Через 30 мин клетки промывали и добавляли свежие среды RPMI, содержащие 10% FBS, и клетки инкубировали при 37°C с 5% CO₂. Супернатанты клеточной культуры из каждого образца собирали после инкубации в течение ночи и добавляли 10 мкл супернатантов клеточной культуры к 50 мкл реагента QUANTI-Luc (Invivogen). Активацию интерферона типа I определяли путем измерения секретируемых уровней люциферазы на спектрофотометре SpectraMax M3 (Molecular Devices). Значение EC50 определяли по кривой доза-реакция для 10 концентраций из серийного разведения эталонных соединений и соединений по изобретению, проверенных в этом анализе, как указано в табл. 5. Эти результаты демонстрируют улучшенную активность для соединений ди-F 3'3'-RR-(2'F-A)(2'F-A), 3'3'-RS-(2'F-A)(2'F-A), 3'3'-RR-(2'F-G), (2'F-G), 3'3'-RR-(2'F-G), (2'F-A), 3'3'-RS-(2'F-G), (2'F-A) и 3'3'-RR-(2'F-iBuG) (2'F-A) по отношению к каждому из их эталонных соединений ОН. Моно-F-производные 3'3'-RR-(2'F-G) (A) и 3'3'-RR-(G), (2'F-A) также продемонстрировали улучшенную активность относительно ОН-эталона 3'3'-RR-(G)(A).

Таблица 5. EC50 без дигитонина в клетках THP1 (аллель HAQ)

Пример/Соединение	Название соединения	EC50 (мкМ)
Ссылка	3'3'-RR- (A) (A)	25
Пример 1 соединение 6	3'3'-RR- (2'F-A) (2'F-A)	19
Пример 1 Соединение 6a	3'3'-RS- (2'F-A) (2'F-A)	8
Пример 4 соединение 22	3'3'-RR- (A) (2'F-A)	59
Пример 4 Соединение 22a	3'3'-RS- (A) (2'F-A)	99
Пример 9 соединение 27	3'3'-RR- (2'F-BzA) (2'F-BzA)	>150
Пример 1 соединение 7	3'3'-RR- (2'βF-A) (2'βF-A)	284
Пример 1 Соединение 7a	3'3'-RS- (2'βF-A) (2'βF-A)	>150
Ссылка	3'3'-RR- (G) (G)	75
Пример 3 соединение 17	3'3'-RR- (2'F-G) (2'F-G)	8
Пример 3 Соединение 17a	3'3'-RS- (2'F-G) (2'F-G)	>150
Ссылка	2'3'- (G) (A)	242
Ссылка	3'3'-RR (G) (A)	28
Пример 2 соединение 14	3'3'-RR- (2'F-G) (2'F-A)	3
Пример 2 Соединение 14a	3'3'-RS- (2'F-G) (2'F-A)	18
Пример 5 соединение 23	3'3'-RR- (2'F-G) (A)	15
Пример 5 Соединение 23a	3'3'-SR- (2'F-G) (A)	25
Пример 6 соединение 24	3'3'-RR- (G) (2'F-A)	13
Пример 6 Соединение 24a	3'3'-RS- (G) (2'F-A)	89
Пример 10 соединение 30	3'3'- (2'F-G) (2'F-A)	10
Пример 7 соединение 25	3'3'-RR- (2'F-iBuG) (2'F-BzA)	78
Пример 7 Соединение 25a	3'3'-RS- (2'F-iBuG) (2'F-BzA)	>150
Пример 8 соединение 26	3'3'-RR- (2'F-iBuG) (2'F-A)	23

Пример 15. Производные ди-F-CDN индуцируют опосредованный Т-клетками противоопухолевый иммунитет.

Для определения того, обладают ли молекулы-производные противоопухолевым иммунитетом, мышей линии C57BL/6 6-8 недель (8 мышей на группу) имплантировали клетки B16.S1Y (5×клеток в 100 мкл PBS). Мышей обрабатывали эталонным соединением 3'3'RR(A)(A) и ди-F-соединением 3'3'RR(2'FA) (2'FA) (5, 50, 100 мкг в общем объеме 40 мкл HBSS) или HBSS. Лечение началось, когда опухоли достиг-

ли объема приблизительно 100 мм³, на 9-й день после имплантации опухоли. Соединения CDN вводили подкожной инъекцией в центр опухоли (ИТ) с использованием иглы 27 калибра. У мышей брали кровь на 16-й день после имплантации опухоли и PBMC были выделены градиентом Ficoll (Miltenyi Biotech). 1×10⁵ PBMC предварительно инкубировали с моноклональным антителом против CD16/32 для блокирования потенциального неспецифического связывания и помечены пентамером PE-MHC класса I (Proimmune), состоящим из мышиного H-2Kb, комплексированного с SIYRYYYGL (SIY, SEQ ID NO: 16) пептид, анти-TCR β-AF700 (H57-597), анти-CD8-Pacific Blue (53-6,7), анти-CD4-Pacific Orange (RM4-5) (все антитела от BioLegend) и Fixable Viability Dye eFluor 450 (eBioscience). Окрашенные клетки анализировали с использованием цитометра FACS Versa с программным обеспечением FACSDiva (BD). Анализ данных проводился с помощью программного обеспечения FlowJo (Tree Star).

Как показано на фиг. 14A, в отличие от ОН-эталоны 3'3'-RR-(A)(A) соединение, все мыши, обработанные соединением 3'3'-RR-(2'FA)(2'FA), подавляло рост установленных меланом B16-SIY во всех дозах. Чтобы продемонстрировать, что эффект опосредуется адаптивными Т-клеточными иммунными ответами, 7 дней после ИТ-инъекции PBMC оценивали на процент специфичных к SIY CD8+Т-клеток с помощью проточной цитометрии. Как продемонстрировано на фиг. 14B, PBMC, выделенные из мышей, обработанных 5 мкг либо эталонным соединением ОН 3'3'-RR-(A)(A), либо ди-Ф-соединением 3'3'RR(2'FA)(2'FA) выявили значительные SIY-специфичные CD8+Т-клетки по сравнению с контрольной группой, обработанной HBSS (**P<0,01, t-критерий Стьюдента). Эти данные демонстрируют способность производного ди-Ф производного 3'3'RR(2'FA)(2'FA), чтобы вызывать опосредованную Т-клетками противоопухолевую иммунитет антиген-специфическим образом.

Пример 16. ди-Ф CDN Производные вызывают мощную противоопухолевую эффективность в различных моделях опухолей мыши.

Чтобы оценить способность фторированных производных соединений повышать противоопухолевый иммунитет в различных моделях опухолей мыши, опухолевые клетки имплантировали (в 100 мкл PBS) подкожно на нижней части спины 6-8-недельных мышей C57BL/6 самки. Лечение началось, когда опухоли достигли объема приблизительно 100 мм³, примерно на 14-й день после имплантации опухоли (см. таблицу ниже для типа опухоли, количества клеток и дня инъекции ИТ). Соединения CDN вводили ИТ-инъекцией (10 или 100 мкг в общем объеме 40 мкл HBSS) и повторяли каждые три дня в общей сложности тремя инъекциями. Соединения 3'3'-RR-(2'FA)2'F A) и 3'3'-RR-(2'FG)(2'FA) и контрольные мыши, которым давали только носитель (40 мкл HBSS), были дозированы. Опухоли измеряли два раза в неделю

Тип опухоли	Описание	# Имплантированные клетки	Дни CDN ИТ
B16.F10	B16 Меланома	5×10 ⁴	14, 17, 22
MC38	Карцинома толстой кишки	1×10 ⁵	10, 14, 18

Как продемонстрировано на фиг. 15A, в агрессивной модели меланомы B16.F10 3'3'RR(2'FA)(2'FA) и 3'3'RR(2'FG), (2'FA) индуцировали значительное ингибирование опухоли по сравнению с HBSS с 3'3'RR(2'FA)(2'FA), вызывая полную регрессию опухоли при дозе 100 мкг. В модели карциномы толстой кишки MC38, как показано на фиг. 15B, оба соединения вызывали полную регрессию опухоли при всех проверенных дозах по сравнению с контролем HBSS. Эти данные демонстрируют широкие противоопухолевые эффекты фторированных производных по различным опухолевым моделям.

Пример 17. Сравнительная иммуногенность ди-Ф-CDN-производных.

Чтобы определить, могут ли фторированные производные вызвать ВИЧ-специфичные ответы CD4+и CD8+Т-клеток, мышей BALB/c (n=4) иммунизировали подкожно 0 мкг (без CDN), 1 мкг или 5 мкг CDN, 2% squalene-and-water (AddaVax, Invivogen) с 5 мкг белка HIVgag p55. Через семь дней после вакцинации селезенки собирали у мышей и получали спленоциты. 2×10⁵ спленоцитов стимулировали в течение ночи в IFNγ анализ ELISPOT с использованием только одного носителя (нестимулированный) или с 1 мкМ специфических пептидов HIVgag p55 CD4+ и CD8+. IFNγ ELISPOT были разработаны и количественно определены с помощью планшетного ридера CTL и программного обеспечения ImmunoSpot. 3'3'RR(2'FA)(2'FA) и 3'3'RR(2'FG), (2'FA) оценивали на предмет их способности индуцировать иммунные ответы, специфичные для ВИЧ-инфекции.

Как показано на фиг. 6A, оба 3'3'RR(2'FA)(2'FA) и 3'3'RR(2'FG), (2'FA) молекулы способны вызывать значительные CD4+Т-клеточные ответы против HIVgag p55 по сравнению с группой контроля белков CDN AddaVax+(*P<0,05, **P<0,01, t-критерий Стьюдента). Как продемонстрировано на фиг. 16B, 3'3'RR(2'FG), (2'FA) также выявили значительные CD8+Т-клеточные ответы против HIVgag p55 по сравнению с отсутствующей контрольной группой CDN (*P<0,05, t-критерий Стьюдента). Эти данные демонстрируют способность фторированных соединений действовать как мощные адъюванты в установке вакцины против соответствующего иммуногена.

Пример 18. Связывание моно- и ди-Ф-CDN с hSTING WT.

Связывание моно- и ди-Ф CDN-соединений оценивали с использованием Surface Plasmon Resonance

для определения константы связывания. Была подготовлена экспрессирующая конструкция E.coli (человеческий STING [E149-S379] H232R), содержащая последовательность белка

```
MSGLNDIFEAQKIEWHEEKGNFNVANGLAWSYYIGYLRLLPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVS
QRLYIILLPLDCGVPDNLSPADPNIRFLDKLPQQTGDRAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVL
EYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSF
SLSQEVLRHLRQEEKEEVTGSLKTSAPVSTSTMSQEPPELLISGMEKPLPLRTDFSLENNNNNNH
(SEQ ID NO: 17)
```

Экспрессию человеческого-STING [E149-S379] H232R в E.coli индуцировали при 18°C и затем белок очищали, используя как аффинную хроматографию на никеле, так и хроматографию с исключением размеров. Аликвоты готовили и хранили при -80°C в 30 mM Tris pH 7,5/100 mM NaCl/10% глицерина.

N-концевой avi-маркированный человеческий-STING (E149-S379) H232R-белок был иммобилизован (~2500 RU) на чипе стрептавидина при 15°C в Biacore T200 (GE Healthcare). Титрование циклических динуклеотидов (CDN, как указано в табл. 6) в 30 mM Tris pH 7,5/50 mM NaCl/0,005% Tween 20/1 mM DTT/2% ДМСО профилировали (30 мкл/мин, 180 с для контакта с образцом/120 с для диссоциации) против hSTING при 15°C. Кинетический анализ данных проводился с использованием программного обеспечения Biacore T200 Evaluation. Устойчивый анализ данных выполнялся с использованием программного обеспечения Graphpad Prism 6.0 с использованием одного алгоритма привязки к конкретному сайту (уравнение $Y = B_{max} \cdot X / (K_d + X)$). K_d (единицы микромоляра) приведены в следующей табл. 6.

Таблица 6. K_d для моно- и ди-F CDN, измеренных поверхностным плазмонным резонансом

Пример/Соединение	Название соединения	K_d (мкМ)
Ссылка	3'3'-(2'F-A) (2'F-A)	0,011
Пример 1 соединение 6	3'3'-RR-(2'F-A) (2'F-A)	0,001
Пример 1 Соединение 6a	3'3'-RS-(2'F-A) (2'F-A)	0,029
Пример 4 соединение 22	3'3'-RR-(A) (2'F-A)	1,282
Пример 2 соединение 14	3'3'-RR-(2'F-G) (2'F-A)	0,093
Пример 2 Соединение 14a	3'3'-RS-(2'F-G) (2'F-A)	0,098
Пример 5 соединение 23	3'3'-RR-(2'F-G) (A)	0,311
Пример 6 соединение 24	3'3'-RR-(G) (2'F-A)	0,037
Пример 6 Соединение 24a	3'3'-RS-(G) (2'F-A)	0,684

Специалист в данной области легко понимает, что данное изобретение хорошо адаптировано для реализации объектов и получения упомянутых результатов и преимуществ, а также присущих им. Приведенные в данном документе примеры являются типичными предпочтительными вариантами реализации, являются иллюстративными и не предназначены для ограничения объема изобретения.

Следует понимать, что изобретение не ограничено в применении к деталям конструкции и устройствам компонентов, изложенным в нижеследующем описании или показанном на фигурах. Изобретение способно воплощать в дополнение к описанным и практическим методам и осуществляется различными способами. Кроме того, следует понимать, что используемая в документе фразеология и терминология, а также реферат предназначены для описания и не должны рассматриваться как ограничивающие.

Таким образом, специалисты в данной области поймут, что концепция, на которой основано это раскрытие, может быть легко использована в качестве основы для проектирования других структур, способов и систем для реализации нескольких целей данного изобретения. Поэтому важно, чтобы эти заявления рассматривались как включающие такие эквивалентные конструкции, поскольку они не отступают от сущности и объема данного изобретения.

Хотя изобретение было описано и приведено в качестве примера для специалистов в данной области техники, чтобы сделать и использовать его, различные варианты, модификации и улучшения должны быть очевидными без отклонения от сущности и объема изобретения. Приведенные в данном документе примеры являются типичными предпочтительными вариантами реализации, являются иллюстративными и не предназначены для ограничения объема изобретения. Модификации в этом и другие применения будут иметь место для специалистов в данной области техники. Эти модификации охватываются сущностью изобретения и определяются объемом формулы изобретения.

Специалисту в данной области техники будет очевидно, что различные изменения и модификации могут быть внесены в раскрытое в данном документе изобретение без отхода от объема и сущности изобретения.

Все патенты и публикации, упомянутые в описании, указывают на уровень специалистов в данной области техники, к которым относится изобретение. Все патенты и публикации включены в данное опи-

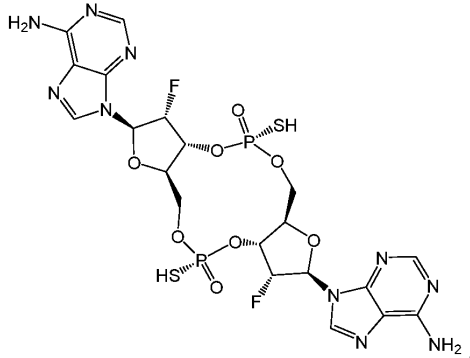
сание посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация была конкретно и индивидуально указана для включения в качестве ссылки.

Изобретение, иллюстративно описанное в данном документе, подходящим образом может быть осуществлено на практике в отсутствие любого элемента или элементов, ограничений или ограничений, которые конкретно не описаны в данном документе. Таким образом, например, в каждом случае в данном документе любой из терминов "содержащий", "состоящий в основном из" и "состоящий из" может быть заменен любым из двух других терминов. Используемые термины и выражения используются как термины описания, а не ограничения, и нет намерения в том, что при использовании таких терминов и выражений исключения любых эквивалентов показанных и описанных признаков или их частей, но это указывает на то, что возможны различные модификации в объеме изобретения. Таким образом, следует понимать, что, хотя данное изобретение было конкретно раскрыто в предпочтительных вариантах реализации и необязательных функциях, модификация и изменение раскрытых в данном документе понятий могут быть применены специалистами в данной области и что такие модификации и вариации рассматриваются входящие в объем данного изобретения, как определено прилагаемой формулой изобретения.

Другие варианты реализации изложены в следующей формуле изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее структуру



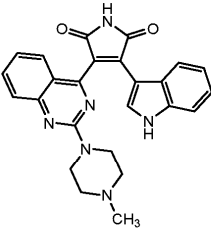
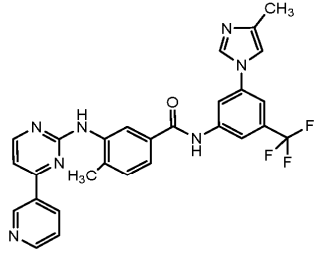
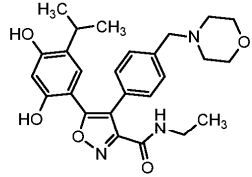
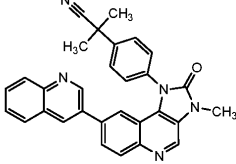
или его фармацевтически приемлемая соль.

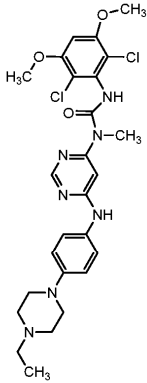
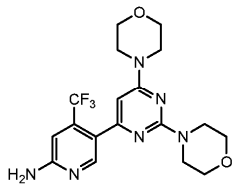
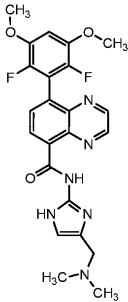
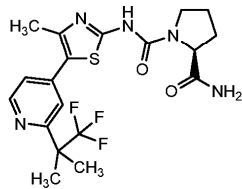
2. Соединение по п.1, отличающееся тем, что соединение представляет собой его натриевую, калиевую, кальциевую, магниевую, цинковую, алюминиевую, аммониевую, диэтиламинную, оламинную, бензатиновую, бенетаминовую, трометаминную (2-амино-2-(гидроксиэтил)пропан-1,3-диоловую), морфолиновую, эполаминную, пиперидиновую, пиколиновую, дициклогексиламинную, N,N'-дибензилэтилендиаминную, 2-гидроксиэтиламинную, три-(2-гидроксиэтил)аминную, хлорпрокаинную, холиновую, деаноловую, имидазоловую, диэтаноламинную, этилендиаминную, меглуминовую (N-метилглюкаминную), прокаинную, dibenzилпиперидиновую, дегидроабетиламинную, глюкаминную, коллидиную, хининовую, хинолоновую, эрбуминовую, лизиную или аргининовую соль.

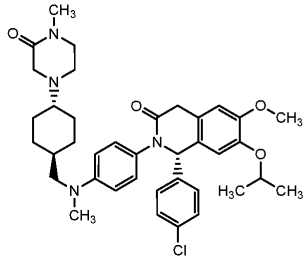
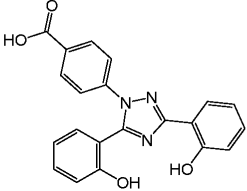
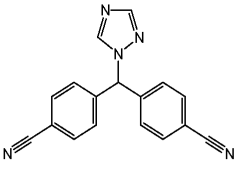
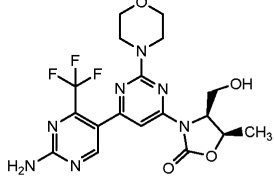
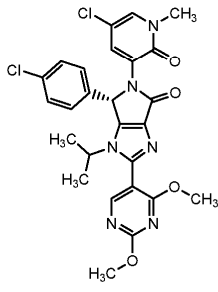
3. Соединение по п.1, отличающееся тем, что соединение представляет собой его натриевую соль.

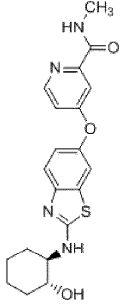
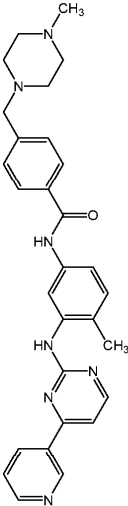
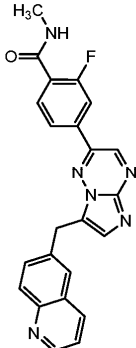
4. Фармацевтическая композиция, обладающая способностью модулировать иммунные реакции, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по любому из пп.1-3, и фармацевтически приемлемый наполнитель.

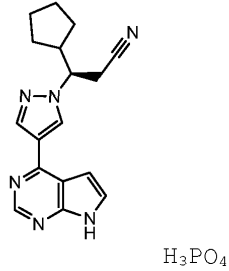
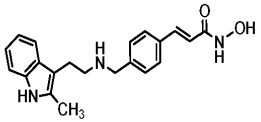
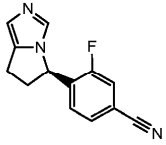
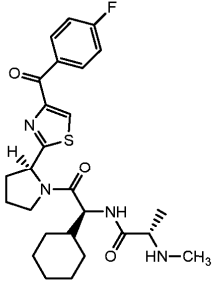
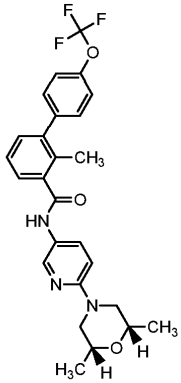
5. Фармацевтическая композиция, обладающая способностью модулировать иммунные реакции, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по любому из пп.1-3, другое терапевтическое средство и фармацевтически приемлемый наполнитель, где другое терапевтическое средство выбрано из следующих:

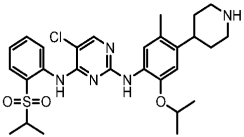
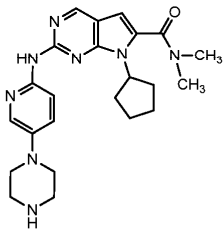
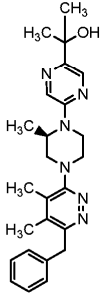
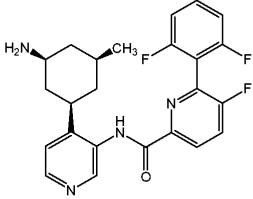
Обозначение соединения/ Название дженерика	Структура соединения
A1 Сотрастаурин	
A2 Моногидрат нилотиниба HCl TASIGNA®	 HCl • H₂O
A3	
A4 Дактолисиб	

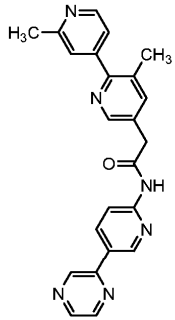
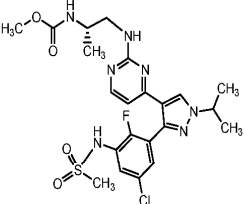
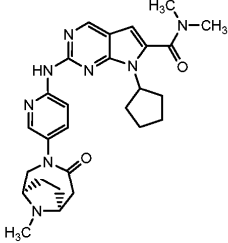
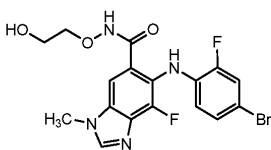
A5	
A6 Бупарлисиб	
A7	
A8	
A9 Ингибитор CYP17	

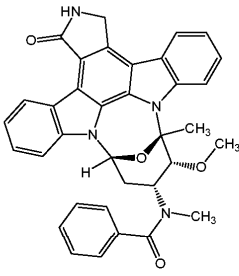
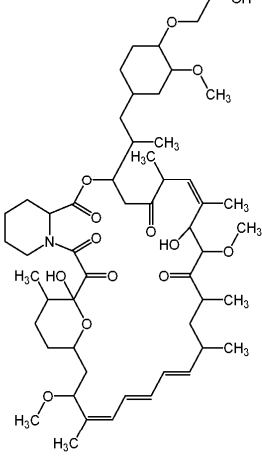
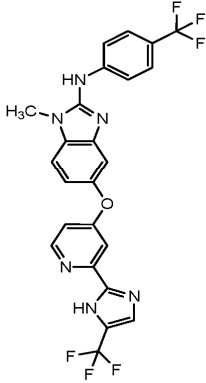
A10	
A11 деферазирокс EXJADE®	
A12 летрозол FEMARA®	
A13	
A14	

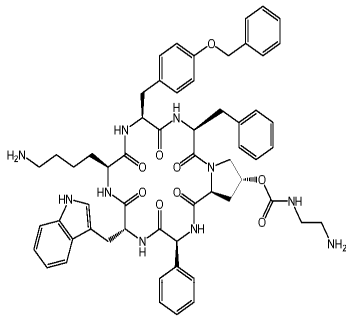
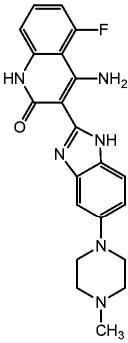
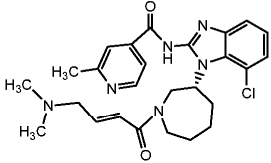
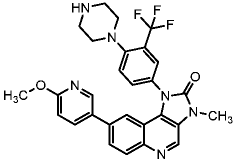
A15	
A16 Иматиниб мезилат GLEEVEC®	 мезилат
A17	 дихлористоводородная соль

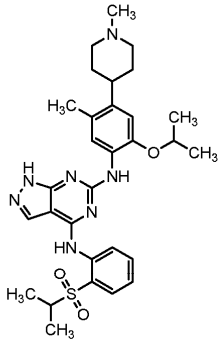
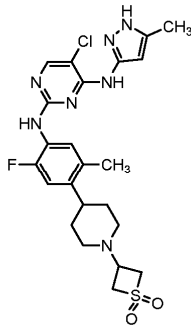
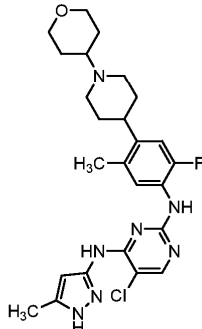
A18 Фосфат руксолитиниб JAKAFI®	 H_3PO_4
A19 Панобиностат	
A20 Озилодростат	
A21	
A22 Фосфат Sonidegib	

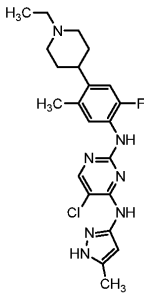
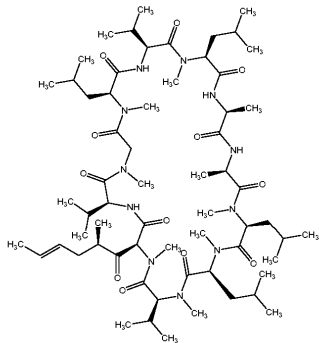
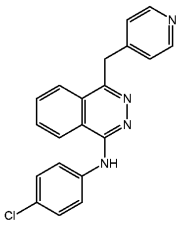
A23 Церитиниб ZYKADIA™	
A24	
A25	
A26	Моноклональное антитело человека к PRLR
A27	

A28	
A29 энкорафениб	
A30	
A31	Моноклональное антитело человека к HER3
A32	Конъюгат лекарственного средства для антител (АЦП)
A33	Моноклональное антитело или Fab фрагмент к M-CSF.
A34 Биниметиниб	

A35 Мидостаурин	
A36 Эверолимус AFINITOR®	
A37	

A38 Диаспартат пасиреотида SIGNIFOR®	
A39 Довитиниб	
A40	
A41	

A42	 Chemical structure of a complex molecule. It features a pyrimidine ring system substituted with a piperidine ring (with a methyl group on the nitrogen), a tert-butyl group, and a sulfonamide group (with a phenyl ring and a tert-butyl group on the sulfonamide nitrogen).
A43	 Chemical structure of a complex molecule. It features a pyrimidine ring system substituted with a piperidine ring (with a sulfonamide group on the nitrogen), a fluorine atom, a methyl group, and a sulfonamide group (with a phenyl ring and a tert-butyl group on the sulfonamide nitrogen).
A44	 Chemical structure of a complex molecule. It features a pyrimidine ring system substituted with a piperidine ring (with a morpholine ring on the nitrogen), a fluorine atom, a methyl group, and a sulfonamide group (with a phenyl ring and a tert-butyl group on the sulfonamide nitrogen).

A45	
A46 Вальсподар AMDRA TM	
A47 Сукцинат ваталаниб	 сукцинат
A48	Ингибитор IDH
A49	Ингибитор BCR-ABL
A50	Ингибитор cRAF
A51	Конкурентный ингибитор ERK1/2 ATP

6. Способ лечения индивидуума, страдающего от рака, включающий непарентеральное или парентеральное введение индивидууму эффективного количества соединения по любому из пп.1-3.

7. Способ по п.6, отличающийся тем, что способ дополнительно включает назначение индивидууму одной или нескольких дополнительных терапий для лечения рака, которые выбраны из группы, состоящей из лучевой терапии, хирургии, химиотерапии или иммунотерапии.

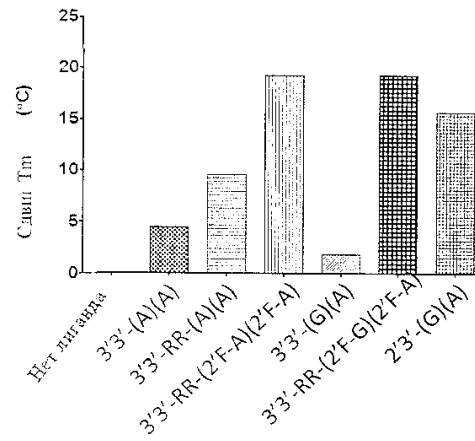
8. Способ по п.7, отличающийся тем, что одна или несколько дополнительных терапий для лечения рака включает введение ингибитора иммунной контрольной точки.

9. Способ по п.8, отличающийся тем, что ингибитор иммунной контрольной точки выбран из группы, состоящей из антагониста пути CTLA-4, антагониста пути PD-1, антагониста пути Tim-3, антагониста пути Vista, антагониста пути BTLA, антагониста пути LAG-3 и антагониста пути TIGIT.

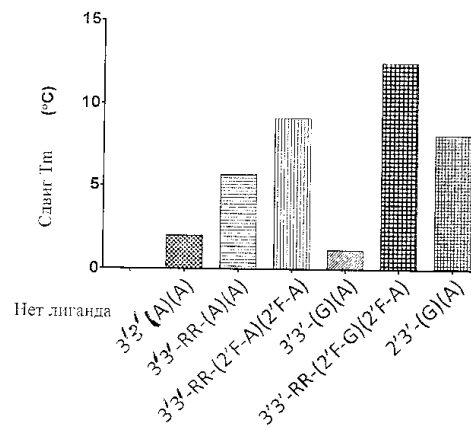
10. Способ лечения заболевания у индивидуума, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму: i) эффективного количества соединения по любому из пп.1-3; и ii) эффективного количества одного или нескольких терапевтических антител, которые индуцируют антителозависимую клеточную цитотоксичность, при этом заболевание выбирают из группы, состоящей из рака, острого отторжения трансплантата органа, сахарного диабета I типа, ревматоидного артрита, псориаза, болезни Крона, рестеноза и аллергической астмы.

11. Применение соединения по любому из пп.1-3 при лечении рака.

12. Применение соединения по любому из пп.1-3 при лечении заболевания, выбранного из группы, состоящей из рака, острого отторжения трансплантата органа, сахарного диабета I типа, ревматоидного артрита, псориаза, болезни Крона, рестеноза и аллергической астмы.



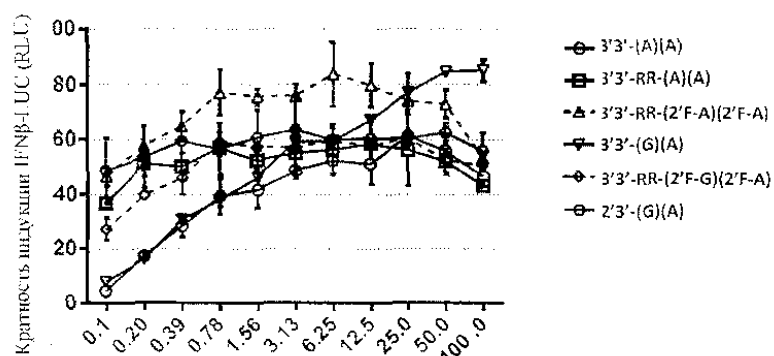
Фиг. 2



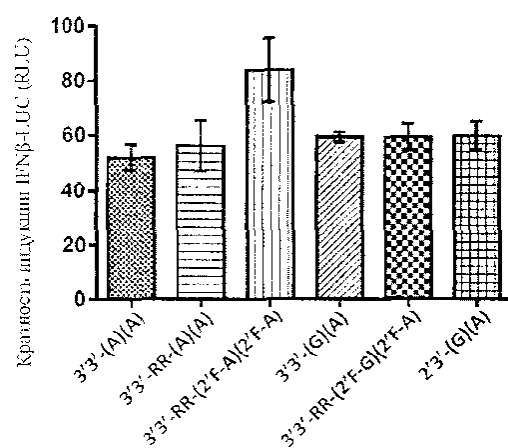
Фиг. 3

1 mphsslhpsi pprghgaqk aalvlsaci vtlwglgepp ehtlylvh lasqlglll
61 ngveslaeel rhihsryrgs ywrtvracg eplrrgalll lsiyfyyslp navgppftwm
121 lallglsqal nilgikgla pacisavcek gnfnvahgla wsyyigyrl ilpelqarir
181 tynqhynnll rgavsqrlyi llpldcgvpd nlsmadpnir fldklpqqtg dhagikdrvy
241 snsiyellen gqragtevlr yatplqlfa msqysqagfs redrlaqakl fertledila
301 dapesqnmr liayqepadd ssfslsqevl rhlrqeekee vtvgslktsa vpsstmsqce
361 pellismek plplrtdfs (SEQ ID NO: 1)

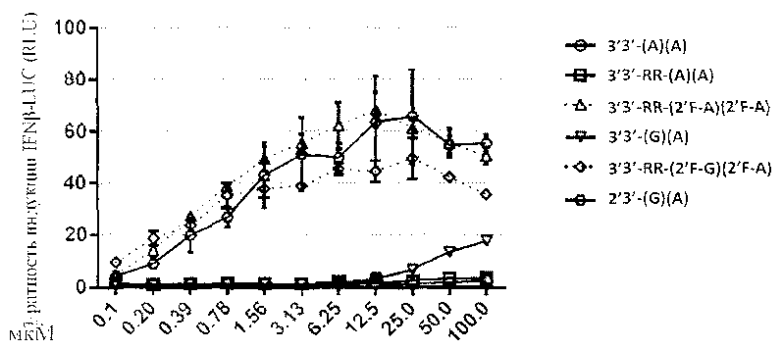
Фиг. 4



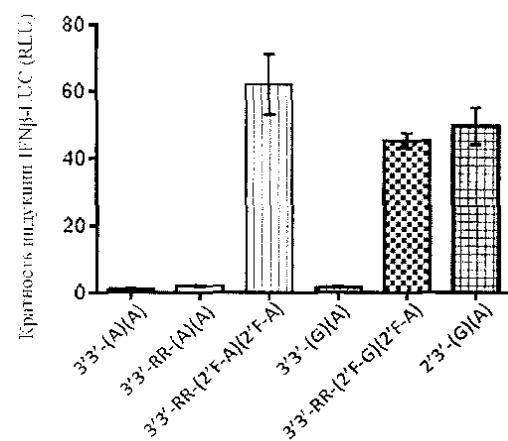
Фиг. 5А



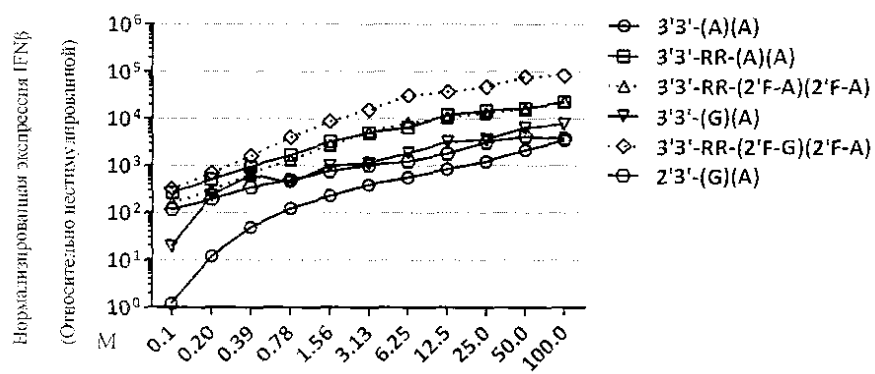
Фиг. 5В



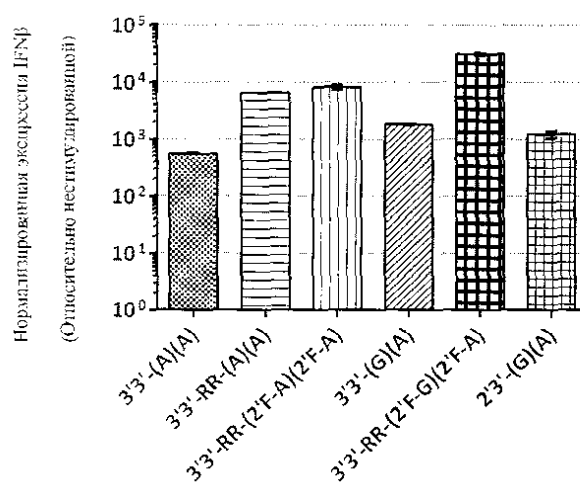
Фиг. 6А



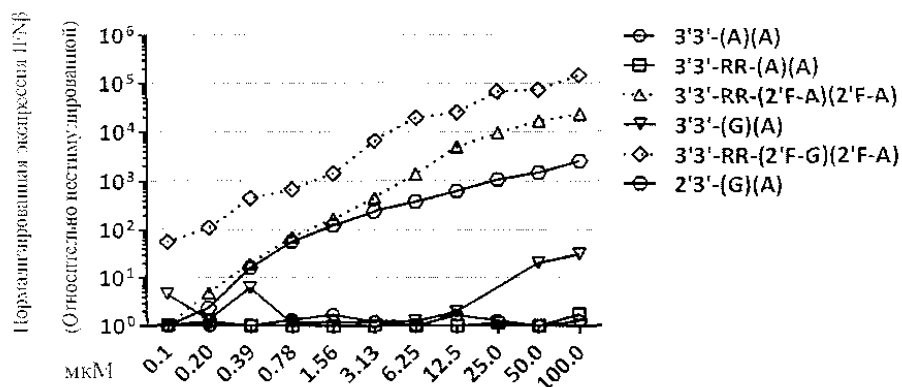
Фиг. 6В



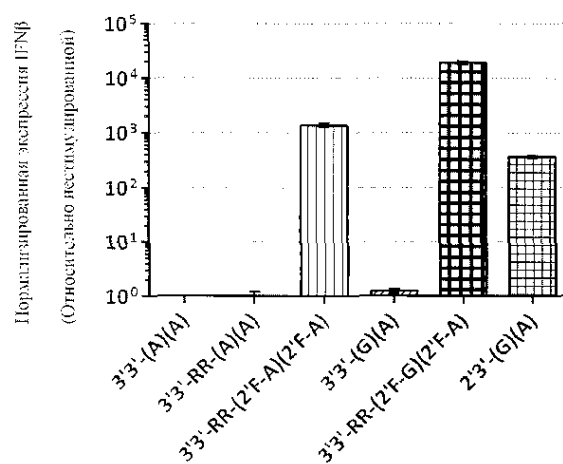
Фиг. 7А



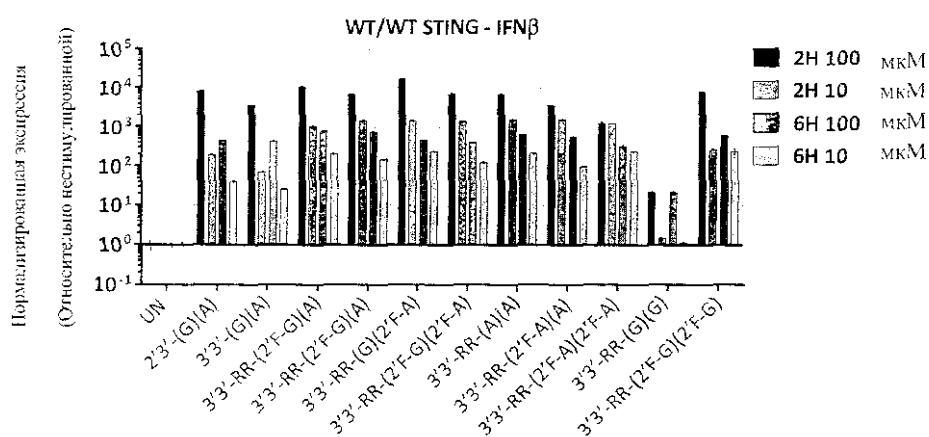
Фиг. 7В



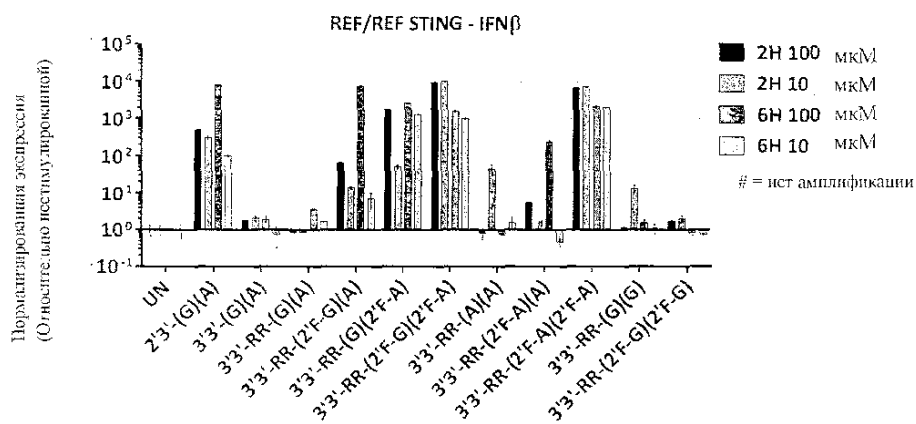
Фиг. 8А



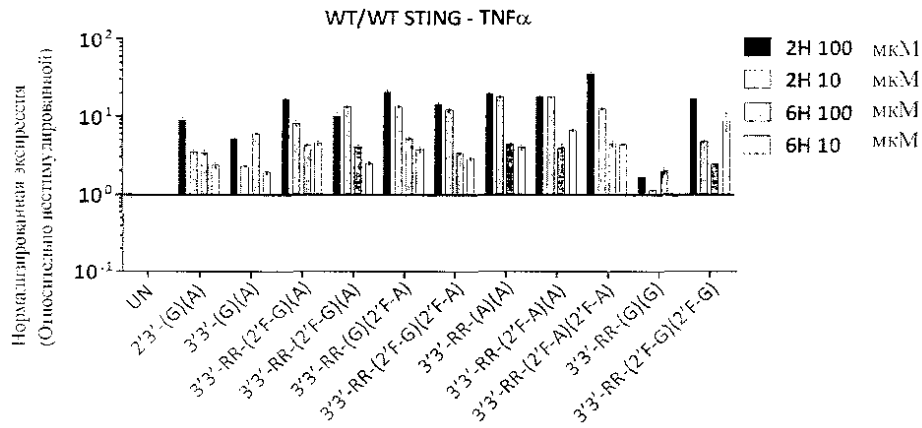
Фиг. 8B



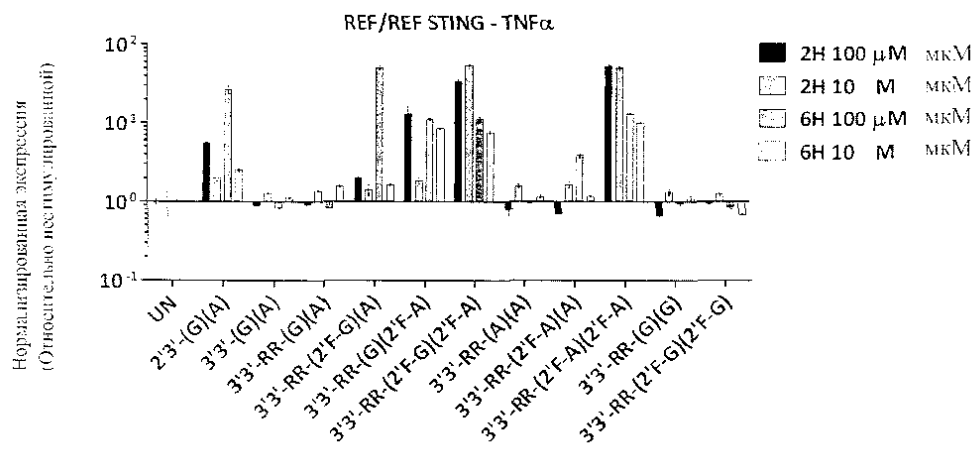
Фиг. 9A



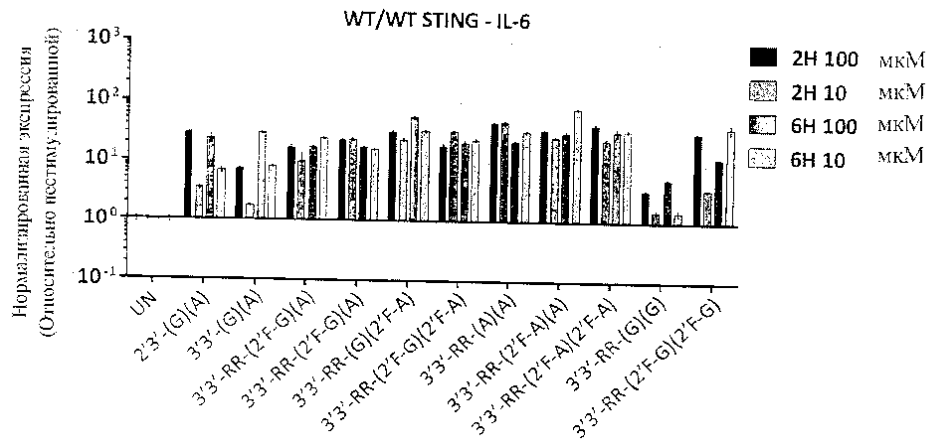
Фиг. 9B



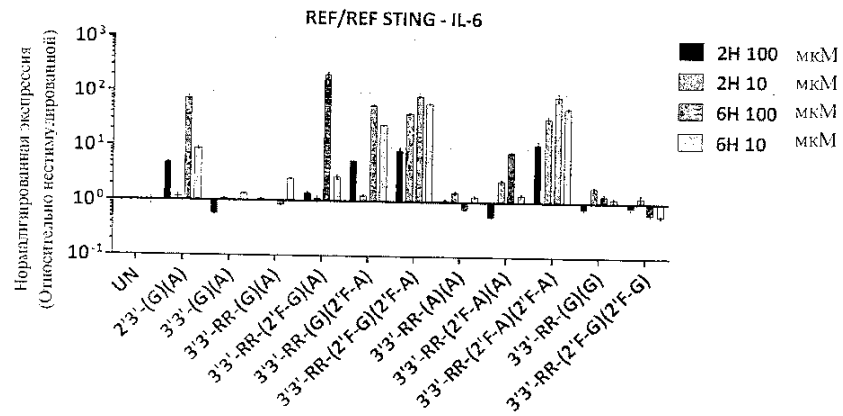
Фиг. 10A



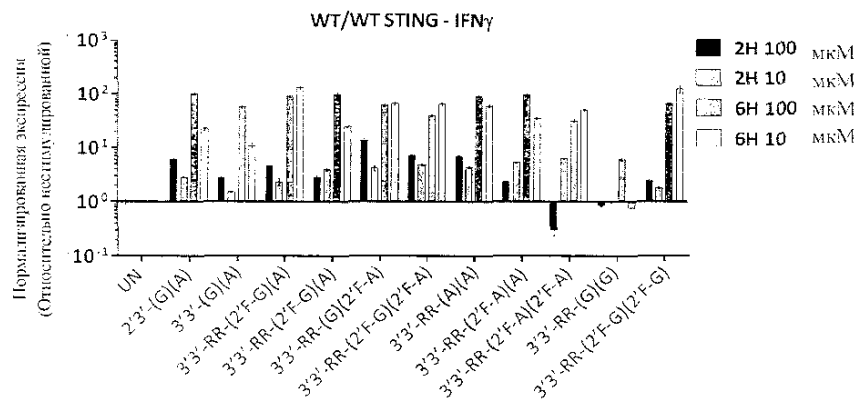
Фиг. 10B



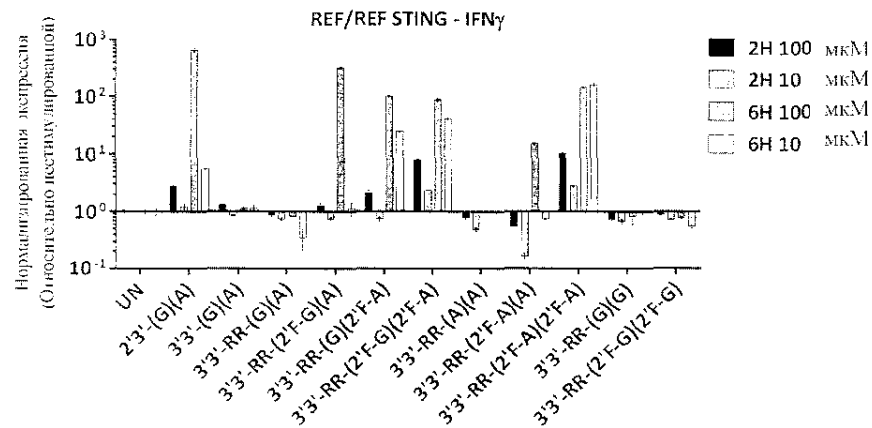
Фиг. 11A



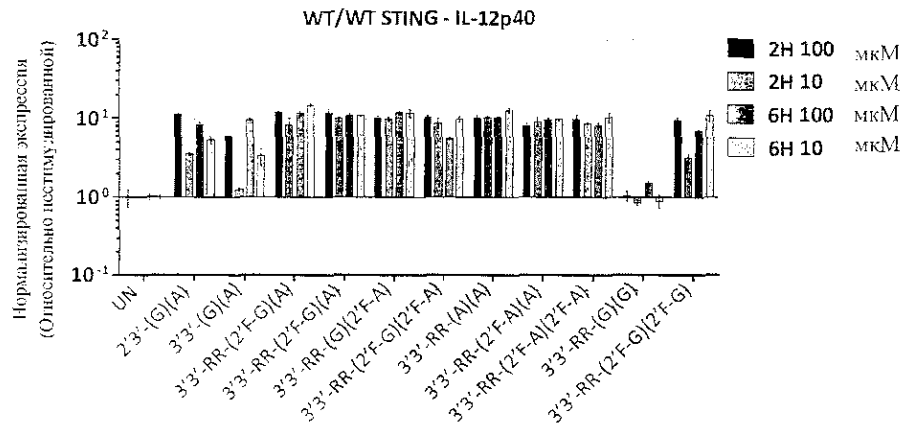
Фиг. 11В



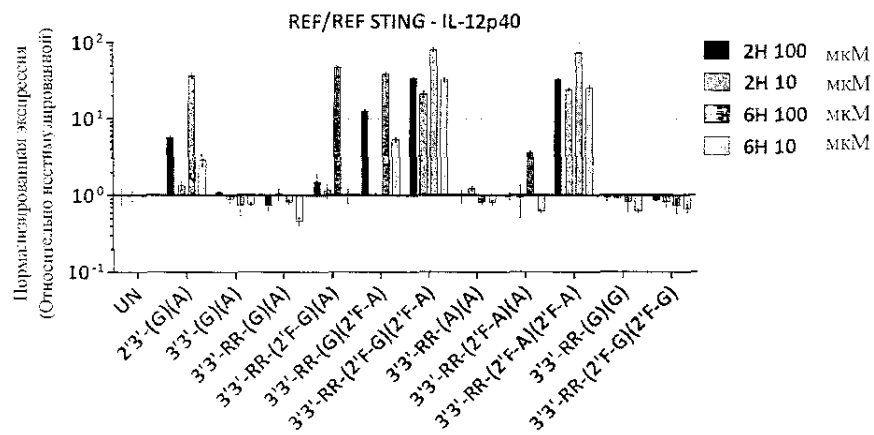
Фиг. 12А



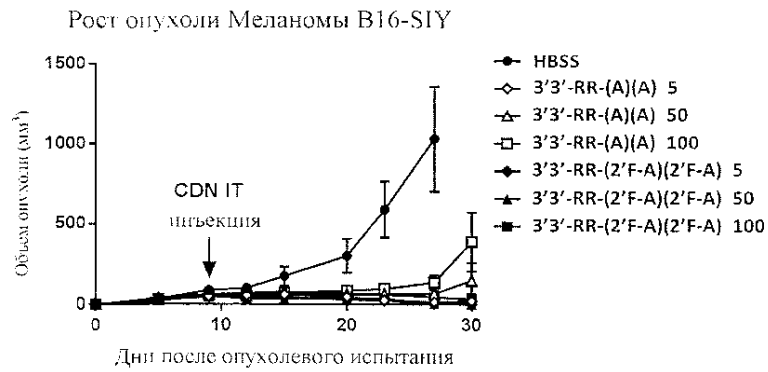
Фиг. 12В



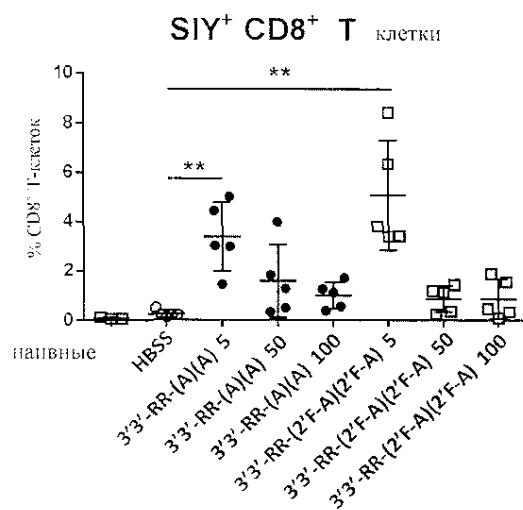
Фиг. 13А



Фиг. 13В

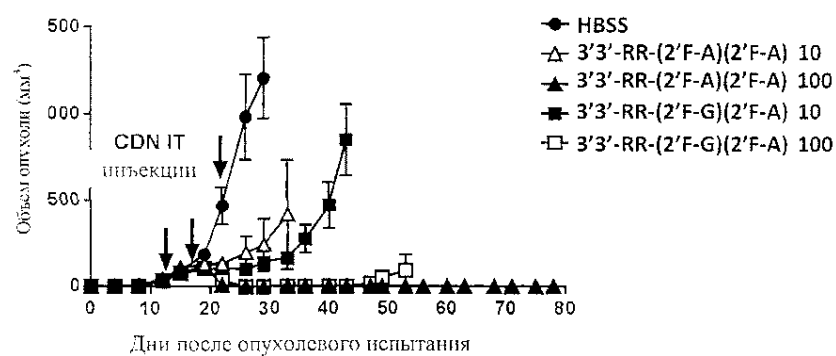


Фиг. 14А



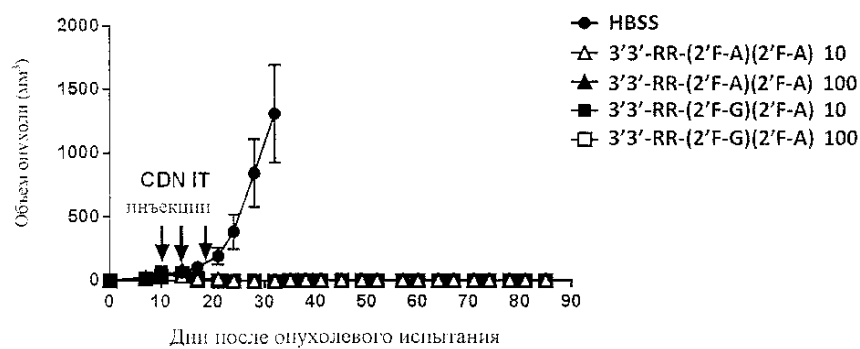
Фиг. 14B

Рост опухоли Меланомы B16

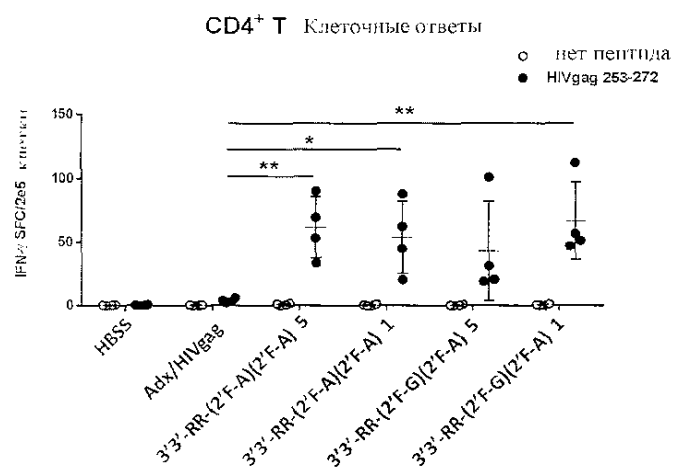


Фиг. 15A

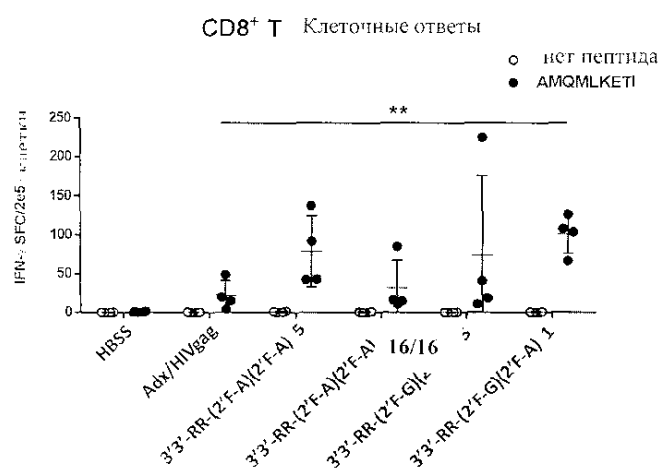
Рост опухоли карциномы толстого кишечника MC38



Фиг. 15B



Фиг. 16А



Фиг. 16В



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2