

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202390094 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.04.25

(22) Дата подачи заявки
2021.06.25

(51) Int.Cl. A61K 31/4164 (2006.01) A61K 31/433 (2006.01)
A61K 31/4168 (2006.01) A61K 31/5377 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01) A61K 31/41 (2006.01)
A61K 31/4178 (2006.01) A61K 31/422 (2006.01)
A61K 31/497 (2006.01) A61K 31/4192 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01) A61K 31/4184 (2006.01)
A61K 31/501 (2006.01) A61K 31/541 (2006.01)
A61K 31/4245 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/427 (2006.01) A61P 35/02 (2006.01)
A61K 31/4196 (2006.01) A61P 35/04 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01) A61K 31/7072 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)

(54) КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ИНГИБИТОРАМИ
ДЕЗОКСИУРИДИНТРИФОСФАТАЗЫ

(31) 63/044,926

(32) 2020.06.26

(33) US

(86) PCT/US2021/039248

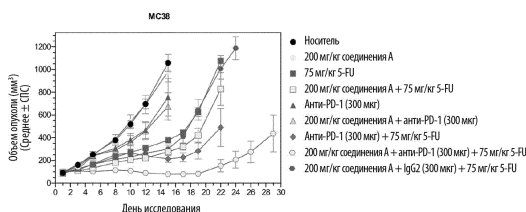
(87) WO 2021/263205 2021.12.30

(71) Заявитель:
СВ6 ТЕРАПЬЮТИКС (НАЙ)
ЛИМИТЕД (GB)

(72) Изобретатель:
Маллиган Карл Эндрю, Уилсон Питер
Майкл, Уилсон Мелисса Дж ЛаБонте,
Лэднер Роберт Д. (GB)

(74) Представитель:
Хмара М.В. (RU)

(57) В изобретении предложены способы повышения терапевтической эффективности иммунотерапевтического агента у нуждающегося в этом субъекта и способы лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, при этом способы включают введение субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы и иммунотерапевтического агента, и необязательно дополнительно включают введение субъекту одного или более из эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.



A1

202390094

202390094

A1

КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ИНГИБИТОРАМИ ДЕЗОКСИУРИДИНТРИФОСФАТАЗЫ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

5 **[0001]** Настоящая заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США № 63/044926 по 35 U.S.C. 119(e), поданной 26 июля 2020 г., которая явным образом в полном объеме включена в данный документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

10 **[0002]** Настоящее изобретение, в некоторых аспектах, относится к области комбинированной терапии ингибиторами дезоксиуридинтрифосфатазы с другими активными агентами для лечения рака.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

15 **[0003]** В одном аспекте в данном документе представлены способы повышения терапевтической эффективности иммунотерапевтического агента у нуждающегося в этом субъекта, включающие, или состоящие преимущественно из, или состоящие из введения субъекту некоторого количества ингибитора дезоксиуридинтрифосфатазы (дУТФазы) и иммунотерапевтического агента. В
20 одном аспекте некоторое количество представляет собой эффективное количество, например, терапевтически эффективное количество.

25 **[0004]** В другом аспекте в данном документе представлены способы лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающие, или состоящие преимущественно из, или состоящие из введения субъекту некоторого количества ингибитора дУТФазы и эффективного количества иммунотерапевтического агента. В одном аспекте некоторое количество представляет собой эффективное количество, например, терапевтически эффективное количество.

30 **[0005]** В другом аспекте в данном документе представлены способы ингибирования роста раковой клетки, включающие, или состоящие преимущественно из, или состоящие из приведения клетки в контакт с некоторым количеством ингибитора дУТФазы и эффективным количеством иммунотерапевтического агента. В одном аспекте некоторое количество
35 представляет собой эффективное количество, например, терапевтически эффективное количество.

[0006] В другом аспекте в данном документе представлены способы одного или более из:

- a. стимуляции высвобождения цитоплазматической ДНК в раковой клетке;
- b. снижения экспрессии или активности молекулы ингибирующей иммунной контрольной точки (такой как PD-L1) в раковой клетке, которая экспрессирует молекулу ингибирующей иммунной контрольной точки;
- c. повышения экспрессии или активности молекулы стимулирующей иммунной контрольной точки в раковой клетке, которая экспрессирует молекулу стимулирующей иммунной контрольной точки;
- d. индукции высвобождения или экспрессии белка ассоциированного с повреждением молекулярного паттерна (DAMP) из раковой клетки,

при этом способы включают, или состоят преимущественно из, или состоят из приведения раковой клетки в контакт с некоторым количеством ингибитора дУТФазы; и одним или более из эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II. В одном аспекте некоторое количество представляет собой эффективное количество, например, терапевтически эффективное количество.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0007] На **Фиг. 1** проиллюстрирована противоопухолевая эффективность соединения А в комбинации с 5-FU и антителом к PD-1 в мышинной сингенной модели рака толстой кишки MC38 в течение 29-дневного исследования. Данные представлены как средний объем опухоли $\pm$ СПС. Результаты для каждой группы останавливаются на дне удаления из исследования первого животного для этого варианта обработки, когда был достигнут максимально допустимый объем опухоли $1000 \text{ мм}^3 \pm 50 \text{ мм}^3$. Однофакторный ANOVA в день 19 и день 22 = $p < 0,0001$ с критерием множественного сравнения Тьюки: $p < 0,05$ и $0,001$, когда соединение А + 5-FU + анти-PD-1 сравнивают с 5-FU + анти-PD-1 в день 19.

[0008] На **Фиг. 2** проиллюстрирован объем отдельной опухоли для каждого животного ($n = 8$) в рамках каждой группы обработки для сингенной модели рака толстой кишки MC38 в течение 29-дневного исследования. Результаты для каждого животного останавливаются на дне удаления животного из исследования, когда был достигнут максимально допустимый объем опухоли $1000 \text{ мм}^3 \pm 50 \text{ мм}^3$. *Включает одну полную регрессию; †Включает четыре гистопатологически подтвержденных полных ответов

[0009] На Фиг. 3 проиллюстрирована масса тела мышей в граммах (среднее $\pm$ СПС) среди всех групп обработки в мышинной сингенной модели рака толстой кишки MC38 в течение исследования. В дни 16–26 число животных на группу менялось вследствие того, что животные достигали максимально допустимого объема опухоли и были удалены из исследования. Однофакторный ANOVA $p =$ н/з. Не было зарегистрировано статистически значимой разницы между средними значениями по каждой группе обработки вплоть до дня 16, когда все животные были в исследовании.

[0010] На Фиг. 4 проиллюстрирован гистопатологический анализ образцов опухолей в отношении фиброза и содержания опухоли после обработки в мышинной сингенной модели рака толстой кишки MC38. На графиках показано среднее $\pm$ СПС процентное содержание опухоли и фиброза для сингенных опухолей толстой кишки MC38, удаленных в день 10. Однофакторный ANOVA в день 10 = $p < 0,0001$; критерий множественного сравнения для фиброза: носитель в сравнении с соединением А + 5-FU + анти-PD-1 *** $p = < 0,001$; критерий множественного сравнения для содержания опухоли: носитель в сравнении с соединением А + 5-FU + анти-PD-1 *** $p = < 0,001$.

[0011] На Фиг. 5 проиллюстрирован иммуногистохимический анализ образцов опухолей, демонстрирующий повышенную инфильтрацию CD8+ Т-клеток после обработки соединением А + 5-FU и антителом к PD-1 в день 10 в мышинной сингенной модели рака толстой кишки MC38. На графиках показана средняя $\pm$ СПС внутриопухолевая плотность CD8+ положительных Т-клеток на мм² для сингенных опухолей толстой кишки MC38, удаленных в день 10, в каждой группе обработки. Однофакторный ANOVA в день 10 = *** $p < 0,001$; критерий множественного сравнения для CD8⁺: 5-FU + анти-PD-1 в сравнении с соединением А + 5-FU + анти-PD-1 **** $p = < 0,0001$.

[0012] На Фиг. 6 проиллюстрирован иммуногистохимический анализ образцов опухолей, демонстрирующий повышенную инфильтрацию CD4+ Т-клеток после обработки соединением А + 5-FU и антителом к PD-1 в день 10 в мышинной сингенной модели рака толстой кишки MC38. На графиках показана средняя $\pm$ СПС внутриопухолевая плотность CD4+ положительных Т-клеток на мм² для сингенных опухолей толстой кишки MC38, удаленных в день 10, в каждой группе обработки. Однофакторный ANOVA в день 10 = **** $p < 0,0001$; критерий множественного сравнения для CD4⁺: 5-FU + анти-PD-1 в сравнении с соединением А + 5-FU + анти-PD-1 ** $p = < 0,01$.

[0013] На Фиг. 7 проиллюстрирован иммуногистохимический анализ образцов опухолей, демонстрирующий повышенную инфильтрацию CD3+ иммунных клеток после обработки соединением А + 5-FU и антителом к PD-1 в день 10 в мышинной сингенной модели рака толстой кишки MC38. На графиках показана средняя $\pm$ СПС внутриопухолевая плотность CD3+ положительных иммунных клеток на мм² для сингенных опухолей толстой кишки MC38, удаленных в день 10, в каждой группе обработки. Однофакторный ANOVA в день 10 = $p < 0,05$; критерий множественного сравнения для CD3+: носитель в сравнении с соединением А + 5-FU + анти-PD-1 ** $p = < 0,01$.

[0014] На Фиг. 8 проиллюстрирован иммуногистохимический анализ образцов опухолей, демонстрирующий повышенную инфильтрацию CD45+ иммунных клеток после обработки соединением А + 5-FU и антителом к PD-1 в день 10 в мышинной сингенной модели рака толстой кишки MC38. На графиках показана средняя $\pm$ СПС внутриопухолевая плотность CD45+ положительных иммунных клеток на мм² для сингенных опухолей толстой кишки MC38 ($n = 4$), удаленных в день 10, в каждой группе обработки. Однофакторный ANOVA в день 10: $p = 0,06$; критерий множественного сравнения для CD45+ в день 10: носитель в сравнении с соединением А + 5-FU + анти-PD-1 * $p = < 0,05$.

[0015] На Фиг. 9 проиллюстрирован объем опухолей в течение 10-дневного исследования в мышинной сингенной модели рака толстой кишки MC38. Данные представлены как среднее $\pm$ СПС с $n = 8$ животными в день 4 и $n = 4$ животными в день 10 (первую группу для анализа биомаркеров умерщвляли в день 4). Однофакторный ANOVA в день 4: $p < 0,001$ и день 10: $p < 0,0001$. Критерий множественного сравнения Тьюки для носителя в сравнении с соединением А + 5-FU + анти-PD-1 в день 4: $p < 0,001$ и день 10: $p < 0,001$.

[0016] На Фиг. 10 проиллюстрирована масса тела мышей среди всех групп обработки в мышинной сингенной модели рака толстой кишки MC38. На графиках показана средняя $\pm$ СПС масса тела в граммах для каждой группы обработки для сингенной модели рака толстой кишки MC38 в течение исследования. Данные представлены как среднее $\pm$ СПС с $n = 8$ животными в день 4 и $n = 4$ животными в день 10 (первую группу для анализа биомаркеров умерщвляли в день 4). Однофакторный ANOVA $p = n/z$ в день 4 и день 10.

[0017] На Фиг. 11 проиллюстрирован вестерн-блоттинг для измерения общей экспрессии PD-L1, демонстрирующий, что соединение А блокирует FUDR-опосредованную индукцию PD-L1 и приводит к снижению экспрессии PD-L1 в линиях клеток меланомы, рака молочной железы, рака толстой кишки,

немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) и рака поджелудочной железы. Линии раковых клеток обрабатывали контролем носителем, 12,5 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR и комбинацией 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR. Экспрессию PD-L1 измеряли через 12 и 24 часов после исследования. Меланома, MeWo; рак молочной железы, MCF-7; рак толстой кишки, HCT116; НМРЛ, H460 и рак поджелудочной железы, PANC-1. Бета-актин является дополнительным белком, который использовали для контроля общей белковой нагрузки.

[0018] На Фиг. 12 проиллюстрирована клеточная поверхностная экспрессия PD-L1, зарегистрированная методом проточной цитометрии в клетках рака поджелудочной железы PANC-1 и рака молочной железы MCF-7, обработанных соединением А, FUdR и комбинацией соединения А и FUdR. Интерферона гамма (IFN- γ) использовали в качестве положительного контроля, который, как известно, стимулирует клеточную поверхностную экспрессию PD-L1 в клетках PANC-1. Значения процентной доли положительной популяции и медианной интенсивности флуоресценции измеряли и анализировали в Microsoft Excel и GraphPad Prism 6. Статистический анализ состоял из однофакторного ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки.

[0019] На Фиг. 13 проиллюстрировано внеклеточное высвобождение HMGB1 в клеточную культуральную среду по данным ELISA в клетках рака толстой кишки HCT116, обработанных контролем носителем, 12,5 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR и комбинацией 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR. Доксорубицин использовали в качестве положительного контроля для HMGB1 и известного стимулятора гибели иммуногенных клеток в некоторых линиях клеток. Статистический анализ состоял из однофакторного ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки между контролем носителем и доксорубицином ($p < 0,01$) и между FUdR и соединением А + FUdR ($p < 0,01$).

[0020] На Фиг. 14 проиллюстрировано внеклеточное высвобождение HMGB1 в клеточную культуральную среду по данным ELISA в клетках мезотелиомы JU77, обработанных контролем носителем, 12,5 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR и комбинацией 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR. Доксорубицин использовали в качестве положительного контроля для HMGB1 и известного стимулятора гибели иммуногенных клеток в некоторых линиях клеток. Статистический анализ состоял из однофакторного ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки между FUdR и комбинацией соединения А + FUdR ($p < 0,01$).

[0021] На Фиг. 15 проиллюстрирована клеточная поверхностная экспрессия кальретикулина, зарегистрированная методом проточной цитометрии в клетках

рака поджелудочной железы PANC-1, обработанных 6,25 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR и комбинацией 6,25 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR. Доксорубицин использовали в качестве положительного контроля, который, как известно, стимулирует клеточную поверхностную экспрессию кальретикулина в некоторых линиях клеток. Значения медианной интенсивности флуоресценции клеток с положительным окрашиванием в отношении кальретикулина измеряли и анализировали в Microsoft Excel и GraphPad Prism 6. Статистический анализ состоял из однофакторного ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки между FUdR и комбинацией соединения А + FUdR ($p < 0,01$).

[0022] На Фиг. 16 проиллюстрирован неограничивающий пример, демонстрирующий программные настройки для количественного определения цитоплазматической дцДНК. Ядра раковых клеток окрашивали ДАФИ, чтобы идентифицировать ядро клетки (слева) и антитело к дцДНК (справа), при этом кольцо выявления выходило за пределы ядерной оболочки, чтобы можно было выявить ядерную дцДНК в цитоплазме. Ядро было очерчено, а параметры выявления являются такими: Промежутки до кольца = 3 и размер кольца = 25. Внешнее кольцо указывало область выявления дцДНК.

[0023] На Фиг. 17 проиллюстрирована относительная плотность цитоплазматической дцДНК, выявленной методом флуоресцентной микроскопии и количественно оцененной с помощью ImageJ в клетках рака толстой кишки HCT116, обработанных контролем носителем (ДМСО), 12,5 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR и комбинацией 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR в течение 24 часов. Данные представлены для по меньшей мере 69 отдельных клеток, каждую из которых количественно оценивали в отношении цитоплазматической дцДНК, горизонтальная линия указывает среднюю относительную плотность цитоплазматической дцДНК. Статистический анализ состоял из однофакторного ANOVA ($p < 0,0001$) с критерием множественного сравнения Тьюки. Варианты обработки соединением А и FUdR не имели значимой разницы ($n/3$) при сравнении с контролем. Соединение А в сравнении с соединением А + FUdR = $p < 0,001$ и сравнение FUdR и соединения А + FUdR = $p < 0,001$.

[0024] На Фиг. 18 проиллюстрированы, демонстрирующие цитоплазматическую дцДНК в клетках рака толстой кишки HCT116, обработанных контрольным носителем (ДМСО), 12,5 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR и комбинацией 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR в течение 24 часов. Обработка комбинацией 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR явно демонстрировала значимое увеличение флуоресцентного сигнала за пределами ядра, что указывает на высвобождение

ядерной ДНК в цитоплазму с явными признаками отличных микроядер. Все изображения получали в идентичных экспериментальных условиях.

[0025] На **Фиг. 19** проиллюстрирована относительная плотность цитоплазматической дцДНК, выявленной методом флуоресцентной микроскопии и количественно оцененной с помощью ImageJ в клетках рака поджелудочной железы PANC-1, обработанных контролем носителем (ДМСО), 12,5 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR и комбинацией 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR в течение 24 часов. Данные представлены для по меньшей мере 64 отдельных клеток, каждую из которых количественно оценивали в отношении цитоплазматической дцДНК, горизонтальная линия указывает среднюю относительную плотность цитоплазматической дцДНК. Статистический анализ состоял из однофакторного ANOVA ($p < 0,0001$) с критерием множественного сравнения Тьюки: Сравнение FUdR и соединения А + FUdR = $p < 0,001$ и сравнение соединения А и соединения А + FUdR = $p < 0,001$.

[0026] На **Фиг. 20** проиллюстрированы, демонстрирующие цитоплазматическую дцДНК в клетках рака поджелудочной железы PANC-1, обработанных контрольным носителем (ДМСО), 12,5 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR и комбинацией 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR в течение 24 часов. Обработка комбинацией 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR явно демонстрировала значимое увеличение флуоресцентного сигнала за пределами ядра, что указывает на высвобождение ядерной ДНК в цитоплазму с явными признаками отличных микроядер. Все изображения получали в идентичных экспериментальных условиях.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Определения

[0027] В тексте этого изобретения ссылки на различные публикации, патенты и опубликованные описания патентов приведены с помощью идентифицирующего цитирования. Описания этих публикаций, патентов и опубликованных описаний патентов в полном объеме включены в настоящее изобретение посредством ссылки для более полного описания уровня техники, к которой относится это изобретение.

[0028] При практической реализации представленной технологии будут применять, если не указано иное, традиционные методы органической химии, фармакологии, иммунологии, молекулярной биологии, микробиологии, клеточной биологии и рекомбинантных ДНК, которые находятся в рамках данной области

техники. Смотрите, например, Sambrook, Fritsch and Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd edition (1989); *Current Protocols In Molecular Biology* (F. M. Ausubel, *et al.* eds., (1987)); серия *Methods in Enzymology* (Academic Press); *PCR 2: A Practical Approach* (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds., (1995));
 5 *Antibodies, a Laboratory Manual*, и *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney, ed. (1987)).

[0029] В контексте описания и формулы изобретения формы единственного числа включают отсылки на множественное число, если из контекста четко не следует иное. Например, термин «клетка» включает множество клеток, включая их смеси.

10 **[0030]** В контексте данного документа подразумевается, что термин «содержащий» означает, что соединения, композиции и способы включают перечисленные элементы, но не исключают другие. Выражение «состоящий преимущественно из» при использовании для определения соединений, композиций и способов означает исключение других элементов, имеющих какую-
 15 либо существенную значимость для комбинации. Таким образом, в композиции, состоящей преимущественно из элементов, определенных в данном документе, не исключается наличие следовых примесей, например, от способа выделения и очистки и фармацевтически приемлемых носителей, консервантов и т. п. Выражение «состоящий из» означает исключение более чем следовых
 20 элементов других ингредиентов. Варианты осуществления, определяемые каждым из этих переходных терминов, входят в объем этой технологии.

[0031] Все численные обозначения, например, pH, температуры, времени, концентрации и молекулярной массы, включая диапазоны, являются приблизительными и варьируются в пределах (+) или (-) 1, 5 или 10 %. Следует
 25 понимать, что, хотя это не всегда указано в явном виде, всем числовым обозначениям предшествует термин «около». Также следует понимать, даже если это не всегда указано в явном виде, что реагенты, описанные в данном документе, являются иллюстративными, и что их эквиваленты известны в данной области техники.

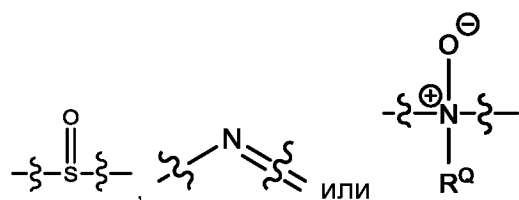
30 **[0032]** «Алкил» относится к одновалентным насыщенным алифатическим гидрокарбильным группам, имеющим 1–10 атомов углерода и предпочтительно 1–6 атомов углерода. Этот термин включает, в качестве примера, линейные и разветвленные гидрокарбильные группы, такие как метил (CH_3 -), этил (CH_3CH_2 -),
 н-пропил ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), изопропил ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ -), н-бутил ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ -),
 35 изобутил ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2$ -), втор-бутил ($(\text{CH}_3)(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}$ -), трет-бутил ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$ -), н-пентил ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ -) и неопентил ($(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2$ -).

[0033] «Алкенил» относится к одновалентным линейным или разветвленным гидрокарбильным группам, имеющим 2–10 атомов углерода и предпочтительно 2–6 атомов углерода или предпочтительно 2–4 атома углерода, и имеющим по меньшей мере 1 и предпочтительно от 1 до 2 сайтов ненасыщенности винила ($>C=C<$). Примерами таких групп являются, например, винил, аллил и бут-3-ен-1-ил. В этот термин включены *цис*- и *транс*-изомеры и смеси этих изомеров.

[0034] «Алкинил» относится к линейным или разветвленным одновалентным гидрокарбильным группам, имеющим 2–10 атомов углерода и предпочтительно 2–6 атомов углерода или предпочтительно 2–3 атома углерода, и имеющим по меньшей мере 1 и предпочтительно от 1 до 2 сайтов ненасыщенности ацетилена ($-C\equiv C-$). Примеры таких алкинильных групп включают ацетиленил ($-C\equiv CH$) и пропаргил ($-CH_2C\equiv CH$).

[0035] «Замещенный алкил» относится к алкильной группе, имеющей 1–5, предпочтительно 1–3 или более предпочтительно 1–2 заместителя, выбранных из группы, состоящей из алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, ацилокси, amino, замещенного amino, аминокарбонила, аминотиокарбонила, аминокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминокарбонилокси, аминосульфонилла, аминосульфониллокси, аминосульфониламино, амидино, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилтио, замещенного арилтио, карбоксила, карбоксильного эфира, (карбоксильный эфир)амино, (карбоксильный эфир)окси, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, циклоалкилтио, замещенного циклоалкилтио, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, циклоалкенилокси, замещенного циклоалкенилокси, циклоалкенилтио, замещенного циклоалкенилтио, гуанидино, замещенного гуанидино, галогена, гидрокси, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероарилтио, замещенного гетероарилтио, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, гетероциклилтио, замещенного гетероциклилтио, нитро, SO_3H , замещенного сульфонилла, замещенного сульфониллокси, тиацила, тиола, алкилтио и замещенного алкилтио, причем указанные заместители являются такими, как определено в данном документе.

[0036] «Гетероалкил» относится к алкильной группе, в которой один или более атомов углерода замещены $-O-$, $-S-$, SO_2 , P-содержащим фрагментом, предложенным в данном документе, фрагментами $-NR^Q-$,



где R^Q представляет собой Н или $\text{C}_1\text{--C}_6$ алкил. Замещенный гетероалкил относится к гетероалкильной группе, имеющей 1–5, предпочтительно 1–3 или более предпочтительно 1–2 заместителя, выбранных из группы, состоящей из

5 алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, ацилокси, amino, замещенного amino, аминокарбонила, аминотиокарбонила, аминокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминокарбонилокси, аминосульфонила, аминосульфонокси, аминосульфониламино, амидино, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилтио, замещенного арилтио,

10 карбоксила, карбоксильного эфира, (карбоксильный эфир)амино, (карбоксильный эфир)окси, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, циклоалкилтио, замещенного циклоалкилтио, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, циклоалкенилокси, замещенного циклоалкенилокси, циклоалкенилтио, замещенного циклоалкенилтио, гуанидино,

15 замещенного гуанидино, галогена, гидроксид, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероарилтио, замещенного гетероарилтио, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, гетероциклилтио, замещенного гетероциклилтио, нитро, SO_3H , замещенного сульфонила, замещенного сульфонокси, тиацила, тиола, алкилтио и замещенного алкилтио, причем указанные заместители являются такими, как определено в

данном документе.

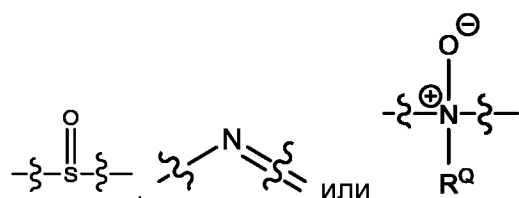
[0037] «Замещенный алкенил» относится к алкенильным группам, имеющим 1–3 заместителя и предпочтительно 1–2 заместителя, выбранных из группы, состоящей из алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, ацилокси,

25 amino, замещенного amino, аминокарбонила, аминотиокарбонила, аминокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминокарбонилокси, аминосульфонила, аминосульфонокси, аминосульфониламино, амидино, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилтио, замещенного арилтио, карбоксила, карбоксильного эфира, (карбоксильный эфир)амино, (карбоксильный эфир)окси, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, циклоалкилтио, замещенного циклоалкилтио, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила,

30

циклоалкенилокси, замещенного циклоалкенилокси, циклоалкенилтио, замещенного циклоалкенилтио, гуанидино, замещенного гуанидино, галогена, гидроксила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероарилтио, замещенного гетероарилтио, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, гетероциклилтио, замещенного гетероциклилтио, нитро, SO_3H , замещенного сульфонила, замещенного сульфонилокси, тиацила, тиола, алкилтио и замещенного алкилтио, причем указанные заместители являются такими, как определено в данном документе, и с условием, что любой гидроксильный или тиольный заместитель не присоединен к (ненасыщенному) атому углерода винила.

[0038] «Гетероалкенил» относится к алкенильной группе, в которой один или более атомов углерода замещены -O-, -S-, SO_2 , P-содержащим фрагментом, предложенным в данном документе, фрагментами $-\text{NR}^Q-$,



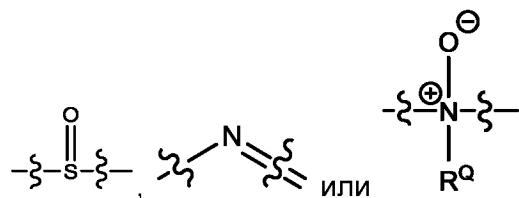
где R^Q представляет собой H или C_1 - C_6 алкил. Замещенный гетероалкенил относится к гетероалкенильной группе, имеющей 1–5, предпочтительно 1–3 или более предпочтительно 1–2 заместителя, выбранных из группы, состоящей из алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, ацилокси, amino, замещенного amino, аминокарбонила, аминотиокарбонила, аминокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминокарбонилокси, аминосульфонила, аминосульфонилокси, аминосульфониламино, амидино, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилтио, замещенного арилтио, карбоксила, карбоксильного эфира, (карбоксильный эфир)амино, (карбоксильный эфир)окси, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, циклоалкилтио, замещенного циклоалкилтио, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, циклоалкенилокси, замещенного циклоалкенилокси, циклоалкенилтио, замещенного циклоалкенилтио, гуанидино, замещенного гуанидино, галогена, гидроксид, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероарилтио, замещенного гетероарилтио, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, гетероциклилтио, замещенного гетероциклилтио, нитро, SO_3H , замещенного сульфонила,

замещенного сульфонилокси, тиацила, тиола, алкилтио и замещенного алкилтио, причем указанные заместители являются такими, как определено в данном документе.

[0039] «Замещенный алкинил» относится к алкинильным группам, имеющим 1–

3 заместителя и предпочтительно 1–2 заместителя, выбранных из группы, состоящей из алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, ацилокси, amino, замещенного amino, аминокарбонила, аминотиокарбонила, аминокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминокарбонилокси, аминосульфонил, аминосульфонокси, аминосульфониламино, амидино, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилтио, замещенного арилтио, карбоксила, карбоксильного эфира, (карбоксильный эфир)амино, (карбоксильный эфир)окси, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, циклоалкилтио, замещенного циклоалкилтио, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, циклоалкенилокси, замещенного циклоалкенилокси, циклоалкенилтио, замещенного циклоалкенилтио, гуанидино, замещенного гуанидино, галогена, гидроксид, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероарилтио, замещенного гетероарилтио, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, гетероциклилтио, замещенного гетероциклилтио, нитро, SO_3H , замещенного сульфонил, замещенного сульфонокси, тиацила, тиола, алкилтио и замещенного алкилтио, причем указанные заместители являются такими, как определено в данном документе, и с условием, что любой гидроксильный или тиольный заместитель не присоединен к атому углерода ацетилена.

[0040] «Гетероалкинил» относится к алкинильной группе, в которой один или более атомов углерода замещены -O-, -S-, SO_2 , P-содержащим фрагментом, предложенным в данном документе, фрагментами $-\text{NR}^Q-$,



где R^Q представляет собой H или C_1 – C_6 алкил. Замещенный гетероалкинил относится к гетероалкинильной группе, имеющей 1–5, предпочтительно 1–3 или более предпочтительно 1–2 заместителя, выбранных из группы, состоящей из алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, ацилокси, amino, замещенного amino, аминокарбонила, аминотиокарбонила, аминокарбониламино,

5 аминотиокарбониламино, аминокарбонилокси, аминосульфонила,
 аминосульфонилокси, аминосульфониламино, амидино, арила, замещенного
 арила, арилокси, замещенного арилокси, арилтио, замещенного арилтио,
 карбоксила, карбоксильного эфира, (карбоксильный эфир)амино, (карбоксильный
 10 эфир)окси, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкилокси,
 замещенного циклоалкилокси, циклоалкилтио, замещенного циклоалкилтио,
 циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, циклоалкенилокси, замещенного
 циклоалкенилокси, циклоалкенилтио, замещенного циклоалкенилтио, гуанидино,
 замещенного гуанидино, галогена, гидроксид, гетероарила, замещенного
 10 гетероарила, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероарилтио,
 замещенного гетероарилтио, гетероцикла, замещенного гетероцикла,
 гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, гетероциклилтио,
 замещенного гетероциклилтио, нитро, SO_3H , замещенного сульфонила,
 замещенного сульфонилокси, тиоацетила, тиола, алкилтио и замещенного
 15 алкилтио, причем указанные заместители являются такими, как определено в
 данном документе.

[0041] «Алкилен» относится к двухвалентным насыщенным алифатическим
 гидрокарбильным группам, имеющим 1–10 атомов углерода, предпочтительно
 имеющим 1–6 атомов углерода и более предпочтительно 1–3 атома углерода,
 20 которые являются прямоцепочечными или разветвленными. Примерами этого
 термина являются группы, такие как метилен ($-\text{CH}_2-$), этилен ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$),
 н-пропилен ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), изо-пропилен ($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$ или $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$),
 бутилен ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), изобутилен ($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$), втор-бутилен
 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_3)\text{CH}-$) и т. п. Аналогично, «алкенилен» и «алкинилен» относятся к
 25 алкиленовому фрагменту, содержащему соответственно 1 или 2 углерод-
 углеродные двойные связи или углерод-углеродные тройные связи.

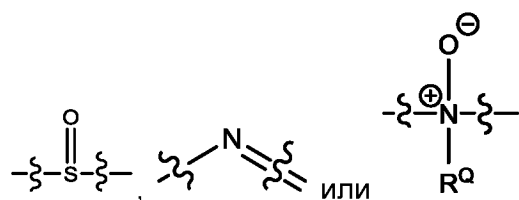
[0042] «Замещенный алкилен» относится к алкиленовой группе, в которой 1–3
 атома водорода замещены заместителями, выбранными из группы, состоящей из
 алкил, замещенного алкил, алкокси, замещенного алкокси, ацетила, ациламино,
 30 ацилокси, амина, замещенного амина, аминаоацетила, арил, замещенного арила,
 арилокси, замещенного арилокси, циано, галогена, гидроксид, нитро,
 карбоксила, карбоксильного эфира, циклоалкила, замещенного циклоалкила,
 гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла
 и оксо, причем указанные заместители определены в данном документе. В
 35 некоторых вариантах осуществления алкилен имеет 1 или 2 из вышеупомянутых
 групп или 1–3 атома углерода, замещенных фрагментами $-\text{O}-$, $-\text{S}-$ или $-\text{NR}^Q-$, где

R^Q представляет собой H или C_1-C_6 алкил. Следует отметить, что когда алкилен замещено оксо-группой, 2 атома водорода, присоединенные к одному атому углерода алкиленовой группы, замещены «=O». «Замещенный алкенилен» и «замещенный алкинилен» относятся к фрагментам алкенилена и замещенного алкинилена, замещенным заместителями, описанными для замещенного алкилена.

[0043] «Алкинилен» относится к линейным или разветвленным двухвалентным гидрокарбильным группам, имеющим 2–10 атомов углерода и предпочтительно 2–6 атомов углерода или предпочтительно 2–3 атома углерода, и имеющим по меньшей мере 1 и предпочтительно от 1 до 2 сайтов ненасыщенности ацетилена ($-C\equiv C-$). Примеры таких алкиниленовых групп включают $-C\equiv C-$ и $-CH_2C\equiv C-$.

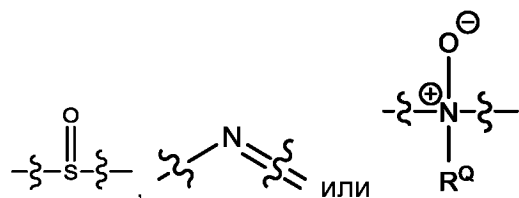
[0044] «Замещенный алкинилен» относится к алкиниленовым группам, имеющим 1–3 заместителя и предпочтительно 1–2 заместителя, выбранных из группы, состоящей из алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, ацилокси, amino, замещенного amino, аминокарбонила, аминотиокарбонила, аминокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминокарбонилокси, аминосульфонилла, аминосульфонокси, аминосульфонилламино, амидино, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилтио, замещенного арилтио, карбоксила, карбоксильного эфира, (карбоксильный эфир)амино, (карбоксильный эфир)окси, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, циклоалкилтио, замещенного циклоалкилтио, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, циклоалкенилокси, замещенного циклоалкенилокси, циклоалкенилтио, замещенного циклоалкенилтио, гуанидино, замещенного гуанидино, галогена, гидрокси, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероарилтио, замещенного гетероарилтио, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, гетероциклилтио, замещенного гетероциклилтио, нитро, SO_3H , замещенного сульфонилла, замещенного сульфонокси, тиацила, тиола, алкилтио и замещенного алкилтио, причем указанные заместители являются такими, как определено в данном документе, и с условием, что любой гидроксильный или тиольный заместитель не присоединен к атому углерода ацетилена.

[0045] «Гетероалкилен» относится к алкиленовой группе, в которой один или более атомов углерода замещены -O-, -S-, SO_2 , P-содержащим фрагментом, предложенным в данном документе, фрагментами $-NR^Q-$,



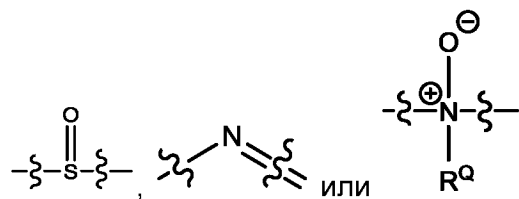
где R^Q представляет собой H или C_1 - C_6 алкил. «Замещенный гетероалкилен» относится к гетероалкиниленовой группе, имеющей 1–3 заместителя и предпочтительно 1–2 заместителя, выбранных из заместителей, описанных для замещенного алкилена.

[0046] «Гетероалкенилен» относится к алкениленовой группе, в которой один или более атомов углерода замещены -O-, -S-, SO_2 , P-содержащим фрагментом, предложенным в данном документе, фрагментами $-NR^Q$,



где R^Q представляет собой H или C_1 - C_6 алкил. «Замещенный гетероалкенилен» относится к гетероалкиниленовой группе, имеющей 1–3 заместителя и предпочтительно 1–2 заместителя, выбранных из заместителей, описанных для замещенного алкенилена.

[0047] «Гетероалкинилен» относится к алкиниленовой группе, в которой один или более атомов углерода замещены -O-, -S-, SO_2 , P-содержащим фрагментом, предложенным в данном документе, фрагментами $-NR^Q$,



где R^Q представляет собой H или C_1 - C_6 алкил. «Замещенный гетероалкинилен» относится к гетероалкиниленовой группе, имеющей 1–3 заместителя и предпочтительно 1–2 заместителя, выбранных из заместителей, описанных для замещенного алкинилена.

[0048] «Алкокси» относится к группе -O-алкил, в которой алкил определен в данном документе. Алкокси включает, в качестве примера, метокси, этокси, н-пропокси, изопропокси, н-бутокси, трет-бутокси, втор-бутокси и н-пентокси.

[0049] «Замещенный алкокси» относится к группе -O-(замещенный алкил), в которой замещенный алкил определен в данном документе.

[0050] «Ацил» относится к группам Н-С(О)-, алкил-С(О)-, замещенный алкил-С(О)-, алкенил-С(О)-, замещенный алкенил-С(О)-, алкинил-С(О)-, замещенный алкинил-С(О)-, циклоалкил-С(О)-, замещенный циклоалкил-С(О)-, циклоалкенил-С(О)-, замещенный циклоалкенил-С(О)-, арил-С(О)-, замещенный арил-С(О)-, гетероарил-С(О)-, замещенный гетероарил-С(О)-, гетероцикл-С(О)- и замещенный гетероцикл-С(О)-, где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе. Ацил включает «ацетильную» группу $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})-$.

[0051] «Ациламино» относится к группам $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ алкил, $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ замещенный алкил, $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ циклоалкил, $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ замещенный циклоалкил, $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ циклоалкенил, $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ замещенный циклоалкенил, $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ алкенил, $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ замещенный алкенил, $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ алкинил, $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ замещенный алкинил, $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ арил, $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ замещенный арил, $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ гетероарил, $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ замещенный гетероарил, $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ гетероцикл и $-\text{NR}^{47}\text{C}(\text{O})$ замещенный гетероцикл, где R^{47} представляет собой водород или алкил и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл, and замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0052] «Ацилокси» относится к группам алкил-С(О)О-, замещенный алкил-С(О)О-, алкенил-С(О)О-, замещенный алкенил-С(О)О-, алкинил-С(О)О-, замещенный алкинил-С(О)О-, арил-С(О)О-, замещенный арил-С(О)О-, циклоалкил-С(О)О-, замещенный циклоалкил-С(О)О-, циклоалкенил-С(О)О-, замещенный циклоалкенил-С(О)О-, гетероарил-С(О)О-, замещенный гетероарил-С(О)О-, гетероцикл-С(О)О- и замещенный гетероцикл-С(О)О-, где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил,

гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0053] Животное, субъект или пациент для диагностики или лечения относятся к животному, такому как млекопитающее, или человеку, овечьим, бычьим, кошачьим, собачьим, свиньям, обезьянам и т. д. Отличные от человека субъекты-животные для диагностики или лечения включают, например, обезьян, мышиных, таких как крысы, мыши, собачьих, зайцевых, крупный рогатый скот, спортивных животных и домашних животных.

[0054] «Амино» относится к группе $-NH_2$.

[0055] «Замещенный амино» относится к группе $-NR^{48}R^{49}$, где R^{48} и R^{49} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, $-SO_2$ -алкила, $-SO_2$ -замещенного алкила, $-SO_2$ -алкенила, $-SO_2$ -замещенного алкенила, $-SO_2$ -циклоалкила, $-SO_2$ -замещенного циклоалкила, $-SO_2$ -циклоалкенила, $-SO_2$ -замещенного циклоалкенила, $-SO_2$ -арила, $-SO_2$ -замещенного арила, $-SO_2$ -гетероарила, $-SO_2$ -замещенного гетероарила, $-SO_2$ -гетероцикла и $-SO_2$ -замещенного гетероцикла, и где R^{48} и R^{49} необязательно соединены и вместе с атомом азота, который с ними связан, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу, при условии, что R^{48} и R^{49} оба не представляют собой водород, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе. Когда R^{48} представляет собой водород и R^{49} представляет собой алкил, замещенную аминогруппу иногда называют в данном документе алкиламино. Когда R^{48} и R^{49} представляют собой алкил, замещенную аминогруппу иногда называют в данном документе диалкиламино. Упоминание монозамещенного амино означает, что либо R^{48} , либо R^{49} представляет собой водород, но не они оба. Упоминание дизамещенного амино означает, что ни R^{48} , ни R^{49} не представляет собой водород.

[0056] «Аминокарбонил» относится к группе $-C(O)NR^{50}R^{51}$, где R^{50} и R^{51} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла и замещенного гетероцикла, и где R^{50} и R^{51} необязательно соединены и вместе с атомом азота, который с ними связан, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0057] «Аминотиокарбонил» относится к группе $-C(S)NR^{50}R^{51}$, где R^{50} и R^{51} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла и замещенного гетероцикла, и где R^{50} и R^{51} необязательно соединены и вместе с атомом азота, который с ними связан, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0058] «Аминокарбониламино» относится к группе $-NR^{47}C(O)NR^{50}R^{51}$, где R^{47} представляет собой водород или алкил, а R^{50} и R^{51} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла и замещенного гетероцикла, и где R^{50} и R^{51} необязательно соединены и вместе с атомом азота, который с ними связан, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил,

замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0059] «Аминотиокарбониламино» относится к группе $-NR^{47}C(S)NR^{50}R^{51}$, где R^{47}

представляет собой водород или алкил, а R^{50} и R^{51} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла и замещенного гетероцикла, и где R^{50} и R^{51} необязательно соединены и вместе с атомом азота, который с ними связан, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0060] «Аминокарбонилокси» относится к группе $-O-C(O)NR^{50}R^{51}$, где R^{50} и R^{51}

независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла и замещенного гетероцикла, и где R^{50} и R^{51} необязательно соединены и вместе с атомом азота, который с ними связан, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0061] «Аминосульфонил» относится к группе $-SO_2NR^{50}R^{51}$, где R^{50} и R^{51}

независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла и замещенного гетероцикла, и где R^{50} и R^{51} необязательно соединены и вместе с атомом азота, который с ними связан,

образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0062] «Аминосульфонилокси» относится к группе $-O-SO_2NR^{50}R^{51}$, где R^{50} и R^{51} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла и замещенного гетероцикла, и где R^{50} и R^{51} необязательно соединены и вместе с атомом азота, который с ними связан, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0063] «Аминосульфониламино» относится к группе $-NR^{47}SO_2NR^{50}R^{51}$, где R^{47} представляет собой водород или алкил, а R^{50} и R^{51} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла и замещенного гетероцикла, и где R^{50} и R^{51} необязательно соединены и вместе с атомом азота, который с ними связан, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0064] «Амидино» относится к группе $-C(=NR^{52})NR^{50}R^{51}$, где R^{50} , R^{51} и R^{52} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила,

циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла и замещенного гетероцикла, и где R^{50} и R^{51} необязательно соединены и вместе с атомом азота, который с ними связан, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу, и где

5 алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

10 **[0065]** «Арил» или «Ar» относится к одновалентной ароматической карбоциклической группе из 6–14 атомов углерода, имеющей одно кольцо (например, фенил) или несколько конденсированных колец (например, нафтил или антрил), при этом указанные конденсированные кольца могут быть ароматическими или нет (например, 2-бензоксазолинон,

15 2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он-7-ил и т. п.), при условии, что точка присоединения находится на ароматическом атоме углерода. Предпочтительные арильные группы включают фенил и нафтил.

[0066] «Замещенный арил» относится к арильным группам, которые замещены 1–5, предпочтительно 1–3 или более предпочтительно 1–2 заместителями,

20 выбранными из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, ацилокси, амино, замещенного амино, аминокарбонила, аминотиокарбонила, аминокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминокарбонилокси, аминосульфонил,

25 аминосульфонилокси, аминосульфониламино, амидино, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилтио, замещенного арилтио, карбоксила, карбоксильного эфира, (карбоксильный эфир)амино, (карбоксильный эфир)окси, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, циклоалкилтио, замещенного циклоалкилтио,

30 циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, циклоалкенилокси, замещенного циклоалкенилокси, циклоалкенилтио, замещенного циклоалкенилтио, гуанидино, замещенного гуанидино, галогена, гидроксид, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероарилтио, замещенного гетероарилтио, гетероцикла, замещенного гетероцикла,

35 гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, гетероциклилтио, замещенного гетероциклилтио, нитро, SO_3H , замещенного сульфонил,

замещенного сульфонилокси, тиаоцила, тиола, алкилтио и замещенного алкилтио, причем указанные заместители являются такими, как определено в данном документе.

[0067] «Арилен» относится к двухвалентной ароматической карбоциклической группе из 6–14 атомов углерода, имеющей одно кольцо или несколько конденсированных колец. «Замещенный арилен» относится к арилену, имеющему 1–5, предпочтительно 1–3 или более предпочтительно 1–2 заместителя, определенных для арильных групп.

[0068] «Гетероарилен» относится к двухвалентной ароматической группе из 1–10 атомов углерода и 1–4 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из кислорода, азота и серы, в кольцо. «Замещенный гетероарилен» относится к гетероариленовым группам, которые замещены 1–5, предпочтительно 1–3 или более предпочтительно 1–2 заместителями, выбранными из группы, состоящей из той же группы заместителей, которые определены для замещенного арила.

[0069] «Арилокси» относится к группе -О-арил, в которой арил является таким, как определено в данном документе, что включает, например, фенокси и нафтокси.

[0070] «Замещенный арилокси» относится к группе -О-(замещенный арил), в которой замещенный арил является таким, как определено в данном документе.

[0071] «Арилтио» относится к группе -S-арил, в которой замещенный арил является таким, как определено в данном документе.

[0072] «Замещенный арилтио» относится к группе -S-(замещенный арил), в которой замещенный арил является таким, как определено в данном документе.

[0073] «Карбонил» относится к двухвалентной группе -C(O)-, что является эквивалентом -C(=O)-.

[0074] «Карбоксил» или «карбокси» относится к -COOH или его солям.

[0075] «Карбоксильный эфир» или «карбоксиэфир» относится к группе -C(O)(O)-алкил, -C(O)(O)-замещенный алкил, -C(O)O-алкенил, -C(O)(O)-замещенный алкенил, -C(O)(O)-алкинил, -C(O)(O)-замещенный алкинил, -C(O)(O)-арил, -C(O)(O)-замещенный-арил, -C(O)(O)-циклоалкил, -C(O)(O)-замещенный циклоалкил, -C(O)(O)-циклоалкенил, -C(O)(O)-замещенный циклоалкенил, -C(O)(O)-гетероарил, -C(O)(O)-замещенный гетероарил, -C(O)(O)-гетероцикл и -C(O)(O)-замещенный гетероцикл, причем алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил,

гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0076] «(Карбоксильный эфир)амино» относится к группе $-NR^{47}C(O)(O)$ -алкил, $-NR^{47}C(O)(O)$ -замещенный алкил, $-NR^{47}C(O)O$ -алкенил, $-NR^{47}C(O)(O)$ -замещенный алкенил, $-NR^{47}C(O)(O)$ -алкинил, $-NR^{47}C(O)(O)$ -замещенный алкинил, $-NR^{47}C(O)(O)$ -арил, $-NR^{47}C(O)(O)$ -замещенный-арил, $-NR^{47}C(O)(O)$ -циклоалкил, $-NR^{47}C(O)(O)$ -замещенный циклоалкил, $-NR^{47}C(O)(O)$ -циклоалкенил, $-NR^{47}C(O)(O)$ -замещенный циклоалкенил, $-NR^{47}C(O)(O)$ -гетероарил, $-NR^{47}C(O)(O)$ -замещенный гетероарил, $-NR^{47}C(O)(O)$ -гетероцикл и $-NR^{47}C(O)(O)$ -замещенный гетероцикл, где R^{47} представляет собой алкил или водород и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0077] «(Карбоксильный эфир)окси» относится к группе $-O-C(O)O$ -алкил, $-O-C(O)O$ -замещенный алкил, $-O-C(O)O$ -алкенил, $-O-C(O)O$ -замещенный алкенил, $-O-C(O)O$ -алкинил, $-O-C(O)O$ -замещенный алкинил, $-O-C(O)O$ -арил, $-O-C(O)O$ -замещенный-арил, $-O-C(O)O$ -циклоалкил, $-O-C(O)O$ -замещенный циклоалкил, $-O-C(O)O$ -циклоалкенил, $-O-C(O)O$ -замещенный циклоалкенил, $-O-C(O)O$ -гетероарил, $-O-C(O)O$ -замещенный гетероарил, $-O-C(O)O$ -гетероцикл и $-O-C(O)O$ -замещенный гетероцикл, где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0078] В контексте данного документа «композиция» относится к активному агенту, такому как описанное в данном документе соединение, и носителю, инертному или активному. Носитель может представлять собой, без ограничения, твердое вещество, такое как гранула или смола, или жидкость, такую как фосфатно-солевой буферный раствор.

[0079] Введение или лечение в «комбинации» относится к введению двух агентов так, чтобы их фармакологический эффект проявлялся одновременно. Комбинация не подразумевает требования введения в одно и то же время или практически в одно и то же время, хотя комбинация может включать такие варианты введения.

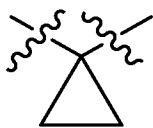
[0080] «Циано» относится к группе -CN.

[0081] «Циклоалкил» относится к циклическим алкильным группам из 3–10 атомов углерода, имеющим одно или несколько циклических колец, включая конденсированные, мостиковые и спирокольцевые системы. Конденсированное кольцо может представлять собой арильное кольцо при условии, что неарильная часть соединена к остальной частью молекулы. Примеры подходящих циклоалкильных групп включают, например, адамантил, циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклооктил.

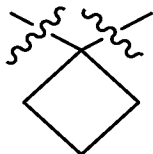
[0082] «Циклоалкенил» относится к неароматическим циклическим алкильным группам из 3-10 атомов углерода, имеющим одно или несколько циклических колец и имеющим по меньшей мере один сайт ненасыщенности кольца $>C=C<$ и предпочтительно 1–2 сайта ненасыщенности кольца $>C=C<$.

[0083] «Замещенный циклоалкил» и «замещенный циклоалкенил» относятся к циклоалкильной или циклоалкенильной группе, имеющей 1–5 или предпочтительно 1–3 заместителя, выбранных из группы, состоящей из оксо, тиоксо, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, ацилокси, амина, замещенного амина, аминокарбонила, аминотиокарбонила, аминокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминокарбонилокси, аминосульфонил, аминосульфонилокси, аминосульфониламино, амидино, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилтио, замещенного арилтио, карбоксила, карбоксильного эфира, (карбоксильный эфир)амино, (карбоксильный эфир)окси, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, циклоалкилтио, замещенного циклоалкилтио, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, циклоалкенилокси, замещенного циклоалкенилокси, циклоалкенилтио, замещенного циклоалкенилтио, гуанидино, замещенного гуанидино, галогена, гидроксид, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероарилтио, замещенного гетероарилтио, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, гетероциклилтио, замещенного гетероциклилтио, нитро, SO_3H , замещенного сульфонил, замещенного сульфонилокси, тиоацила, тиола, алкилтио и замещенного алкилтио, причем указанные заместители являются такими, как определено в данном документе.

[0084] «Циклопропано» относится к:



[0085] «Циклобутано» относится к:



[0086] «Циклоалкокси» относится к -О-циклоалкилу.

5 [0087] «Замещенный циклоалкокси» относится к группе -О-(замещенный циклоалкил).

[0088] «Циклоалкилтио» относится к -S-циклоалкилу.

[0089] «Замещенный циклоалкилтио» относится к группе -S-(замещенный циклоалкил).

10 [0090] «Циклоалкенилокси» относится к -О-циклоалкенилу.

[0091] «Замещенный циклоалкенилокси» относится к группе -О-(замещенный циклоалкенил).

[0092] «Циклоалкенилтио» относится к -S-циклоалкенилу.

15 [0093] «Замещенный циклоалкенилтио» относится к группе -S-(замещенный циклоалкенил).

[0094] «Гуанидино» относится к группе -NHC(=NH)NH₂.

[0095] «Замещенный гуанидино» относится к -NR⁵³C(=NR⁵³)N(R⁵³)₂ где каждый R⁵³ независимо выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гетероцикла и замещенного гетероцикла, и при этом две группы R⁵³, присоединенные к общему атому азота гуанидино, необязательно соединены вместе с атомом азота, связанным с ними, с образованием гетероциклической или замещенной гетероциклической группы, при условии, что по меньшей мере один R⁵³ не представляет собой водород, а
20 указанные заместители являются такими, как определено в данном документе.

[0096] «Гало» или «галоген» относится к фтору, хлору, бром и йоду.

[0097] «Гидрокси» или «гидроксил» относится к группе -ОН.

[0098] «Гетероарил» относится к ароматической группе из 1–10 атомов углерода и 1–4 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из кислорода, азота и серы, в кольце. Такие гетероарильные группы могут иметь одно кольцо
30 (например, пиридинил или фурил) или несколько конденсированных колец (например, индолизинил или бензотиенил), при этом конденсированные кольца

могут или нет быть ароматическими и/или содержать гетероатом при условии, что точка присоединения находится в атоме ароматической гетероарильной группы. В одном варианте осуществления кольцевой(ые) атом(ы) азота и/или серы гетероарильной группы необязательно окислены с образованием N-оксидного ($N \rightarrow O$), сульфинильного или сульфонильного фрагментов. Определенные неограничивающие примеры включают пиридинил, пирролинил, индолил, тиофенил, оксазолил, тиазолил и фуранил.

[0099] «Замещенный гетероарил» относится к гетероарильным группам, которые замещены 1–5, предпочтительно 1–3 или более предпочтительно 1–2 заместителями, выбранными из группы, состоящей из той же группы заместителей, которые определены для замещенного арила.

[0100] «Гетероарилокси» относится к -O-гетероарилу.

[0101] «Замещенный гетероарилокси» относится к группе -O-(замещенный гетероарил).

[0102] «Гетероарилтио» относится к группе -S-гетероарил.

[0103] «Замещенный гетероарилтио» относится к группе -S-(замещенный гетероарил).

[0104] «Гетероцикл», или «гетероциклический», или «гетероциклоалкил», или «гетероциклил» относятся к насыщенной или частично насыщенной, но не ароматической, группе, имеющей 1–10 кольцевых атомов углерода и 1–4 кольцевых гетероатома, выбранных из группы, состоящей из азота, серы или кислорода. Гетероцикл включает одно кольцо или несколько конденсированных колец, включая конденсированные, мостиковые и спирокольцевые системы. В конденсированных кольцевых системах одно или более колец могут представлять собой циклоалкил, арил или гетероарил при условии, что точка присоединения находится на неароматическом кольце. В одном варианте осуществления атом(ы) азота и/или серы гетероциклической группы необязательно окислены с образованием N-оксидного, сульфинильного или сульфонильного фрагментов.

[0105] «Замещенный гетероцикл», или «замещенный гетероциклоалкил», или «замещенный гетероциклил» относятся к гетероциклическим группам, которые замещены 1–5 или предпочтительно 1–3 заместителями, определенными для замещенного циклоалкила.

[0106] «Гетероциклилокси» относится к группе -O-гетероциклил.

[0107] «Замещенный гетероциклилокси» относится к группе -O-(замещенный гетероциклил).

[0108] «Гетероциклилтио» относится к группе -S-гетероциклил.

[0109] «Замещенный гетероциклилтио» относится к группе -S-(замещенный гетероциклил).

[0110] Примеры гетероциклических и гетероарильных групп включают, но не ограничиваются этим, азетидин, пиррол, фуран, тиофен, имидазол, пиразол, пиридин, пиразин, пиримидин, пиридазин, индолизин, изоиндол, индол, дигидроиндол, индазол, пурин, хинолизин, изохинолин, хинолин, фталазин, нафтилпиридин, хиноксалин, хиназолин, циннолин, птеридин, карбазол, карболин, фенантридин, акридин, фенантролин, изотиазол, феназин, изоксазол, феноксазин, фенотиазин, имидазолидин, имидазолин, пиперидин, пиперазин, индолин, фталимид, 1,2,3,4-тетрагидроизохинолин, 4,5,6,7-тетрагидробензо[b]тиофен, тиазол, тиазолидин, тиофен, бензо[b]тиофен, морфолинил, тиоморфолинил (также называемый тиаморфолинилом), 1,1-диоксотiomорфолинил, пиперидинил, пирролидин и тетрагидрофуранил.

[0111] «Нитро» относится к группе -NO₂.

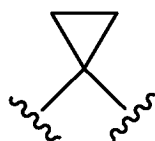
[0112] «Оксо» относится к атому (=O).

[0113] Фениленовые кольца относятся к двухвалентному арильному кольцу, содержащему 6 атомов углерода.

[0114] «Замещенный фенилен» относится к фениленам, которые замещены 1–4, предпочтительно 1–3 или более предпочтительно 1–2 заместителями, выбранными из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, ацилокси, амина, замещенного амина, аминокарбонила, аминотиокарбонила, аминокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминокарбонилокси, аминосульфонила, аминосульфонилокси, аминосульфониламино, амидино, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилтио, замещенного арилтио, карбоксила, карбоксильного эфира, (карбоксильный эфир)амино, (карбоксильный эфир)окси, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, циклоалкилтио, замещенного циклоалкилтио, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, циклоалкенилокси, замещенного циклоалкенилокси, циклоалкенилтио, замещенного циклоалкенилтио, гуанидино, замещенного гуанидино, галогена, гидроксид, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероарилтио, замещенного гетероарилтио, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, гетероциклилтио,

замещенного гетероциклилтио, нитро, SO_3H , замещенного сульфонила, замещенного сульфонилокси, тиацила, тиола, алкилтио и замещенного алкилтио, причем указанные заместители являются такими, как определено в данном документе.

- 5 **[0115]** «Спироциклоалкил» и «спирокольцевые системы» относятся к двухвалентным циклическим группам из 3–10 атомов углерода, имеющим циклоалкильное или гетероциклоалкильное кольцо со спиро-соединением (соединением, образуемым одним атомом, который является единственным общим членом колец), иллюстрируемым следующей структурой:



10

[0116] «Сульфонил» относится к двухвалентной группе $\text{S}(\text{O})_2$.

- [0117]** «Замещенный сульфонил» относится к группе $-\text{SO}_2$ -алкил, $-\text{SO}_2$ -замещенный алкил, $-\text{SO}_2$ -алкенил, $-\text{SO}_2$ -замещенный алкенил, $-\text{SO}_2$ -циклоалкил, $-\text{SO}_2$ -замещенный циклоалкил, $-\text{SO}_2$ -циклоалкенил, $-\text{SO}_2$ -замещенный циклоалкенил, $-\text{SO}_2$ -арил, $-\text{SO}_2$ -замещенный арил, $-\text{SO}_2$ -гетероарил, $-\text{SO}_2$ -гетероарил, $-\text{SO}_2$ -гетероцикл, $-\text{SO}_2$ -замещенный гетероцикл, где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе. Замещенный сульфонил включает группы, такие как метил- SO_2 -, фенил- SO_2 - и 4-метилфенил- SO_2 -.

- 25 **[0118]** «Замещенный сульфонилокси» относится к группе $-\text{OSO}_2$ -алкил, $-\text{OSO}_2$ -замещенный алкил, $-\text{OSO}_2$ -алкенил, $-\text{OSO}_2$ -замещенный алкенил, $-\text{OSO}_2$ -циклоалкил, $-\text{OSO}_2$ -замещенный циклоалкил, $-\text{OSO}_2$ -циклоалкенил, $-\text{OSO}_2$ -замещенный циклоалкенил, $-\text{OSO}_2$ -арил, $-\text{OSO}_2$ -замещенный арил, $-\text{OSO}_2$ -гетероарил, $-\text{OSO}_2$ -замещенный гетероарил, $-\text{OSO}_2$ -гетероцикл, $-\text{OSO}_2$ -замещенный гетероцикл, где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил,

30

замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0119] «Тиоацил» относится к группам H-C(S)- , алкил- C(S)- , замещенный алкил- C(S)- , алкенил- C(S)- , замещенный алкенил- C(S)- , алкинил- C(S)- , замещенный алкинил- C(S)- , циклоалкил- C(S)- , замещенный циклоалкил- C(S)- , циклоалкенил- C(S)- , замещенный циклоалкенил- C(S)- , арил- C(S)- , замещенный арил- C(S)- , гетероарил- C(S)- , замещенный гетероарил- C(S)- , гетероцикл- C(S)- и замещенный гетероцикл- C(S)- , где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, циклоалкенил, замещенный циклоалкенил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл являются такими, как определено в данном документе.

[0120] «Тиол» относится к группе -SH .

[0121] «Тиокарбонил» относится к двухвалентной группе -C(S)- , что является эквивалентом -C(=S)- .

[0122] «Тиоксо» относится к атому (=S) .

[0123] «Алкилтио» относится к группе -S-алкил , в которой алкил является таким, как определено в данном документе.

[0124] «Замещенный алкилтио» относится к группе $\text{-S-(замещенный алкил)}$, в которой замещенный алкил определен в данном документе.

[0125] Замещенное кольцо может быть замещено одним или более конденсированными и/или спироциклами. Такие конденсированные циклы включают конденсированное циклоалкильное, конденсированное гетероциклильное, конденсированное гетероарильное кольцо, каждое из которых может быть незамещенным или замещенным. Такие спироциклы включают конденсированное циклоалкильное и конденсированное гетероциклильное кольцо, каждое из которых может быть незамещенным или замещенным.

[0126] Выражение «необязательно замещенная» относится к группе, выбранной из этой группы и замещенной формы этой группы. Заместители являются такими, как определены выше в данном документе. В одном варианте осуществления заместители выбраны из $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ или $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкила, замещенного $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ или $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкила, $\text{C}_2\text{-C}_6$ алкенила, $\text{C}_2\text{-C}_6$ алкинила, $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ арила, $\text{C}_3\text{-C}_8$ циклоалкила, $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ гетероциклила, $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ гетероарила, замещенного $\text{C}_2\text{-C}_6$ алкенила, замещенного $\text{C}_2\text{-C}_6$ алкинила, замещенного $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ арила, замещенного $\text{C}_3\text{-C}_8$ циклоалкила, замещенного $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ гетероциклила, замещенного $\text{C}_1\text{-C}_{10}$

гетероарила, галогена, нитро, циано, $-\text{CO}_2\text{H}$ или их сложного $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкильного эфира.

[0127] Если не указано иное, номенклатура заместителей, которые явно не указаны в данном документе, основана на названии концевой части функциональной группы, за которой следует соседняя функциональная группа, в направлении точки присоединения. Например, заместитель «алкоксикарбонилалкил» относится к группе (алкокси)- $\text{C}(\text{O})$ -(алкил)-.

[0128] Понятно, что во всех замещенных группах, определенных выше, полимеры, полученные путем определения заместителей с дополнительными заместителями их самих (например, замещенный арил, имеющий замещенную арильную группу в качестве заместителя, который сам замещен замещенной арильной группой, и т. д.), не включены в данный документ. В таких случаях максимальное число таких заместителей составляет три. Это означает, что каждое из вышеприведенных определений в некоторой степени ограничено, например, замещенные арильные группы ограничены группами –замещенный арил-(замещенный арил)-замещенный арил.

[0129] Понятно, что вышеприведенные определения не подразумевают включения недопустимых вариантов замещения (например, метил, замещенный 5 фтор-группами). Такие недопустимые варианты замещения хорошо известны специалисту в данной области техники.

[0130] «Таутомер» относится к альтернативным формам соединения, которые отличаются положением протона, таким как кето-енольные или имин-енаминные таутомеры, или к таутомерным формам гетероарильных групп, содержащим кольцевой атом, присоединенный как к кольцевому $-\text{NH}$ -фрагменту, так и к кольцевому $=\text{N}$ -фрагменту, таким как пиразолы, имидазолы, бензимидазолы, триазолы и тетразолы.

[0131] В контексте данного документа термин стереохимически чистый обозначает соединение, которое содержит 80 % или более по массе указанного стереоизомера и 20 % или менее по массе других стереоизомеров. В дополнительном варианте осуществления соединение формулы (I) содержит 90 % или более по массе указанного стереоизомера и 10 % или менее по массе других стереоизомеров. В другом дополнительном варианте осуществления соединение формулы (I) содержит 95 % или более по массе указанного стереоизомера и 5 % или менее по массе других стереоизомеров. В еще одном другом дополнительном варианте осуществления соединение формулы (I)

содержит 97 % или более по массе указанного стереоизомера и 3 % или менее по массе других стереоизомеров.

[0132] «Фармацевтически приемлемая соль» относится к солям соединения, которые подходят для фармацевтического применения и получены из ряда органических и неорганических противоионов, хорошо известных в данной области техники и включающих, когда соединение содержит кислую функциональную группу, только в качестве примера, натрий, калий, кальций, магний, аммоний и тетраалкиламмоний; и когда молекула содержит основную функциональную группу, соли органических и неорганических кислот, такие как гидрохлорид, гидробромид, тартрат, мезилат, ацетат и оксалат (смотрите Stahl and Wermuth, eds., "Handbook of Pharmaceutically Acceptable Salts," (2002), Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, Switzerland, в отношении обсуждения фармацевтических солей, их выбора, получения и применения).

[0133] В общем случае фармацевтически приемлемые соли представляют собой такие соли, которые по существу сохраняют один или более видов необходимой фармакологической активности родительского соединения и которые подходят для *in vivo* введения. Фармацевтически приемлемые соли включают соли добавления кислот, образуемые с неорганическими кислотами и органическими кислотами. Неорганические кислоты, подходящие для образования фармацевтически приемлемых солей добавления кислот, включают в качестве примера, но не ограничения, гидрогалогенидные кислоты (например, хлористоводородную кислоту, бромистоводородную кислоту, йодистоводородную кислоту, и т. д.), серную кислоту, азотную кислоту, фосфорную кислоту и т. п.

[0134] Органические кислоты, подходящие для образования фармацевтически приемлемых солей добавления оснований, включают в качестве примера, но не ограничения, уксусную кислоту, трифторуксусную кислоту, пропионовую кислоту, гексановую кислоту, цикlopentanпропионовую кислоту, гликолевую кислоту, щавелевую кислоту, пировиноградную кислоту, молочную кислоту, малоновую кислоту, янтарную кислоту, яблочную кислоту, малеиновую кислоту, фумаровую кислоту, винную кислоту, лимонную кислоту, пальмитиновую кислоту, бензойную кислоту, 3-(4-гидроксibenzoил)бензойную кислоту, коричную кислоту, миндальную кислоту, алкилсульфоновые кислоты (например, метансульфоновую кислоту, этансульфоновую кислоту, 1,2-этандисульфоновую кислоту, 2-гидроксиэтансульфоновую кислоту и т. д.), арилсульфоновые кислоты (например, бензолсульфоновую кислоту, 4-хлорбензолсульфоновую кислоту, 2-нафталинсульфоновую кислоту, 4-толуолсульфоновую кислоту,

камфорсульфоновую кислоту и т. д.), глутаминовую кислоту, гидроксинафтольную кислоту, салициловую кислоту, стеариновую кислоту, муконовую кислоту и т. п.

[0135] Фармацевтически приемлемые соли также включают соли, образуемые, когда кислый протон, присутствующий в родительском соединении замещен ионом металла (например, ионом щелочного металла, ионом щелочноземельного металла или ионов алюминия) или ионом аммония (например, ионом аммония, полученным из органического основания, такого как, этаноламин, диэтанолламин, триэтанолламин, морфолин, пиперидин, диметиламин, диэтиламин, триэтиламин и аммиак).

[0136] «Эффективное количество» представляет собой количество, достаточное для обеспечения полезных или необходимых результатов. Эффективное количество можно вводить за одно или более введений, применений или в одной или более дозировках. Такая доставка зависит от ряда переменных, включая период времени, в течение которого предполагается использовать индивидуальную единичную дозировку, биодоступность терапевтического агента, путь введения и т. д. При этом понятно, что конкретные уровни доз терапевтических агентов, описанных в данном документе, в случае любого конкретного субъекта зависят от ряда факторов, включая активность конкретного применяемого соединения, биодоступность соединения, путь введения, возраст животного и его массу тела, общее состояние здоровья, пол и рацион животного, время введения, скорость выведения, лекарственную комбинацию и тяжесть конкретного расстройства, подлежащего лечению, а также форму введения. В общем случае желательно вводить количество соединения, которое является эффективным для достижения сывороточного уровня, соразмерного концентрациям, которые по имеющимся данным являются эффективными *in vivo*. Эти аспекты, а также эффективные составы и процедуры введения хорошо известны в данной области техники и описаны в стандартных руководствах.

[0137] «Терапевтически эффективное количество» лекарственного препарата или агента относится к количеству лекарственного препарата или агента, достаточному для получения фармакологического ответа, такого как ингибирование биологической мишени (например, дУТФазы); или, в альтернативном варианте, представляет собой количество лекарственного препарата или агента, которого при введении пациенту с указанным расстройством или заболеванием, достаточно для обеспечения предполагаемого эффекта, например, лечения, смягчения, уменьшения интенсивности, облегчения

или устранения одного или более проявлений указанного расстройства или заболевания у пациента. Терапевтический эффект необязательно проявляется при введении одной дозы и может проявляться только после введения ряда доз. Таким образом, терапевтически эффективное количество можно вводить за одно
5 или более введений.

[0138] В контексте данного документа «лечение» заболевания у субъекта относится к (1) предотвращению появления симптомов заболевания у субъекта, который к нему предрасположен, но у которого еще не проявляются симптомы заболевания; (2) ингибированию заболевания или прекращению его развития;
10 или (3) уменьшению интенсивности или регрессии заболевания или симптомов заболевания. Как известно в данной области техники, термин «лечение» представляет собой подход для получения благоприятных или необходимых результатов, включая клинические результаты. В целях данной технологии благоприятные или необходимые результаты могут включать, но не
15 ограничиваются этим, одно или более из облегчения или уменьшения интенсивности одного или более симптомов, уменьшения степени патологического состояния (включая заболевание), стабилизации (т. е. отсутствие ухудшения) патологического состояния (включая заболевание), задержки или замедления патологического состояния (включая заболевание),
20 прогрессирования, уменьшения степени или облегчения патологического состояния (включая заболевание), состояние ремиссии (частичной или полной), выявляемые или невыявляемые. В одном аспекте лечение исключает профилактику.

[0139] Когда заболевание представляет собой рак, следующие клинические
25 точки являются неограничивающими примерами лечения: (1) элиминация рака у субъекта, или в ткани/органе субъекта, или в участке рака; (2) уменьшение опухолевой нагрузки (например, числа раковых клеток, числа очагов рака, числа раковых клеток в очагах, размера солидного рака, концентрации жидкого рака в физиологической жидкости и/или количества рака в организме); (3) стабилизация,
30 или задержка, или замедление, или подавление роста и/или развития рака, включая, но не ограничиваясь этим, рост и/или деление раковых клеток, увеличение размера солидной опухоли или участка рака, прогрессирование и/или метастазирование рака (например, время для образование нового метастаза, общее число метастазов, размер метастазов, а также ряд тканей/органов,
35 содержащих метастатические клетки); (4) снижение риска роста и/или развития рака; (5) индукция иммунного ответа пациента на рак, например, большего числа

опухоль-инфильтрирующих иммунных клеток, большего числа активированных иммунных клеток или большего числа раковых клеток, экспрессирующих иммунотерапевтическую мишень, или большего уровня экспрессии иммунотерапевтической мишени в раковой клетке; (б) большая вероятность

5 выживания и/или увеличение продолжительности выживаемости, например, увеличение общей выживаемости (ОВ, которая может быть отображена уровнем 1-годовой, 2-годовой, 5-летней, 10-летней или 20-летней выживаемости), увеличение выживаемости без прогрессирования (ВБП), увеличение выживаемости без заболевания (ВБЗ), увеличение времени до повторного

10 появления опухоли (ВППО) и увеличение времени до прогрессирования опухоли (ВПО). В некоторых вариантах осуществления после лечения субъект удовлетворяет критериям одной или более конечных точек, выбранных из ответа на опухоль, уменьшения размера опухоли, уменьшения опухолевой нагрузки, увеличения общей выживаемости, увеличения выживаемости без

15 прогрессирования, ингибирования метастазирования, улучшения качества жизни, минимизации связанной с лекарствами токсичности и избежания побочных эффектов (например, уменьшение количества связанных с лечением нежелательных явлений). В некоторых вариантах осуществления улучшение качества жизни включает разрешение или улучшение симптомов, специфических

20 для рака, таких как, но не ограничиваясь этим, утомляемость, боль, тошнота/рвота, отсутствие аппетита и запор; улучшение или сохранение физиологических функций (например, степени раздражительности, депрессии, потери памяти, давления или тревожности); улучшение или сохранение социальных функций (например, снижение необходимости в помощи при

25 принятии пищи, одевании или использовании туалета; улучшение или сохранение способности к осуществлению нормальной повседневной деятельности, хобби или социальной активности; улучшение или сохранение взаимоотношений с семьей). В некоторых вариантах осуществления улучшение качества жизни пациента определяют качественно на основании показаний

30 пациента или количественно, используя валидированные инструменты по оценке качества жизни, известные специалистам в данной области техники, или их комбинации. Дополнительные неограничивающие примеры конечных точек включают уменьшение числа госпитализаций, уменьшение количества применяемых препаратов для лечения побочных эффектов, более длительные

35 периоды без лечения и более ранний возврат к работе или исполнению

обязанностей. В одном аспекте предотвращение или профилактика исключены из понятия лечение.

[0140] В контексте данного документа иммунные клетки представляют собой клетки иммунной системы, включая, но не ограничиваясь этим, лимфоциты (такие как Т-клетки, В-клетки, естественные клетки-киллеры (NK) и естественные Т-клетки-киллеры (NKT)), миелоидные клетки (такие как гранулоциты (базофилы, эозинофилы, нейтрофилы, тучные клетки), моноциты, макрофаги и дендритные клетки (ДК)). Т-клетки делятся на две широкие категории: CD8+ Т-клетки или CD4+ Т-клетки, в зависимости от того, какой белок присутствует на клеточной поверхности. CD8+ Т-клетки также называются цитотоксическими Т-клетками или цитотоксическими лимфоцитами (ЦТЛ). Четыре основных подгруппы CD4+ Т-клеток представляют собой TH1, TH2, TH17 и Treg, при этом «TH» относится к «Т-хелперной клетке». Т-клетки также могут относиться к гамма-дельта Т-клеткам. Дендритные клетки (ДК) представляют собой важные антигенпрезентирующие клетки (АПК) и они также могут развиваться из моноцитов. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки относятся к клетке-киллеру, включая, но не ограничиваясь этим: цитотоксическую Т-клетку, гамма-дельта Т-клетку, NK-клетку и NK-Т-клетку. В одном варианте осуществления иммунная клетка представляет собой CD45+ клетку.

[0141] Термины «субъект», «хозяин», «индивид» и «пациент» взаимозаменяемо используются в данном документе и относятся к животным, как правило, млекопитающим животным. Любое подходящее млекопитающее можно лечить способом, описанным в данном документе. Неограничивающие примеры млекопитающих включают людей, отличных от человека приматов (например, человекообразных обезьян, гиббонов, шимпанзе, орангутанов, обезьян, макак и т. п.), домашних животных (например, собак и кошек), сельскохозяйственных животных (например, лошадей, коров, коз, овец, свиней) и экспериментальных животных (например, мышей, крыс, кроликов, морских свинок). В некоторых вариантах осуществления млекопитающие представляет собой человека. Млекопитающее может быть любого возраста и находиться на любой стадии развития (например, взрослый, подросток, ребенок, грудной ребенок или зародыш). Млекопитающее может быть мужского или женского пола. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой человека. В некоторых вариантах осуществления субъект имеет, или диагностирован как имеющий, или предположительно имеет рак.

[0142] В определенных вариантах осуществления термины «заболевание», «расстройство» и «патологическое состояние» используются взаимозаменяемо в данном документе для обозначения рака, статуса диагноза рака или статуса подозрения на рак. «Рак», который также называется в данном документе «опухолью», известен в области медицины как неконтролируемое деление аномальных клеток в части организма, доброкачественное или злокачественное. В одном варианте осуществления рак относится к злокачественному новообразованию, широкой группе заболеваний, связанных с нерегулируемым делением и ростом клеток и их инвазией в близлежащие части организма. Неограничивающие примеры видов рака включают карциномы, саркомы, лейкозы и лимфомы, например, рак толстой кишки, колоректальный рак, ректальный рак, рак желудка, рак пищевода, рак головы и шеи, рак молочной железы, рак головного мозга, рак легкого, рак желудка, рак печени, рак желчного пузыря или рак поджелудочной железы. В одном варианте осуществления термин «рак» относится к солидной опухоли, которая представляет собой аномальную массу ткани, которая обычно не содержит кист или участков жидкости, включая, но не ограничиваясь этим, саркомы, карциномы, определенные лимфомы (такие как неходжкинская лимфома). В другом варианте осуществления термин «рак» относится к жидкому раку, который представляет собой рак, присутствующий в физиологических жидкостях (таких как кровь и костный мозг), например, лейкозы (гемобластозы) и определенные лимфомы.

[0143] В дополнительном или альтернативном варианте рак может относиться к местному раку (который представляет собой инвазивный злокачественный рак, полностью ограниченный органом или тканью, в которых рак возник), метастатическому раку (относящемуся к раку, который распространяется от места его происхождения в другую часть организма), неметастатическому раку, первичному раку (термин, используемый для описания исходного рака у субъекта), вторичного рака (относящегося к метастазам первичного рака или вторичному раку, не связанному с исходным раком), распространенному раку, неоперабельному раку или рецидивному раку. В контексте данного документа распространенный рак относится к раку, который прогрессировал после прохождения одного или более из: первой линии терапии, второй линии терапии или третьей линии терапии.

[0144] Термин «приведение в контакт» означает прямое или не прямое связывание или взаимодействие между двумя или более элементами. Конкретным примером прямого взаимодействия является связывание.

Конкретным примером непрямого взаимодействия является случай, когда один элемент действует на промежуточную молекулу, которая в свою очередь действует на второй указанный элемент. В контексте данного документа приведение в контакт включает в растворе, в твердой фазе, *in vitro*, *ex vivo*, в клетке и *in vivo*. Приведение в контакт *in vivo* может называться введением.

[0145] В контексте данного документа термин «введение» используется для обозначения внесения агента в организм субъекта. Пути введения включают, но не ограничиваются этим, пероральный (например, в виде таблетки, капсулы или суспензии), местный, трансдермальный, интраназальный, вагинальный, ректальный, подкожный, внутривенный, внутриартериальный, внутримышечный, внутрикостный, внутрибрюшинный, внутриглазной, субконъюнктивальный, субтеновый, интравитреальный, ретробульбарный, интракамеральный, внутриопухолевый, эпидуральный и интратекальный.

[0146] «Иммунотерапевтический агент» обозначает тип противоракового лечения, в котором используется собственная иммунная система пациента для борьбы с раком, включая, но не ограничиваясь этим, физическое вмешательство, химическое вещество, биологическую молекулу или частицу, клетку, ткань или орган, или любые их комбинации, который усиливает, активирует или инициирует иммунный ответ пациента против рака. Неограничивающие примеры иммунотерапевтических агентов включают антитела, иммунные регуляторы, ингибиторы контрольных точек, антисмысловые олигонуклеотиды (АСО), РНК-интерференцию (РНКи), систему на основе коротких палиндромных повторов, регулярно расположенных группами (CRISPR), вирусный вектор, противораковую клеточную терапию (например, трансплантацию противораковых иммунных клеток, необязательно амплифицированных и/или активированных *in vivo*, или введение экспрессирующих иммунные клетки химерных антигенных рецепторов (CAR)), терапию CAR и противораковые вакцины. В контексте данного документа, если не указано иное, иммунотерапевтический агент не представляет собой ингибитор биосинтеза тимидилата, или антрациклин, или другой ингибитор топоизомеразы II. В контексте данного документа иммунная контрольная точка относится к регулятору и/или модулятору иммунной системы (например, иммунного ответа, противоопухолевого иммунного ответа, возникающего противоопухолевого иммунного ответа, ответа противоопухолевой иммунной клетки, ответа противоопухолевой Т-клетки и/или распознавания антигена Т-клеточного рецептора в процессе иммунного ответа). Их взаимодействие активирует ингибирующие или активирующие иммунные сигнальные пути. Таким

образом, контрольная точка может содержать один из двух сигналов: стимулирующая иммунная контрольная точка, которая стимулирует иммунный ответ, и ингибирующая иммунная контрольная точка, которая ингибирует иммунный ответ. В некоторых вариантах осуществления иммунная контрольная точка является критически важной для аутоотолерантности, которая предотвращает атаку иммунной системой всех клеток подряд. Однако некоторые раки могут защищать себя от атаки путем стимуляции мишеней иммунных контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления иммунные контрольные точки находятся на Т-клетках, антигенпрезентирующих клетках (АПК) и/или опухолевых клетках.

[0147] Одной из мишеней иммунотерапевтического агента является опухолеспецифический антиген, в то время как иммунотерапия направляет или усиливает распознавание и атаку иммунной системой опухолевых клеток. Неограничивающие примеры таких агентов включают противораковую вакцину, презентующую опухолеспецифический антиген иммунной системе пациента, моноклональное антитело или конъюгат антитела и лекарственного препарата, специфически связывающиеся с опухолеспецифическим антигеном и иммунной клеткой, биспецифическое антитело, специфически связывающееся с опухолеспецифическим антигеном и иммунной клеткой (такое как рекрутер Т-клеток или рекрутер NK-клеток), иммунную клетку (такую как клетка-киллер), специфически связывающуюся с опухолеспецифическим антигеном (такую как CAR-T-клетка, CAR-NK-клетка и CAR-NKT-клетка), полинуклеотид (или содержащий его вектор), трансфицирующий/трансдуцирующий иммунную клетку для экспрессии опухолеспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (такого как CAR), или полинуклеотид (или содержащий его вектор), трансфицирующий/трансдуцирующий раковую клетку для экспрессии антигена или маркера, который может распознавать иммунная клетка.

[0148] Другой типовой мишенью является ингибирующая иммунная контрольная точка, которая подавляет возникающий противоопухолевый иммунный ответ, такая как A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, CTLA-4/B7-1/B7-2, IDO, KIR, LAG3, NOX2, PD-1, PD-L1 и TIM-3, VISTA, SIGLEC7 (иммуноглобулин-подобный лектин 7, связывающий сиаловую кислоту, также обозначаемый CD328) и SIGLEC9 (иммуноглобулин-подобный лектин 9, связывающий сиаловую кислоту, также обозначаемый CD329). Неограничивающие примеры таких агентов включают антагонист или ингибитор ингибирующих иммунных контрольных точек, агент, снижающий экспрессию и/или активность

ингибирующих иммунных контрольных точек (например, посредством антисмыслового олигонуклеотида (ACO), РНК-интерференции (РНКи), системы на основе коротких палиндромных повторов, регулярно расположенных группами (CRISPR)), антитело или конъюгат антитела и лекарственного препарата, или лиганд, специфически связывающие и снижающие (или ингибирующие) активность ингибирующих иммунных контрольных точек, иммунную клетку со сниженным количеством (или ингибированием) ингибирующих иммунных контрольных точек (и необязательно специфически связывающуюся с опухолеспецифическим антигеном, такую как CAR-T-клетка, CAR-NK-клетка и CAR-NKT-клетка) и полинуклеотид (или содержащий его вектор), трансфицирующий/трансдуцирующий иммунную клетку или раковую клетку для снижения количества или ингибирования ингибирующих иммунных контрольных точек. Снижение экспрессии или активности таких ингибирующих иммунных контрольных точек усиливает иммунный ответ пациента на рак.

[0149] Дополнительной возможной мишенью иммунотерапии является молекула стимулирующей контрольной точки (включая, но не ограничиваясь этим, 4-1BB, CD27, CD28, CD40, CD122, CD137, OX40, GITR и ICOS), при этом иммунотерапевтический агент активирует или усиливает противоопухолевый иммунный ответ. Неограничивающие примеры таких агентов включают агонист стимулирующих контрольных точек, агент, повышающий экспрессию и/или активность стимулирующих иммунных контрольных точек, антитело или конъюгат антитела и лекарственного препарата, или лиганд, специфически связывающие и активирующие или повышающие активность стимулирующих иммунных контрольных точек, иммунную клетку с повышенной экспрессией и/или активностью стимулирующих иммунных контрольных точек (и необязательно специфически связывающуюся с опухолеспецифическим антигеном, такую как CAR-T-клетка, CAR-NK-клетка и CAR-NKT-клетка) и полинуклеотид (или содержащий его вектор), трансфицирующий/трансдуцирующий иммунную клетку или раковую клетку для экспрессии стимулирующих иммунных контрольных точек.

[0150] Дополнительные или альтернативные мишени могут использоваться иммунотерапевтическим агентом, таким как иммунорегулирующий агент, включая, но не ограничиваясь этим, агент, активирующий иммунную клетку, агент, рекрутирующий иммунную клетку к месту рака или раковой клетке, или агент, повышающий инфильтрацию иммунных клеток в участки солидной опухоли

и/или рака. Неограничивающим примером такого агента является иммунный регулятор или его вариант, мутант, фрагмент, эквивалент.

[0151] В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент использует одну или более мишеней, например привлекающий Т-клетки биспецифический активатор, привлекающий NK-клетки биспецифический активатор или терапия CAR-клетками. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент нацелен на одну или более иммунорегулирующих или эффекторных клеток.

[0152] В контексте данного документа термин «антитело» в целом относится к иммуноглобулинам или иммуноглобулин-подобным молекулам, включая, в качестве примера и без ограничения, IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, их комбинации и сходные молекулы, вырабатываемые во время иммунного ответа у любого позвоночного, например у млекопитающих, таких как люди, козы, кролики, крысы, собаки, ослы, мыши, верблюдовые (например, дромедара, ламы и альпака), а также отличных от млекопитающих видов, таких как акулы и иммуноглобулины. Если специально не указано иное, термин «антитело» включает интактные иммуноглобулины и «фрагменты антител» или «антигенсвязывающие фрагменты», которые специфически связываются с представляющей интерес молекулой (или группой представляющих интерес молекул с высокой степенью сходства), практически исключая связывание с другими молекулами (например, антитела и фрагменты антител, которые имеют константу связывания в отношении представляющей интерес молекулы, которая составляет по меньшей мере на 10^3 M^{-1} больше, по меньшей мере на 10^4 M^{-1} больше или по меньшей мере на 10^5 M^{-1} больше, чем константа связывания в отношении других молекул в биологическом образце). Термин «антитело» также включает генетически сконструированные формы, такие как химерные антитела (например, мышинные или гуманизированные антитела от отличных от приматов животных), гетероконъюгированные антитела (такие как биспецифические антитела). Смотрите также Pierce Catalog and Handbook, 1994-1995 (Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.); Owen et al., *Kuby Immunology*, 7th Ed., W.H. Freeman & Co., 2013; Murphy, *Janeway's Immunobiology*, 8th Ed., Garland Science, 2014; Male et al., *Immunology* (Roitt), 8th Ed., Saunders, 2012; Parham, *The Immune System*, 4th Ed., Garland Science, 2014. Термин «антитело» включает любой белок или пептид, содержащий молекулу, которая содержит по меньшей мере часть молекулы иммуноглобулина, например цельное антитело и любые его антигенсвязывающий фрагмент или одиночную цепь. Термины «антитело»,

«антитела» и «иммуноглобулины» также включают иммуноглобулины любого изотипа, фрагменты антител, которые сохраняют специфическое связывание с антигеном, включая, но не ограничиваясь этим, фрагменты Fab, Fab', F(ab)₂, Fv, scFv, dsFv, Fd, dAb, домены VH, VL, VhH и V-NAR; минитела, диатела, триатела, тетратела и каппа-тела; мультиспецифические фрагменты антител, образованные из фрагментов антител, и один или более выделенных фрагментов. Их примеры включают, но не ограничиваются этим, определяющую комплементарность область (CDR) тяжелой или легкой цепи или их лигандсвязывающей части, варибельную область тяжелой цепи или легкой цепи, константную область тяжелой цепи или легкой цепи, каркасную (FR) область или любую их часть, по меньшей мере часть связывающего белка, химерные антитела, гуманизированные антитела, одноцепочечные антитела и слитые белки, содержащие антигенсвязывающую часть антитела и отличный от антитела белок. Варибельные области тяжелой и легкой цепей молекулы иммуноглобулина содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные области антител (Ab) могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями организма-хозяина. Антитела могут быть поликлональными, моноклональными, мультиспецифическими (например, биспецифические антитела) и фрагментами антител при условии, что они демонстрируют необходимую биологическую активность.

[0153] В контексте данного документа термин «моноклональное антитело» относится к антителу, вырабатываемому одним клоном В-лимфоцитов или клеткой, в которую были трансфицированы гены легкой и тяжелой цепи одного антитела. Моноклональные антитела получают способами, известными специалистам в данной области техники, например, путем создания гибридных антителообразующих клеток из слияния клеток миеломы с иммунными клетками селезенки. Моноклональные антитела включают гуманизированные моноклональные антитела.

[0154] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, привлекающее иммунные клетки, которое относится к биспецифическому моноклональному антителу, способному распознавать и специфически связывать опухолевый антиген (такой как CD19, EpCAM, MCSP, HER2, EGFR или CS-1) и иммунную клетку и направлять иммунную клетку к раковым клеткам, тем самым обеспечивая лечение рака. Неограничивающие примеры таких антител включают привлекающий Т-клетки биспецифический активатор, привлекающий цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) биспецифический

активатор и привлекающий NK-клетки биспецифический активатор В одном варианте осуществления привлекающий активатор представляет собой слитый белок, состоящий из двух одноцепочечных вариабельных фрагментов (scFv) разных антител. В дополнительном или альтернативном варианте иммунная

5 клетка представляет собой клетку-киллер, включая, но не ограничиваясь этим: цитотоксическую Т-клетку, гамма-дельта Т-клетку, NK-клетку и NK-Т-клетку.

[0155] В контексте данного документа термин «антигенсвязывающий домен» относится к любому белковому или полипептидному домену, который может специфически связываться с антигеном-мишенью.

10 **[0156]** В контексте данного документа термин «химерный антигенный рецептор» (CAR) относится к слитому белку, содержащему внеклеточный домен, способный связываться с антигеном, трансмембранный домен, полученный из полипептида, отличного от полипептида, из которого получен внеклеточный домен, и по меньшей мере один внутриклеточный домен. «Химерный антигенный

15 рецептор (CAR)» иногда называют «химерным рецептором», «Т-телом» или «химерным иммунным рецептором (CIR)». «Внеклеточный домен, способный связываться с антигеном» означает любой олигопептид или полипептид, который может связываться с определенным антигеном. «Внутриклеточный домен» или «внутриклеточный сигнальный домен» означает любой олигопептид или

20 полипептид, который функционирует как домен, который передает сигнал для осуществления активации или ингибирования биологического процесса в клетке. В определенных вариантах осуществления внутриклеточный домен может содержать, в альтернативном варианте — состоять преимущественно из или дополнительно содержать один или более костимулирующих сигнальных

25 доменов помимо основного сигнального домена. «Трансмембранный домен» означает любой олигопептид или полипептид, который пересекает клеточную мембрану и который может служить для связывания внеклеточного и сигнального доменов. Химерный антигенный рецептор может необязательно содержать «шарнирный домен», который служит линкером между внеклеточным и

30 трансмембранным доменами.

[0157] В контексте данного документа терапия CAR может относиться к введению субъекту иммунной клетки, экспрессирующей CAR, а также контакт вектора, экспрессирующего CAR, в иммунной клетке (например *in vivo*).

[0158] В контексте данного документа термин «NK-клетка», также известная как

35 естественная клетка-киллер, относится к типу лимфоцитов, которые вырабатываются в костном мозге и играют критически важную роль во

врожденном иммунитете. NK-клетки обеспечивают быстрые иммунные ответы против инфицированных вирусами клеток, опухолевых клеток или других стрессовых клеток даже в отсутствие антител и главного комплекса гистосовместимости на клеточных поверхностях. NK-клетки для применения в клеточной терапии и/или терапии CAR можно выделять или получать из коммерчески доступного источника. Неограничивающие примеры коммерческих линий NK-клеток включают линии NK-92 (ATCC® CRL-2407™), NK-92MI (ATCC® CRL-2408™). Дополнительные примеры включают, но не ограничиваются этим, NK-линии HANK1, KHYG-1, NKL, NK-YS, NOI-90 и YT. Неограничивающие типовые источники таких коммерчески доступных линий клеток включают Американскую коллекцию типовых культур или ATCC, (<http://www.atcc.org/>) и Немецкую коллекцию микроорганизмов и культур клеток (<https://www.dsmz.de/>).

[0159] В контексте данного документа термин «Т-клетка» относится к типу лимфоцитов, созревающих в тимусе. Т-клетки играют важную роль в клеточном иммунитете и отличаются от других лимфоцитов, таких как В-клетки, наличием Т-клеточного рецептора на поверхности клетки. Т-клетки для применения в клеточной терапии и/или терапии CAR можно выделять или получать из коммерчески доступного источника. «Т-клетка» включает все типы иммунных клеток, экспрессирующих CD3, включая Т-хелперные клетки (CD4+ клетки), цитотоксические Т-клетки (CD8+ клетки), естественные Т-клетки-киллеры, Т-регуляторные клетки (Treg) и гамма-дельта Т-клетки. «Цитотоксическая клетка» включает CD8+ Т-клетки, естественные клетки-киллеры (NK) и нейтрофилы, которые способны опосредовать цитотоксические ответы. Неограничивающие примеры коммерчески доступных линий Т-клеток включают линии BCL2 (AAA) Jurkat (ATCC® CRL-2902™), BCL2 (S70A) Jurkat (ATCC® CRL-2900™), BCL2 (S87A) Jurkat (ATCC® CRL-2901™), BCL2 Jurkat (ATCC® CRL-2899™), Neo Jurkat (ATCC® CRL-2898™), линию цитотоксических Т-клеток человека TALL-104 (ATCC № CRL-11386). Дополнительные примеры включают, но не ограничиваются этим, линии зрелых Т-клеток, например, Deglis, EBT-8, HPB-MLp-W, HUT 78, HUT 102, Karpas 384, Ki 225, My-La, Se-Ax, SKW-3, SMZ-1 и T34; и линии незрелых Т-клеток, например, ALL-SIL, Be13, CCRF-CEM, CML-T1, DND-41, DU.528, EU-9, HD-Mar, HPB-ALL, H-SB2, HT-1, JK-T1, Jurkat, Karpas 45, KE-37, KOPT-K1, K-T1, L-KAW, Locusy, MAT, MOLT-1, MOLT 3, MOLT-4, MOLT 13, MOLT-16, MT-1, MT-ALL, P12/Ichikawa, Peer, PER0117, PER-255, PF-382, PFI-285, RPMI-8402, ST-4, SUP-T1-T14, TALL-1, TALL-101, TALL-103/2, TALL-104, TALL-105, TALL-106, TALL-107, TALL-197, TK-6, TLBR-1, -2, -3 и -4, CCRF-HSB-2 (CCL-120.1), J.RT3-T3.5 (ATCC

TIB-153), J45.01 (ATCC CRL-1990), J.CaM1.6 (ATCC CRL-2063), RS4;11 (ATCC CRL-1873), CCRF-CEM (ATCC CRM-CCL-119); и линии кожной Т-клеточной лимфомы, например, HuT78 (ATCC CRM-TIB-161), MJ[G11] (ATCC CRL-8294), HuT102 (ATCC TIB-162). Нулевые линии клеток лейкоза, включая, но не ограничиваясь этим, REH, NALL-1, KM-3, L92-221, являются другим коммерчески доступным источником иммунных клеток для применения в терапии CAR, как и клетки, полученные из других лейкозов и лимфом, такие как клетки эритролейкоза K562, клетки моноцитарного лейкоза THP-1, клетки лимфомы U937, клетки эритролейкоза HEL, клетки лейкоза HL60, клетки лейкоза HMC-1, клетки лейкоза KG-1, клетки миеломы U266. Неограничивающие типовые источники таких коммерчески доступных линий клеток включают Американскую коллекцию типовых культур или ATCC, (<http://www.atcc.org/>) и Немецкую коллекцию микроорганизмов и культур клеток (<https://www.dsmz.de/>).

[0160] В контексте данного документа «опухолеспецифический антиген»

относится к антигенному компоненту, вырабатываемому в опухолевых клетках, способному инициировать иммунный ответ у субъекта. В некоторых вариантах осуществления опухолеспецифический антиген не экспрессируется на или в клетке субъекта, которая не является раковой клеткой. В некоторых вариантах осуществления опухолеспецифический антиген может экспрессироваться в или на некоторых нераковых клетках. Например, опухолеспецифический антиген может экспрессироваться на поверхности нераковой клетки у субъекта. В одном варианте осуществления опухолеспецифический антиген может экспрессироваться в или на нераковой клетке субъекта, но на намного меньшем уровне по сравнению с раковой клеткой. В другом варианте осуществления опухолеспецифический антиген может экспрессироваться в или на нераковой клетке субъекта, которая не является смежной с раком или раковой клеткой. Неограничивающие примеры опухолеспецифических антигенов включают: альфафетопротеин (AFP), бета-2-микроглобулин (B2M), хорионический гонадотропин человека-бета (Beta-hCG), антиген рака мочевого пузыря (BTA), C-kit/CD117, CA15-3/CA27.29, CA19-9, CA-125, CA 27.29, кальцитонин, карциноэмбриональный антиген (CEA), хромогранин А (CgA), фрагмент цитокератина 21-1, дес-гамма-карбоксипротромбин (DCP), рецептор эстрогена (ER)/рецептор прогестерона (PR), эпителиальный опухолевый антиген (ETA), фибрин/фибриноген, гастрин, HE4, сверхэкспрессируемый HER2/neu, 5-HIAA, лактатдегидрогеназу, ассоциированный с меланомой антиген (MAGE), MUC-1, нейронспецифическую энолазу (NSE), белок ядерного матрикса 22, лиганд белка

программируемой гибели клеток 1 (PD-L1), специфический антиген простаты (PSA), простатическую кислую фосфатазу (PAP), растворимые пептиды семейства мезотелина (SMRP), рецептор соматостатина, тирозиназу, тиреоглобулин, аномальные продукты *gas*, p53, фолатный рецептор альфа, 5T4, $\alpha\beta6$ интегрин, BCMA, B7-H3, B7-H6, CAIX, CD16, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD70, CD79a, CD79b, CD123, CD138, CD171, CEA, CSPG4, EGFR, семейство EGFR, включая ErbB2 (HER2), EGFRvni, EGP2, EGP40, EPCAM, EphA2, EpCAM, FAP, фетальный AchR, FRoc, GD2, GD3, глипикан-3 (GPC3), HL A- A 1 +M AGE 1 , HLA-A2+MAGE1, HL A- A3 +M AGE 1 , HLA-A1+NY-ESO-1, HL A-A2+NY-ESO- 1 , HLA-A3+NY-ESO- 1 , IL- 1 IRoc, IL-13Ra2, лямбда, Льюис-Y, каппа, мезотелин, Mucl, Mucl6, NCAM, лиганды NKG2D, NY-ESO-1, PRAME, PSCA, PSMA, ROR1, SSX, сурвивин, TAG72, TEMs, VEGFR2 и WT-1.

[0161] В контексте данного документа «вектор» относится к конструкции, которая способна доставлять и, в некоторых вариантах осуществления экспрессировать, полинуклеотид в клетку. Неограничивающие примеры векторов для доставки включают вирусные векторы, экспрессионные векторы на основе нуклеиновых кислот (такие как плаزمиды), оголенную ДНК и некоторые эукариотические клетки (например, вырабатывающие клетки). В некоторых вариантах осуществления описанные в изобретении нуклеиновые кислоты доставляют с помощью вирусного вектора. Примеры вирусных векторов включают ретровирусные векторы (например, вирус лейкоза мышей Малони, MML-V), аденовирусные векторы (например, AD 100), лентивирусные векторы (например, векторы на основе HIV и FIV) и герпесвирусные векторы (например, HSV, HSV-1, HSV-2), описанные в Chira et al. (Oncotarget, 2015, 6(31); 30673-30703). В некоторых вариантах осуществления описанные в изобретении нуклеиновые кислоты доставляют с помощью аденоассоциированного (AAV) вирусного вектора (например, рекомбинантного вектора AAV (rAAV)).

[0162] В контексте данного документа термин «CRISPR» относится к методике специфической в отношении последовательности генетической манипуляции на основе пути коротких палиндромных повторов, регулярно расположенных группами. CRISPR можно использовать для проведения редактирования и/или регуляции нуклеиновых кислот, а также просто для нацеливания белков на конкретную геномную или мРНК локацию. Редактирование нуклеиновых кислот относится к типу генетического конструирования, при котором нуклеотидную последовательность целевого полинуклеотида меняют посредством внесения

делеций, вставок, расщеплений или замен оснований в полинуклеотидной последовательности. В некоторых аспектах в CRISPR-опосредованном редактировании используют пути нехомологичного соединения концов (НГСК) или гомологической рекомбинации для проведения редактирования. Регуляция нуклеиновых кислот относится к повышению или снижению выработки конкретных генных продуктов, таких как белок или РНК.

[0163] В контексте данного документа термин «гРНК» или «гидовая РНК» относится к гидовым последовательностям РНК, используемым для нацеливания на конкретные гены для коррекции с применением технологии CRISPR.

Технологии для конструирования гРНК и донорных терапевтических полинуклеотидов для целевой специфичности хорошо известны в данной области техники. Например, Doench, J., et al. Nature biotechnology 2014; 32(12):1262-7, Mohr, S. et al. (2016) FEBS Journal 283: 3232-38, и Graham, D., et al. Genome Biol. 2015; 16: 260. В некоторых вариантах осуществления гРНК содержит или, в альтернативном варианте, состоит преимущественно из, или дополнительно состоит из слитого полинуклеотида, содержащего, или состоящего преимущественно из, или дополнительно состоящего из CRISPR РНК (crРНК) и транс-активирующей CRISPR РНК (tracrРНК); или полинуклеотида, содержащего, или состоящего преимущественно из, или дополнительно состоящего из CRISPR РНК (crРНК) и транс-активирующей CRISPR РНК (tracrРНК). В некоторых вариантах осуществления гРНК является синтетической (Kelley, M. et al. (2016) J of Biotechnology 233 (2016) 74-83). В некоторых вариантах осуществления гРНК содержит, или состоит преимущественно из, или состоит из по меньшей мере первой области, которая гибридизируется с целевым полинуклеотидом; и второй области, содержащей, или состоящей преимущественно из, или дополнительно состоящей из каркаса гРНК (например, каркасной последовательности).

[0164] Термин «Cas9» относится к CRISPR-ассоциированной эндонуклеазе, называемой этим наименованием (UniProtKB G3ECR1 (CAS9_STRTR)), а также ее ортологам и биологическим эквивалентам. В некоторых вариантах осуществления у Cas9 отсутствует эндонуклеазная активность. Например, в некоторых вариантах осуществления Cas9 представляет собой мертвый Cas-9 или dCas9, у которого отсутствует эндонуклеазная активность, но сохраняется способность нацеливать на целевой полинуклеотид в присутствии гРНК. Ортологи Cas9 включают, но не ограничиваются этим Cas9 *Streptococcus pyogenes* («spCas9»); Cas9 из *Streptococcus thermophiles*, *Legionella pneumophila*,

Neisseria lactamica, *Neisseria meningitides*, *Francisella novicida*; и Cpf1 (который выполняет функции разрезания аналогично Cas9) из различных видов бактерий, включая виды *Acidaminococcus* и *Francisella novicida* U112. В некоторых вариантах осуществления Cas9 представляет собой «расщепленный Cas9», в котором Cas9 расщеплен на две половины — C-Cas9 и N-Cas9 — и слит с двумя фрагментами интеина. Смотрите, например, Volz et al. (2015) Nat Biotechnol. 33(2):139-42; Wright et al. (2015) PNAS 112(10) 2984-89. Неограничивающий типовой расщепленный Cas9 имеет C-Cas9, содержащий остатки 574–1398, и N-Cas9, содержащий остатки 1–573. Типовой расщепленный Cas9 для dCas9 включает два домена, содержащих те же самые остатки dCas9, обозначаемые dC-Cas9 и dN-Cas9.

[0165] Термины «каркас гРНК» и «каркасная последовательность» используются взаимозаменяемо и относятся к области в гидовой РНК, которая участвует в связывании CRISPR-ассоциированной эндонуклеазы (например, белка Cas).

[0166] Термин «РНК-интерференция» (РНКи) относится к специфической в отношении последовательности или специфической в отношении гена супрессии генной экспрессии (синтеза белка), которая опосредуется короткой интерферирующей РНК (киРНК) или микроРНК (миРНК).

[0167] Термин «короткая интерферирующая РНК» (киРНК) относится к двухцепочечным молекулам РНК (дцРНК) в общем случае от около 10 до около 30 нуклеотидов в длину, которые способны опосредовать РНК-интерференцию (РНКи), или 11 нуклеотидов в длину, 12 нуклеотидов в длину, 13 нуклеотидов в длину, 14 нуклеотидов в длину, 15 нуклеотидов в длину, 16 нуклеотидов в длину, 17 нуклеотидов в длину, 18 нуклеотидов в длину, 19 нуклеотидов в длину, 20 нуклеотидов в длину, 21 нуклеотидов в длину, 22 нуклеотидов в длину, 23 нуклеотидов в длину, 24 нуклеотидов в длину, 25 нуклеотидов в длину, 26 нуклеотидов в длину, 27 нуклеотидов в длину, 28 нуклеотидов в длину или 29 нуклеотидов в длину. В контексте данного документа термин киРНК включает короткую шпилечную РНК (кшРНК).

[0168] кшРНК содержат одну цепь РНК, которая образует структуру типа стебель – петля, где стебель состоит из комплементарных смысловой и антисмысловой цепей, которые составляют двухцепочечную киРНК, а петля представляет собой линкер переменного размера. Структура стебля кшРНК в общем случае содержит от около 10 до около 30 нуклеотидов в длину. Например, стебель может составлять 10–30 нуклеотидов в длину, или в альтернативном

варианте 12–28 нуклеотидов в длину, или в альтернативном варианте 15–25 нуклеотидов в длину, или в альтернативном варианте 19–23 нуклеотидов в длину, или в альтернативном варианте 21–23 нуклеотидов в длину.

[0169] Термин «двухцепочечная РНК» (дцРНК) относится к двухцепочечным молекулам РНК, которые могут иметь любую длину и могут расщепляться внутри клетки на меньшие молекулы РНК, такие как киРНК. В клетках, которые обладают компетентным ответом интерферонов, более длинные дцРНК, например длиннее чем около 30 пар оснований, могут инициировать ответом интерферонов. В других клетках, которые не обладают компетентным ответом интерферонов, дцРНК можно использовать для инициации специфической РНКи.

[0170] Инструменты, помогающие сконструировать киРНК, уже являются общедоступными. Например, компьютерный инструмент конструирования киРНК доступен в Интернете на www.dharmacon.com, Ambion.com, www.ambion.com/jp/techlib/misc/siRNA_finder.html; ThermoScientific-Dharmacon-
www.dharmacon.com/DesignCenter/DesignCenterPage.aspx; Bioinformatics Research Center-
sysbio.kribb.re.kr:8080/AsiDesigner/menuDesigner.jsf; and Invitrogenrnaidesigner.invitrogen.com/rnaiexpress/.

[0171] Термин «антисмысловый олигонуклеотид» (АСО) относится к синтетической одиночной цепи нуклеиновых кислот, которая связывается с РНК, изменяя или снижая тем самым экспрессию РНК. АСО в общем случае содержит от около 5 до около 70 нуклеотидов в длину. Например, АСО может составлять 5–50 нуклеотидов в длину, или в альтернативном варианте 8–50 нуклеотидов в длину, или в альтернативном варианте 15–40 нуклеотидов в длину, или в альтернативном варианте 10–30 нуклеотидов в длину, или в альтернативном варианте 8–40 нуклеотидов в длину.

[0172] В контексте данного документа термин «клетка» может относиться как к прокариотической, так и к эукариотической клетке, необязательно полученной от субъекта или из коммерчески доступного источника.

[0173] «Ингибитор биосинтеза тимидилата» означает ингибитор, который напрямую или косвенно влияет на путь биосинтеза тимидилата. Неограничивающие примеры ингибитора биосинтеза тимидилата включают ингибиторы тимидилатсинтазы и ингибиторы фолат-опосредованного одноуглеродного метаболизма. Неограничивающие примеры включают фторпиримидины (например, 5-фторурацил (5-FU) или адъювантную терапию на основе 5-FU, S-1 и капецитабин (Кселода®)); и антифолаты (например,

пеметрексед (Алимта®) и метотрексат). Дополнительные неограничивающие примеры включают производные пролекарств ингибиторов биосинтеза тимидилата, а также составы ингибиторов биосинтеза тимидилата с модулирующими кофакторами.

5 **[0174]** «дУТФаза» обозначает одно из следующих выражений, которые считаются синонимичными, «дезоксидирифосфат нуклеотидогидролаза», «дезоксидирифосфат пирофосфатаза», «дУТФ нуклеотидогидролаза», «дУТФ пирофосфатаза», и другую эквивалентную номенклатуру для фермента дУТФазы. В одном аспекте дУТФаза подразумевает DUT-N и DUT-M. В других
10 аспектах это только DUT-N или, в альтернативном варианте, только DUT-M. Аминокислотная и кодирующая последовательности дУТФазы известны в данной области техники и приведены в патенте США № 5962246. Способы экспрессии и скрининга в отношении уровня экспрессии фермента описаны в патенте США № 5962246 и Ladner et al. (Публикация патента США № 2011/0212467A1).

15 **[0175]** «DUT-N» означает ядерную форму дУТФазы.

[0176] «DUT-M» означает митохондриальную или цитоплазматическую форму дУТФазы.

[0177] 5-фторурацил (5-FU) относится к семейству терапевтических препаратов, называемых антиметаболитами на основе пиримидина. Он
20 представляет собой аналог пиримидина, который трансформируется в другие цитотоксические метаболиты, которые затем внедряются в ДНК и РНК, тем самым индуцируя терминацию клеточного цикла и апоптоз. Химические эквиваленты представляют собой аналоги пиримидина, которые приводят к нарушению репликации ДНК. Химические эквиваленты ингибируют развитие
25 клеточного цикла в S-фазе, что приводит к нарушению клеточного цикла и впоследствии — к апоптозу. Эквиваленты 5-FU включают пролекарства, аналоги и их производные, такие как 5'-дезоксид-5-фторуридин (доксифторидин), 1-тетрагидрофуранил-5-фторурацил (фторафур), капецитабин (Кселода®), S-1 (MBMS-247616, состоящий из тегафура и двух модуляторов, 5-хлор-2,4-
30 дигидроксипиридина и оксоната калия), ралтитрексед (томудекс), нолатрексед (Тимитак, AG337), LY231514 и ZD9331, описанные, например, в Paramichael (1999) The Oncologist 4:478-487.

[0178] «Адьювантная терапия на основе 5-FU» относится к одному 5-FU или, в альтернативном варианте, к комбинации 5-FU с одним или более другими
35 вариантами лечения, которые включают, но не ограничиваются этим, облучение, метил-CCNU, лейковорин, оксалиплатин (такой как цисплатин), иринотекан,

митомycin, цитарабин, доксорубин, циклофосфамид и левамезол, а также иммунотерапию. Конкретные схемы адъювантного лечения известны в данной области техники, например, еженедельно фторурацил/лейковорин, еженедельно фторурацил/лейковорин + бевацизумаб, FOLFOX, FOLFOX-4, FOLFOX6, модифицированная схема FOLFOX6 (mFOLFOX6), FOLFOX6 с бевацизумабом, mFOLFOX6 + цетуксимаб, mFOLFOX6 + панитумумаб, модифицированная схема FOLFOX7 (mFOLFOX7), FOLFIRI, FOLFIRI с бевацизумабом, FOLFIRI + Ziv-афлиберцепт, FOLFIRI с цетуксимабом, FOLFIRI + панитумумаб, FOLFIRI + рамуцирумаб, FOLFOXIRI, FOLFIRI с FOLFOX6, FOLFOXIRI + бевацизумаб, FOLFOXIRI + цетуксимаб, FOLFOXIRI + панитумумаб, фторурацил/лейковорин Розуэлла Парка, фторурацил/лейковорин Розуэлла Парка + бевацизумаб, раз в две недели упрощенная инфузия фторурацил/лейковорин, раз в две недели упрощенная инфузия фторурацил/лейковорин + бевацизумаб и MOF (семустин (метил-CCNU), винкристин (Онковин®) и 5-FU). Обзор этих вариантов терапии смотрите в Beaven and Goldberg (2006) *Oncology* 20(5):461-470, а также в www.cancertherapyadvisor.com/home/cancer-topics/gastrointestinal-cancers/gastrointestinal-cancers-treatment-regimens/colon-cancer-treatment-regimens/. Можно добавлять другие химиотерапевтические агенты, например, оксалиплатин или иринотекан.

[0179] Капецитабин является пролекарством (5-FU), которое преобразуется в его активную форму опухолеспецифическим ферментом пинпазой на протяжении пути с тремя ферментативными этапами и двумя метаболитами, 5'-дезоксидифторцитидином (5'-DFCR) и 5'-дезоксидифторуридином (5'-DFUR). Капецитабин продается компанией Roche под торговым наименованием Кселода®.

[0180] Лейковорил (фолиновая кислота) представляет собой адъювант, применяемый в противораковой терапии. Его применяют в синергетической комбинации с 5-FU для улучшения эффективности химиотерапевтического агента. Не ограничиваясь теорией, считается, что добавление лейковорина повышает эффективность 5-FU за счет ингибирования тимидилатсинтазы. Его применяли в качестве антидота для защиты нормальных клеток от высоких доз противоракового препарата метотрексата и для повышения противоопухолевых эффектов фторурацила (5-FU) и тегафур-урацила. Он также известен как цитроворум-фактор и веллковорин. Это соединение имеет химическое название кальциевой соли L-глутаминовой кислоты N-[4-[(2-амино-5-формил-1,4,5,6,7,8-гексагидро-4-оксо-6-птеридинил)метил]амино]бензоила] (1:1).

[0181] «Оксалиплатин» (Элоксатин) представляет собой химиотерапевтический препарат на основе платины, относящийся к тому же семейству, что и цисплатин и карбоплатин. Его обычно вводят в комбинации с фторурацилом и лейковорином в комбинации, известной как FOLFOX, для лечения колоректального рака. По сравнению с цисплатином две аминогруппы замещены циклогексилдиамином для улучшения противоопухолевой активности. Хлорные лиганды замещены оксалатобидентатом, полученным из щавелевой кислоты, с целью улучшения растворимости в воде. Эквиваленты оксалиплатина известны в данной области техники и включают, но не ограничиваются этим, цисплатин, карбоплатин, ароплатин, лобоплатин, недаплатин и JM-216 (смотрите McKeage et al. (1997) J. Clin. Oncol. 201:1232-1237 и, в целом, Chemotherapy for Gynecological Neoplasm, Curr. Therapy and Novel Approaches, в серии Basic and Clinical Oncology, Angioli et al. Eds., 2004).

[0182] «FOLFOX» является аббревиатурой для типа комбинированной терапии, которую применяют для лечения рака. Эта терапия включает лейковорин («FOL»), 5-FU («F») и оксалиплатин («OX») и охватывает различные схемы, такие как FOLFOX-4, FOLFOX-6, модифицированная FOLOX-6 и FOLFOX-7, которые варьируются по дозам и путям введения каждого из трех препаратов. «FOLFIRI» является аббревиатурой для типа комбинированной терапии, которую применяют для лечения рака, и включает или, в альтернативном варианте, состоит преимущественно из, или дополнительно состоит из 5-FU, лейковорина и иринотекана. Информация в отношении этих вариантов лечения доступна на веб-сайте Национального института рака, cancer.gov, последний доступ 30 мая 2020 г., а так же www.cancertherapyadvisor.com/home/cancer-topics/gastrointestinal-cancers/gastrointestinal-cancers-treatment-regimens/colon-cancer-treatment-regimens/, последний доступ 30 мая 2020 г.

[0183] Иринотекан (CPT-11) продается под торговым наименованием Камптозар. Он представляет собой полусинтетический аналог алкалоида камптотецина, который активируется за счет гидролиза до SN-38 и нацелен на топоизомеразу I. Его химические эквиваленты ингибируют взаимодействие топоизомеразы I и ДНК с образованием каталитически активного комплекса топоизомеразы I – ДНК. Химические эквиваленты ингибируют развитие клеточного цикла в G2-M-фазе, что приводит к нарушению клеточной пролиферации.

[0184] S-1 состоит из трех агентов (в молярном соотношении 1:0.4:1): тегафура, 5-хлор-2-4-дигидроксипиридина и оксоната калия.

[0185] Термин «адъювантная» терапия относится к назначению пациенту терапии или химиотерапевтической схемы в дополнение к первичному или начальному лечению, например после хирургического удаления опухоли. Адъювантную терапию, как правило, назначают, чтобы минимизировать или предотвратить возможное повторное появление рака. В альтернативном варианте «неоадъювантная» терапия относится к применению терапии или химиотерапевтической схемы до хирургического вмешательства, как правило, с целью уменьшения опухоли перед хирургической процедурой, чтобы минимизировать количество удаляемой во время процедуры ткани. В дополнительном или альтернативном варианте такая адъювантная терапия потенцирует субъекта (т. е. сенситизирует субъекта в отношении исходной терапии), что может помочь достигнуть одной или более конечных точек в лечении рака.

[0186] Выражение «первая линия», или «вторая линия», или «третья линия» и т. д. относится к порядку варианта лечения, которое проходит пациент. Схемы терапии первой линии представляют варианты лечения, которые применяют первыми, тогда как терапию второй или третьей линии назначают после терапии первой линии или после терапии второй линии, соответственно. Национальный институт рака определяет терапию первой линии как «первый вариант лечения заболевания или патологического состояния. У пациентов, имеющих рак, первичным вариантом лечения может быть хирургическое вмешательство, химиотерапия, лучевая терапия или комбинация этих видов терапии. Специалисты в данной области техники также называют терапию первой линии первичной терапией и первичным лечением». Смотрите веб-сайт Национального института рака на www.cancer.gov, последний визит 1 мая 2008 г. Как правило, пациенту назначают последующую химиотерапевтическую схему, поскольку пациент не демонстрирует положительный клинический или субклинический ответ на терапию первой линии, или же терапия первой линии была прекращена.

[0187] В контексте данного документа термин «антифолат» подразумевает препарат или биологический препарат, который нарушает функцию фолиевых кислот, например, антиметаболит, который ингибирует использование метаболита, т. е. другого химического вещества, которое является частью нормального метаболизма. При лечении рака антиметаболиты препятствуют выработке ДНК и, таким образом, делению клеток и росту опухоли. Неограничивающими примерами этих агентов являются ингибиторы дигидрофолатредуктазы, такие как метотрексат, аминоптерин и пеметрексед;

ингибиторы тимидилатсинтазы, такие как ралтитрексед или пеметрексед; ингибиторы на основе пурина, т. е. ингибитор аденозиндезаминазы, такой как пентостатин, тиопурина, такой как тиогуанин и меркаптопурин, галогенизированный/ингибитор рибонуклеотидредуктазы, такой как кладрибин, клофарабин, флударабин, или гуанина/гуанозина: тиопурин, такой как тиогуанин; или на основе пиримидина, т. е. цитозина/цитидина: гипометилирующий агент, такой как азацитидин и децитабин, ингибитор ДНК-полимеразы, такой как цитарабин, ингибитор рибонуклеотидредуктазы, такой как гемцитабин, или тимина/тимидина: ингибитор тимидилатсинтазы, такой как фторурацил (5-FU).

[0188] В одном аспекте термин «химический эквивалент» означает способность химического вещества к избирательному взаимодействию со своим целевым белком, ДНК, РНК или их фрагментом, определяемому по инактивации целевого белка, включению химического вещества в ДНК или РНК или другими подходящими способами. Химические эквиваленты включают, но не ограничиваются этим, агенты с такой же самой или сходной биологической активностью и включают, без ограничения, фармацевтически приемлемые соли или их смеси, которые взаимодействуют с и/или инактивируют те же самые целевой белок, ДНК или РНК, что и референтное химическое вещество.

[0189] Термины «олигонуклеотид» или «полинуклеотид» или их «часть» или «сегмент» относятся к участку из полинуклеотидных остатков, который является достаточно длинным для использования в ПЦР или различных процедурах гибридизации для идентификации или амплификации идентичных или сходных частей молекул мРНК или ДНК. Полинуклеотидные композиции по этому изобретению включают РНК, кДНК, геномную ДНК, синтетические формы и смешанные полимеры, как смысловые, так и антисмысловые цепи, и могут быть химически или биохимически модифицированными, или могут содержать неприродные или дериватизированные нуклеотидные основания, как понятно специалистам в данной области техники. Такие модификации включают, например, метки, метилирование, замену одного или более природных нуклеотидов аналогом, межнуклеотидные модификации, такие как незаряженные связи (например, метилфосфонаты, фосфотриэфиры, фосфорамидаты, карбаматы и т. д.), заряженные связи (например, фосфоротиоаты, фосфородитиоаты и т. д.), подвешенные фрагменты (например, полипептиды), интеркаляторы (например, акридин, псорален и т. д.), хелаторы, алкилятора и модифицированные связи (например, альфа-аномерные нуклеиновые кислоты и т. д.). Также включены синтетические молекулы, которые имитируют

полинуклеотиды в их способности связываться с указанной последовательностью посредством водородного связывания или других химических взаимодействий. Такие молекулы известны в данной области техники и включают, например те, в которых пептидные связи замещают фосфатные связи в остове молекулы.

5 **[0190]** Когда генетический маркер, например сверхэкспрессию дУТФазы, используют как основу для отбора пациента для лечения, описанного в данном документе, измерения генетического маркера проводят до и/или во время
10 лечения, а полученные значения используются клиницистом при оценке любого из следующего: (a) возможности или вероятности того, что индивид подходит для
10 изначального получения лечения; (b) возможности или вероятности того, что индивид не подходит для изначального получения лечения; (c) восприимчивости
к лечению; (d) возможности или вероятности того, что индивид подходит для продолжения получения лечения; (e) возможности или вероятности того, что
индивид не подходит для продолжения получения лечения; (f) корректировки
15 дозировки; (g) прогнозирования вероятности клинической пользы; или (h) токсичности. Как понятно специалисту в данной области техники, измерение
генетического маркера в клинических условиях является четким показанием того, что этот параметр использовали как основание для начала, продолжения,
корректировки и/или прекращения введения описанных в данном документе
20 вариантов лечения.

[0191] Молекулярный паттерн, ассоциированный с повреждением (DAMP), также известный как молекулярный паттерн, ассоциированный с опасностью, сигнал опасности и алармин, представляет собой биомолекулы, которые могут
инициировать и поддерживать неинфекционный воспалительный ответ. В
25 контексте данного документа DAMP способен инициировать и поддерживать воспалительный ответ на раковую клетку или облегчать, или стимулировать, или ускорять лечение раковой клетки с достижением одной или более клинических
конечных точек. Одним неограничивающим примером является домен «HMG», «домен бокса высококомобильной группы (HMG)» или «HMGВ», относящийся к
30 аминокислотной последовательности, участвующей в связывании ДНК (Stros et al., Cell Mol Life Sci. 64(19-20):2590-606 (2007)). В одном варианте осуществления структура домена HMG-бокса состоит из трех спиралей в нерегулярной матрице.
В другом варианте осуществления домен HMG-бокса обеспечивает возможность связывания белка с ДНК-конформациями отличного от В типа (образующими
35 петли или размотанными) с высокой аффинностью. Домены HMG-бокса можно обнаружить в белках высококомобильной группы, которые участвуют в регуляции

ДНК-зависимых процессов, таких как транскрипция, репликация и репарация ДНК, для которых всех необходимо изменение конформации хроматина (Thomas (2001) Biochem. Soc. Trans. 29(Pt 4):395-401). HMGB1 представляет собой белок 1 бокса высокомолекулярной группы (HMGB), который по имеющимся данным связывается с малой бороздкой ДНК и искривляет ее. Рекомбинантный или выделенный белок и полипептид коммерчески доступны от Atgenglobal, ProSpecBio, Protein1 и Abnova.

[0192] Белки HMG-бокса можно обнаружить в ряде эукариотических организмов и в широком смысле можно разделить на две группы на основании зависимого от последовательности и независимого от последовательности распознавания ДНК; первые обычно содержат один мотив HMG-бокса, тогда как последние могут содержать несколько мотивов HMG-бокса. Неограничивающие примеры полипептидов, содержащих домен HMG-бокса, включают негистонные компоненты хроматина HMG1(HMGB1), HMG2(HMGB2), HMGB3 и HMGB4; SRY (белок определяющей пол области Y), участвующие в дифференциальном гонадогенезе; семейство SOX транскрипционных факторов (Harley et al. (2003) Endocr. Rev. 24(4):466-87); специфический в отношении последовательности LEF1 (фактор связывания лимфоидного энхансера 1) и TCF-1 (Т-клеточный фактор 1), участвующие в регуляции органогенеза и дифференцировке тимоцитов (Labbé et al. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97(15):8358-63); специфический в отношении белок распознавания SSRP, участвующий в транскрипции и репликации; митохондриальный транскрипционный фактор MTF1; нуклеолярные транскрипционные факторы UBF 1/2 (вышележащий связывающий фактор), участвующие в транскрипции с помощью РНК-полимеразы I; дрожжевой Abf2 ARS-связывающий фактор (Cho et al. (2001) Biochim. Biophys. Acta. 1522(3):175-86); дрожжевые транскрипционные факторы Ixr1, Rox1, Nhp6b и Spp41; белки типа спаривания (MAT), участвующие в половом размножении грибов (Barve et al. (2003) Fungal Genet. Biol. 39(2):151-67); и растительный транскрипционный факторы YABBY. Типовые последовательности полипептидов, содержащих домен HMG-бокса, включают NP_002119 (HMGB1 человека), UniProtKB - P09429 (HMGB1 человека), NP_001124160 (HMGB2 человека), UniProtKB - P26583 (HMGB2 человека), NP_005333 (HMGB3 человека), UniProtKB - O15347 (HMGB3 человека), NP_660206 (HMGB4 человека) и UniProtKB - Q8VW32 (HMGB4 человека). Кроме того, полинуклеотиды, кодирующие домен/белок HMG-бокса, включают, но не ограничиваются этим: транскрипт HMGB1 человека, такой как NM_001313892.1, NM_001313893.1,

NM_001363661.1, NM_001370339.1, NM_001370340.1, NM_001370341.1 и NM_002128.7; транскрипт HMGB2 человека, такой как NM_001130688.1, NM_001130689.1 и NM_002129.4; транскрипт HMGB3 человека, такой как NM_001301228.1, NM_001301229.2, NM_001301231.2 и NM_005342.4; и
 5 транскрипт HMGB4 человека, такой как NM_001352984.2 и NM_145205.5.

Способы

[0193] В одном аспекте в данном документе предложен способ повышения терапевтической эффективности иммунотерапевтического агента у нуждающегося в этом субъекта, включающий, состоящий преимущественно из
 10 или состоящий из введения субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы, при этом субъекту вводили, или вводят одновременно, или будут вводить иммунотерапевтический агент. В некоторых вариантах осуществления способ повышения терапевтической эффективности иммунотерапевтического агента у нуждающегося в этом субъекта включает, состоит преимущественно из
 15 или состоит из введения субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы и иммунотерапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту одного или более из эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.
 20 II. В других вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата. В других вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества ингибитора фолат-опосредованного одноуглеродного метаболизма. В других вариантах осуществления способ дополнительно
 25 включает введение субъекту эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0194] В другом аспекте в данном документе предложен способ повышения терапевтической эффективности иммунотерапевтического агента у нуждающегося в этом субъекта, включающий, состоящий преимущественно из
 30 или состоящий из введения субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы и иммунотерапевтического агента, и одного или более из эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0195] В другом аспекте в данном документе предложен способ повышения
 35 терапевтической эффективности иммунотерапевтического агента у нуждающегося в этом субъекта, включающий, состоящий преимущественно из

или состоящий из введения субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы и иммунотерапевтического агента, и эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата.

[0196] В другом аспекте в данном документе предложен способ повышения терапевтической эффективности иммунотерапевтического агента у нуждающегося в этом субъекта, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из введения субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы и иммунотерапевтического агента, и эффективного количества ингибитора фолат-опосредованного одноуглеродного метаболизма.

[0197] В другом аспекте в данном документе предложен способ повышения терапевтической эффективности иммунотерапевтического агента у нуждающегося в этом субъекта, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из введения субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы и иммунотерапевтического агента, и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0198] В дополнительном или альтернативном варианте в данном документе предложен способ повышения терапевтической эффективности ингибитора биосинтеза тимидилата у нуждающегося в этом субъекта, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из введения субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы, при этом субъекту вводили, или вводят одновременно, или будут вводить ингибитор биосинтеза тимидилата. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту одного или более из эффективного количества иммунотерапевтического агента и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II. В других вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества иммунотерапевтического агента. В других вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества ингибитора фолат-опосредованного одноуглеродного метаболизма. В других вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0199] В дополнительном или альтернативном варианте в данном документе предложен способ повышения терапевтической эффективности иммунотерапевтического агента в комбинации с ингибитором биосинтеза тимидилата у нуждающегося в этом субъекта, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из введения субъекту эффективного

количества ингибитора дУТФазы, при этом субъекту вводили, или вводят одновременно, или будут вводить иммунотерапевтический агент и ингибитор биосинтеза тимидилата. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту одного или более из эффективного количества ингибитора фолат-опосредованного одноуглеродного метаболизма и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II. В других вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества ингибитора фолат-опосредованного одноуглеродного метаболизма. В других вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0200] В некоторых вариантах осуществления терапевтическая эффективность иммунотерапевтического агента и/или ингибитора биосинтеза тимидилата повышается по меньшей мере на около 10 %, или в альтернативном варианте по меньшей мере на около 20 %, или в альтернативном варианте по меньшей мере на около 30 %, или в альтернативном варианте по меньшей мере на около 40 %, или в альтернативном варианте по меньшей мере на около 50 %, или в альтернативном варианте по меньшей мере на около 60 %, или в альтернативном варианте по меньшей мере на около 70 %, или в альтернативном варианте по меньшей мере на около 80 %, или в альтернативном варианте по меньшей мере на около 90 %, или в альтернативном варианте по меньшей мере в около 1 раза, или в альтернативном варианте по меньшей мере в около 1,1 раза, или в альтернативном варианте по меньшей мере в около 1,2 раза, или в альтернативном варианте по меньшей мере в около 1,3 раза, или в альтернативном варианте по меньшей мере в около 1,4 раза, или в альтернативном варианте по меньшей мере в около 1,5 раза, или в альтернативном варианте по меньшей мере в около 1,6 раза, или в альтернативном варианте по меньшей мере в около 1,7 раза, или в альтернативном варианте по меньшей мере в около 1,8 раза, или в альтернативном варианте по меньшей мере в около 1,9 раза, или в альтернативном варианте по меньшей мере в около 2 раза по сравнению с введением иммунотерапевтического агента и/или ингибитора биосинтеза тимидилата без повышения. Это также включает 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-, 11-, 12-, 13-, 14-, 15-, 16-, 17-, 18-, 19-, 20-, 25-, 30-, 35-, 40-, 45-, 50-, 55-, 60-, 65-, 70-, 75-, 80-, 85-, 90-, 95- или 100-кратное или более, включая интервалы в этих

рамках, повышение терапевтической эффективности иммунотерапевтического агента по сравнению с введением иммунотерапевтического агента в виде монотерапии.

[0201] В определенных вариантах осуществления терапевтическая эффективность лечения относится к достижению одной или более клинических конечных точек, необязательно выбранных из следующих:

(1) элиминация рака у субъекта, или в ткани/органе субъекта, или в участке рака;

(2) уменьшение опухолевой нагрузки (например, числа раковых клеток, числа очагов рака, числа раковых клеток в очагах, размера солидного рака, концентрации жидкого рака в физиологической жидкости и/или количества рака в организме);

(3) стабилизация, или задержка, или замедление, или подавление роста и/или развития рака, включая, но не ограничиваясь этим, рост и/или деление раковых клеток, увеличение размера солидной опухоли или участка рака, прогрессирование и/или метастазирование рака (например, время для образования нового метастаза, общее число метастазов, размер метастазов, а также ряд тканей/органов, содержащих метастатические клетки);

(4) снижение риска роста и/или развития рака;

(5) индукция иммунного ответа пациента на рак, например, большего числа опухоль-инфильтрирующих иммунных клеток, большего числа активированных иммунных клеток или большего числа раковых клеток, экспрессирующих иммунотерапевтическую мишень, или большего уровня экспрессии иммунотерапевтической мишени в раковой клетке; и

(6) большая вероятность выживания и/или увеличение продолжительности выживаемости, например, увеличение общей выживаемости (ОВ, которая может быть отображена уровнем 1-годовой, 2-годовой, 5-летней, 10-летней или 20-летней выживаемости), увеличение выживаемости без прогрессирования (ВБП), увеличение выживаемости без заболевания (ВБЗ), увеличение времени до повторного появления опухоли (ВППО) и увеличение времени до прогрессирования опухоли (ВПО).

[0202] В определенных вариантах осуществления повышение терапевтической активности относится к достижению одной или более клинических конечных точек лечения в большей степени, и/или с большей скоростью, и/или за меньшее время, необязательно, по сравнению с лечением без способа/этапа повышения. В дополнительном или альтернативном варианте повышение терапевтической

активности также относится к достижению большего количества клинических конечных точек, необязательно, по сравнению с лечением без способа/этапа повышения.

[0203] Способы и инструменты для определения такой терапевтической эффективности известны специалисту в данной области техники, включая определение клинической конечной точки у пациента-человека и/или в животной/тканевой/клеточной модели, имитирующей пациента, имеющего рак. Например, терапевтическую эффективность можно отслеживать с помощью КТ-сканирования или анализа крови. Кроме того, можно оценивать опухолевые маркеры. Неограничивающие экспериментальные условия можно найти в примерах.

[0204] В другом аспекте в данном документе предложен способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из введения субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы и эффективного количества иммунотерапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту одного или более из эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0205] В другом аспекте в данном документе предложен способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из введения субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы, эффективного количества иммунотерапевтического агента и одного или более из эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0206] В другом аспекте в данном документе предложен способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из введения субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы, эффективного количества иммунотерапевтического агента и эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата.

[0207] В другом аспекте в данном документе предложен способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из введения субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы, эффективного количества иммунотерапевтического агента и

эффективного количества ингибитора фолат-опосредованного одноуглеродного метаболизма.

[0208] В другом аспекте в данном документе предложен способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из введения субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы, эффективного количества иммунотерапевтического агента и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0209] В другом аспекте в данном документе предложен способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из введения субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы и эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту одного или более из эффективного количества иммунотерапевтического агента и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0210] В некоторых вариантах осуществления после лечения субъект достигает одной или более клинических конечных точек, описанных в данном документе. В одном варианте осуществления клинические точки выбраны из ответа опухоли, уменьшения размера опухоли, уменьшения опухолевой нагрузки, увеличения общей выживаемости, увеличения выживаемости без прогрессирования и ингибирования метастазирования.

[0211] В некоторых вариантах осуществления рак выбран из раковых заболеваний: системы кровообращения, например, сердца (саркома [ангиосаркома, фибросаркома, рабдомиосаркома, липосаркома], миксома, рабдомиома, фиброма, липома и тератома), средостения и плевры, а также других органов грудной полости, сосудистых опухолей и опухолиассоциированной сосудистой ткани; дыхательных путей, например, носовой полости и среднего уха, придаточных пазух, гортани, трахеи, бронхов и легких, например, мелкоклеточный рак легкого (МРЛ), немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), бронхогенная карцинома (плоскоклеточная, недифференцированная мелкоклеточная, недифференцированная крупноклеточная, аденокарцинома), альвеолярная (бронхиолярная) карцинома, бронхиальная аденома, саркома, лимфома, хондроматозная гамартома, мезотелиома; желудочно-кишечной системы, например, пищевода (плоскоклеточная карцинома, аденокарцинома, лейомиосаркома, лимфома),

желудка (карцинома, лимфома, лейомиосаркома), желудка, поджелудочной
 железы (протоковая аденокарцинома, инсулинома, глюкагонома, гастринома,
 карциноидные опухоли, випома), тонкого кишечника (аденокарцинома, лимфома,
 карциноидные опухоли, саркома Капоши, лейомиома, гемангиома, липома,
 5 нейрофиброма, фиброма), толстого кишечника (аденокарцинома, тубулярная
 аденома, ворсинчатая аденома, гамартома, лейомиома); желудочно-кишечные
 стромальные опухоли и нейроэндокринные опухоли, возникающие в любом
 месте; мочеполового тракта, например, почки (аденокарцинома, опухоль Вильмса
 [нефробластома], лимфома, лейкоз), мочевого пузыря и/или уретры
 10 (плоскоклеточная карцинома, переходноклеточная карцинома, аденокарцинома),
 предстательной железы (аденокарцинома, саркома), яичек (семинома, тератома,
 эмбриональная карцинома, тератоканцинома, хориокарцинома, саркома,
 карцинома из интерстициальных клеток, фиброма, фиброаденома,
 аденоматоидные опухоли, липома); печени, например, гепатома
 15 (гепатоцеллюлярная карцинома), холангиокарцинома, гепатобластома,
 ангиосаркома, гепатоцеллюлярная аденома, гемангиома, эндокринные опухоли
 поджелудочной железы (такие как феохромоцитомы, инсулинома, опухоль из
 вазоактивного интестинального пептида, опухоль из островковых клеток и
 глюкагонома); костей, например, остеогенная саркома (остеосаркома),
 20 фибросаркома, злокачественная фиброзная гистиоцитома, хондросаркома,
 саркома Юинга, злокачественная лимфома (ретикулоцеллюлярная саркома),
 множественная миелома, злокачественная гигантоклеточная хордома,
 остеохондромы (костнохрящевые экзостозы), доброкачественная хондрома,
 хондробластома, хондромиксофиброма, остеонидная остеомы и гигантоклеточные
 25 опухоли; нервной системы, например, новообразования центральной нервной
 системы (ЦНС), первичная лимфома ЦНС, рак черепа (остеомы, гемангиомы,
 гранулемы, ксантомы, деформирующий остоз), мягких мозговых оболочек
 (менингиома, менингиосаркома, глиоматоз), головного мозга (астроцитомы,
 медуллобластома, глиомы, эпендимомы, герминомы [пинеаломы], мультиформная
 30 глиобластома, олигодендроглиомы, шванномы, ретинобластома, врожденные
 опухоли), спинного мозга (нейрофиброма, менингиома, глиомы, саркомы);
 репродуктивной системы, например, гинекологические, матки (карцинома
 эндометрия), шейки матки (карцинома шейки матки, предопухолевая дисплазия
 шейки матки), яичников (карцинома яичников [серозная цистаденокарцинома,
 35 муцинозная цистаденокарцинома, неклассифицированная карцинома], опухоли
 из зернистых клеток, опухоли из клеток Сертоли — Лейдига, дисгерминомы,

злокачественная тератома), вульвы (плоскоклеточная карцинома, интраэпителиальная карцинома, аденокарцинома, фибросаркома, меланома), влагалища (светлоклеточная карцинома, плоскоклеточная карцинома, ботриоидная саркома [эмбриональная рабдомиосаркома], фаллопиевых труб (карцинома) и других участков, связанных с женскими половыми органами; плаценты, полового члена, предстательной железы, яичек и других участков, связанных с мужскими половыми органами; кроветворной системы, например, крови (миелоидный лейкоз [острый и хронический], острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, миелопролиферативные заболевания, множественная миелома, миелодистпластический синдром), болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома [злокачественная лимфома]; ротовой полости, например, губы, языка, десен, дна ротовой полости, неба и других частей рта, околоушной слюнной железы и других частей слюнных желез, миндалевидной железы, ротоглотки, носоглотки, грушевидного синуса, гортаноглотки и других участков губ, ротовой полости и глотки; кожи, например, злокачественная меланома, кожная меланома, карцинома из базальных клеток, плоскоклеточная карцинома, саркома Капоши, дисплазия родинок, липома, ангиома, дерматофиброма и келоиды; и других тканей, включая соединительную и мягкую ткани, забрюшинного пространства и брюшины, глаза, интраокулярной меланомы, и придатков, молочной железы, головы и/или шеи, анальной области, щитовидной железы, паращитовидной железы, надпочечников и других эндокринных желез и связанных с ними структур, вторичных и неуточненных злокачественных новообразований лимфатических узлов, вторичных злокачественных новообразований дыхательной и пищеварительной систем и вторичных злокачественных новообразований других участков. В дополнительном или альтернативном варианте рак представляет собой солидную опухоль или жидкий рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой первичный рак. В другом варианте осуществления рак является метастатическим.

[0212] В некоторых вариантах осуществления рак включает, состоит преимущественно из или состоит из карциномы, саркомы, миеломы, лейкоза или лимфомы. В некоторых вариантах осуществления рак включает, состоит преимущественно из или состоит из карциномы. В некоторых вариантах осуществления рак включает, состоит преимущественно из или состоит из саркомы. В некоторых вариантах осуществления рак включает, состоит преимущественно из или состоит из миеломы. В некоторых вариантах

осуществления рак включает, состоит преимущественно из или состоит из лейкоза. В некоторых вариантах осуществления рак включает, состоит преимущественно из или состоит из лимфомы.

[0213] В другом аспекте в данном документе предложен способ ингибирования роста раковой клетки, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из приведения клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы и эффективным количеством иммунотерапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает приведение клетки в контакт с одним или более из эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт происходит *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт происходит *in vivo*.

[0214] В другом аспекте в данном документе предложен способ ингибирования роста раковой клетки, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из приведения клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы, эффективным количеством иммунотерапевтического агента и одним или более из эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт происходит *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт происходит *in vivo*.

[0215] В другом аспекте в данном документе предложен способ ингибирования роста раковой клетки, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из приведения клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы, эффективным количеством иммунотерапевтического агента и эффективным количеством ингибитора биосинтеза тимидилата. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт происходит *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт происходит *in vivo*.

[0216] В другом аспекте в данном документе предложен способ ингибирования роста раковой клетки, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из приведения клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы, эффективным количеством иммунотерапевтического агента и эффективным количеством ингибитора фолат-опосредованного одноуглеродного метаболизма. В некоторых вариантах осуществления

приведение в контакт происходит *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт происходит *in vivo*.

[0217] В другом аспекте в данном документе предложен способ ингибирования роста раковой клетки, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из приведения клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы, эффективным количеством иммунотерапевтического агента и эффективным количеством антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт происходит *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт происходит *in vivo*.

[0218] В другом аспекте в данном документе предложен способ ингибирования роста раковой клетки, включающий, состоящий преимущественно из или состоящий из приведения клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы и эффективным количеством ингибитора биосинтеза тимидилата. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает приведение клетки в контакт с одним или более из эффективного количества иммунотерапевтического агента и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт происходит *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт происходит *in vivo*.

[0219] В некоторых вариантах осуществления раковая клетка представляет собой первичную клетку, выделенную из биопсии или культуры раковых клеток, которую культивируют в лаборатории, или получена от коммерческого поставщика, такого как Американская коллекция типовых культур (ATCC), или раковой клетки в животной модели для оценки терапевтической эффективности потенциальной терапии.

[0220] В некоторых вариантах осуществления ингибирование роста раковой клетки измеряют путем сравнения роста раковой клетки после приведения в контакт с ингибитором дУТФазы, иммунотерапевтическим агентом и одним или более из ингибитора биосинтеза тимидилата, антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II, с ростом раковой клетки в отсутствие такого приведения в контакт (т. е. ростом в контрольном образце). Способы и анализы для выявления и/или количественной оценки роста известны специалисту в данной области техники.

[0221] В другом аспекте в данном документе предложен способ одного или более из:

а. стимуляции высвобождения цитоплазматической ДНК в раковой клетке;

б. снижения экспрессии или активности молекулы ингибирующей иммунной контрольной точки (такой как PD-L1) в раковой клетке, которая экспрессирует молекулу ингибирующей иммунной контрольной точки;

в. индукции высвобождения или экспрессии ассоциированного с повреждением молекулярного паттерна (DAMP) (такого как один или более из АТФ, кальретикулина, HMGB1, HMGB2, HMGB3 и HMGB4) из раковой клетки,

при этом способ включает, состоит преимущественно из или состоит из приведения раковой клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы; и одним или более из эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0222] В другом аспекте в данном документе предложен способ одного или более из:

а. стимуляции высвобождения цитоплазматической ДНК в раковой клетке;

б. снижения экспрессии или активности молекулы ингибирующей иммунной контрольной точки (такой как PD-L1) в раковой клетке, которая экспрессирует молекулу ингибирующей иммунной контрольной точки;

в. индукции высвобождения или экспрессии DAMP (такого как один или более из АТФ, кальретикулина, HMGB1, HMGB2, HMGB3 и HMGB4) из раковой клетки,

при этом способ включает, состоит преимущественно из или состоит из приведения раковой клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы; и эффективным количеством ингибитора биосинтеза тимидилата.

[0223] В другом аспекте в данном документе предложен способ одного или более из:

а. стимуляции высвобождения цитоплазматической ДНК в раковой клетке;

б. снижения экспрессии или активности молекулы ингибирующей иммунной контрольной точки (такой как PD-L1) в раковой клетке, которая экспрессирует молекулу ингибирующей иммунной контрольной точки;

с. индукции высвобождения или экспрессии DAMP (такого как один или более из АТФ, кальретикулина, HMGB1, HMGB2, HMGB3 и HMGB4) из раковой клетки,

при этом способ включает, состоит преимущественно из или состоит из приведения раковой клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы; и эффективным количеством ингибитора фолат-опосредованного одноуглеродного метаболизма.

[0224] В другом аспекте в данном документе предложен способ одного или более из:

а. стимуляции высвобождения цитоплазматической ДНК в раковой клетке;

б. снижения экспрессии или активности молекулы ингибирующей иммунной контрольной точки (такой как PD-L1) в раковой клетке, которая экспрессирует молекулу ингибирующей иммунной контрольной точки;

с. индукции высвобождения или экспрессии DAMP (такого как один или более из АТФ, кальретикулина, HMGB1, HMGB2, HMGB3 и HMGB4) из раковой клетки,

при этом способ включает, состоит преимущественно из или состоит из приведения раковой клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы; и эффективным количеством антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0225] В другом аспекте в данном документе предложен способ одного или более из:

а. стимуляции высвобождения цитоплазматической ДНК в раковой клетке;

б. повышения экспрессии или активности молекулы стимулирующей иммунной контрольной точки в раковой клетке, которая экспрессирует молекулу стимулирующей иммунной контрольной точки;

с. индукции высвобождения или экспрессии ассоциированного с повреждением молекулярного паттерна (DAMP) (такого как один или более из АТФ, кальретикулина, HMGB1, HMGB2, HMGB3 и HMGB4) из раковой клетки,

при этом способ включает, состоит преимущественно из или состоит из приведения раковой клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы; и одним или более из эффективного количества ингибитора

биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0226] В другом аспекте в данном документе предложен способ одного или более из:

- 5 a. стимуляции высвобождения цитоплазматической ДНК в раковой клетке;
- b. повышения экспрессии или активности молекулы стимулирующей иммунной контрольной точки в раковой клетке, которая экспрессирует молекулу стимулирующей иммунной контрольной точки;
- 10 c. индукции высвобождения или экспрессии DAMP (такого как один или более из АТФ, кальретикулина, HMGB1, HMGB2, HMGB3 и HMGB4) из раковой клетки,

при этом способ включает, состоит преимущественно из или состоит из приведения раковой клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы; и эффективным количеством ингибитора биосинтеза тимидилата.

[0227] В другом аспекте в данном документе предложен способ одного или более из:

- a. стимуляции высвобождения цитоплазматической ДНК в раковой клетке;
- 20 b. повышения экспрессии или активности молекулы стимулирующей иммунной контрольной точки в раковой клетке, которая экспрессирует молекулу стимулирующей иммунной контрольной точки;
- c. индукции высвобождения или экспрессии DAMP (такого как один или более из АТФ, кальретикулина, HMGB1, HMGB2, HMGB3 и HMGB4) из
- 25 раковой клетки,

при этом способ включает, состоит преимущественно из или состоит из приведения раковой клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы; и эффективным количеством ингибитора фолат-опосредованного одноуглеродного метаболизма.

30 **[0228]** В другом аспекте в данном документе предложен способ одного или более из:

- a. стимуляции высвобождения цитоплазматической ДНК в раковой клетке;
- b. повышения экспрессии или активности молекулы стимулирующей
- 35 иммунной контрольной точки в раковой клетке, которая экспрессирует молекулу стимулирующей иммунной контрольной точки;

с. индукции высвобождения или экспрессии DAMP (такого как один или более из АТФ, кальретикулина, HMGB1, HMGB2, HMGB3 и HMGB4) из раковой клетки,

при этом способ включает, состоит преимущественно из или состоит из приведения раковой клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы; и эффективным количеством антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0229] Способы и анализы для выявления и/или количественной оценки высвобождения ДНК, экспрессии молекул ингибирующих или стимулирующих иммунных контрольных точки или экспрессии DAMP может осуществлять специалист в данной области техники, например, используя нуклеотидную молекулу, способную гибридизироваться с высвобожденной ДНК, и/или антитело, специфически связывающееся с контрольной точкой или DAMP. Такие способы включают, но не ограничиваются этим, Саузерн-блоттинг, полимеразную цепную реакцию (ПЦР), количественную ПЦР, секвенирование ДНК, вестерн-блоттинг, ферментный иммуносорбентный анализ (ELISA) или тест-полоски (также известные как тест-устройства).

[0230] В некоторых вариантах осуществления DAMP включает АТФ, кальретикулин, HMGB1, HMGB2, HMGB3 и HMGB4. В некоторых вариантах осуществления DAMP включает HMGB1, HMGB2, HMGB3, HMGB4 или их функциональные эквиваленты. В некоторых вариантах осуществления DAMP включает HMGB1 или его функциональные эквиваленты. В некоторых вариантах осуществления DAMP включает HMGB2 или его функциональные эквиваленты. В некоторых вариантах осуществления DAMP включает HMGB3 или его функциональные эквиваленты. В некоторых вариантах осуществления DAMP включает HMGB4 или его функциональные эквиваленты. В некоторых вариантах осуществления DAMP включает АТФ. В некоторых вариантах осуществления DAMP включает кальретикулин.

[0231] В некоторых вариантах осуществления раковая клетка представляет собой клетку рака, выбранного из раковых заболеваний: системы кровообращения, например, сердца (саркома [ангиосаркома, фибросаркома, рабдомиосаркома, липосаркома], миксома, рабдомиома, фиброма, липома и тератома), средостения и плевры, а также других органов грудной полости, сосудистых опухолей и опухолиассоциированной сосудистой ткани; дыхательных путей, например, носовой полости и среднего уха, придаточных пазух, гортани, трахеи, бронхов и легких, например, мелкоклеточный рак легкого (МРЛ),

немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), бронхогенная карцинома
 (плоскоклеточная, недифференцированная мелкоклеточная,
 недифференцированная крупноклеточная, аденокарцинома), альвеолярная
 (бронхиолярная) карцинома, бронхиальная аденома, саркома, лимфома,
 5 хондроматозная гамартома, мезотелиома; желудочно-кишечной системы,
 например, пищевода (плоскоклеточная карцинома, аденокарцинома,
 лейомиосаркома, лимфома), желудка (карцинома, лимфома, лейомиосаркома),
 желудка, поджелудочной железы (протоковая аденокарцинома, инсулинома,
 глюкагонома, гастринома, карциноидные опухоли, випома), тонкого кишечника
 10 (аденокарцинома, лимфома, карциноидные опухоли, саркома Капоши,
 лейомиома, гемангиома, липома, нейрофиброма, фиброма), толстого кишечника
 (аденокарцинома, тубулярная аденома, ворсинчатая аденома, гамартома,
 лейомиома); желудочно-кишечные стромальные опухоли и нейроэндокринные
 опухоли, возникающие в любом месте; мочеполового тракта, например, почки
 15 (аденокарцинома, опухоль Вильмса [нефробластома], лимфома, лейкоз),
 мочевого пузыря и/или уретры (плоскоклеточная карцинома, переходноклеточная
 карцинома, аденокарцинома), предстательной железы (аденокарцинома,
 саркома), яичек (семинома, тератома, эмбриональная карцинома,
 тератокарцинома, хориокарцинома, саркома, карцинома из интерстициальных
 20 клеток, фиброма, фиброаденома, аденоматоидные опухоли, липома); печени,
 например, гепатома (гепатоцеллюлярная карцинома), холангиокарцинома,
 гепатобластома, ангиосаркома, гепатоцеллюлярная аденома, гемангиома,
 эндокринные опухоли поджелудочной железы (такие как феохромоцитома,
 инсулинома, опухоль из вазоактивного интестинального пептида, опухоль из
 25 островковых клеток и глюкагонома); костей, например, остеогенная саркома
 (остеосаркома), фибросаркома, злокачественная фиброзная гистиоцитома,
 хондросаркома, саркома Юинга, злокачественная лимфома (ретикулоклеточная
 саркома), множественная миелома, злокачественная гигантоклеточная хордома,
 остеохондрома (костнохрящевые экзостозы), доброкачественная хондрома,
 30 хондробластома, хондромиксофиброма, остеонидная остеома и гигантоклеточные
 опухоли; нервной системы, например, новообразования центральной нервной
 системы (ЦНС), первичная лимфома ЦНС, рак черепа (остеома, гемангиома,
 гранулема, ксантома, деформирующий остоз), мягких мозговых оболочек
 (менингиома, менингиосаркома, глиоматоз), головного мозга (астроцитомы,
 35 медуллобластома, глиома, эпендимома, герминома [пинеалома], мультиформная
 глиобластома, олигодендроглиома, шваннома, ретинобластома, врожденные

опухоли), спинного мозга (нейрофиброма, менингиома, глиома, саркома); репродуктивной системы, например, гинекологические, матки (карцинома эндометрия), шейки матки (карцинома шейки матки, предопухолева дисплазия шейки матки), яичников (карцинома яичников [серозная цистаденокарцинома, муцинозная цистаденокарцинома, неклассифицированная карцинома], опухоли из зернистых клеток, опухоли из клеток Сертоли — Лейдига, дисгерминома, злокачественная тератома), вульвы (плоскоклеточная карцинома, интраэпителиальная карцинома, аденокарцинома, фибросаркома, меланома), влагалища (светлоклеточная карцинома, плоскоклеточная карцинома, ботриоидная саркома [эмбриональная рабдомиосаркома], фаллопиевых труб (карцинома) и других участков, связанных с женскими половыми органами; плаценты, полового члена, предстательной железы, яичек и других участков, связанных с мужскими половыми органами; кроветворной системы, например, крови (миелоидный лейкоз [острый и хронический], острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, миелопролиферативные заболевания, множественная миелома, миелодистпластический синдром), болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома [злокачественная лимфома]; ротовой полости, например, губы, языка, десен, дна ротовой полости, неба и других частей рта, околоушной слюнной железы и других частей слюнных желез, миндалевидной железы, ротоглотки, носоглотки, грушевидного синуса, гортаноглотки и других участков губ, ротовой полости и глотки; кожи, например, злокачественная меланома, кожная меланома, карцинома из базальных клеток, плоскоклеточная карцинома, саркома Капоши, дисплазия родинок, липома, ангиома, дерматофиброма и келоиды; и других тканей, включая соединительную и мягкую ткани, забрюшинного пространства и брюшины, глаза, интраокулярной меланомы, и придатков, молочной железы, головы и/или шеи, анальной области, щитовидной железы, паращитовидной железы, надпочечников и других эндокринных желез и связанных с ними структур, вторичных и неуточненных злокачественных новообразований лимфатических узлов, вторичных злокачественных новообразований дыхательной и пищеварительной систем и вторичных злокачественных новообразований других участков. В дополнительном или альтернативном варианте рак представляет собой солидную опухоль или жидкий рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой первичный рак. В другом варианте осуществления рак представляет собой метастаз.

[0232] В некоторых вариантах осуществления раковая клетка получена из карциномы, саркомы, миеломы, лейкоза или лимфомы. В некоторых вариантах осуществления раковая клетка получена из карциномы. В некоторых вариантах осуществления раковая клетка получена из саркомы. В некоторых вариантах осуществления раковая клетка получена из миеломы. В некоторых вариантах осуществления раковая клетка получена из лейкоза. В некоторых вариантах осуществления раковая клетка получена из лимфомы.

[0233] В некоторых вариантах осуществления любой способ или этапы/варианты осуществления способа, описанные в данном документе, можно дополнительно комбинировать с другой противораковой терапией, такой как химиотерапия, отличная от указанной в данном документе, лучевая терапия, хирургическое вмешательство и другие. Другая комбинированная терапия может включать, но не ограничивается этим: инфицирование и уничтожение раковой клетки онколитическим вирусом (например онколитическим HSV), уничтожение или повреждение раковой клетки антисмысловым олигонуклеотидом (ACO), уничтожение или повреждение раковой клетки с помощью РНК-интерференции (РНКи), уничтожение или повреждение раковой клетки с помощью системы на основе коротких палиндромных повторов, регулярно расположенных группами (CRISPR), уничтожение или повреждение раковой клетки экзосомой и векторную доставку каждого из них.

Иммунотерапевтический агент

[0234] В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент включает, состоит преимущественно из или состоит из одного или более из моноклональных антител (таких как моноспецифическое, биспецифическое или мультиспецифическое антитело, распознающее опухолеспецифический антиген и/или иммунную контрольную точку), конъюгатов антитело – лекарственный препарат (например, распознающих опухолеспецифический антиген и/или иммунную контрольную точку, при этом конъюгированный лекарственный препарат уничтожает или повреждает раковую клетку, экспрессирующую опухолеспецифический антиген, и/или ингибирует ингибирующую иммунную контрольную точку, и/или активирует стимулирующую иммунную контрольную точку), терапии CAR, клеточной терапии (например, трансплантации противораковой иммунной клетки, необязательно амплифицированной и/или активированной *in vivo*, или введения иммунной клетки, экспрессирующей химерный антигенный рецептор (CAR)), иммунных регуляторов, противораковых вакцин, ингибитора или антагониста ингибирующих иммунных контрольных точек

(называемого в данном документе «ингибитором контрольных точек», такого как химическое вещество, антисмысловой олигонуклеотид (АСО), РНК-интерференция (РНКи), система на основе коротких палиндромных повторов, регулярно расположенных группами (CRISPR), векторная доставка каждого из

5 них), активатора или агониста стимулирующих иммунных контрольных точек (такого как активирующий лиганд). В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент включает, состоит преимущественно из или состоит из одного или более из моноклональных антител, биспецифических антител и фрагментов антител. В одном варианте осуществления

10 иммунотерапевтический агент включает, состоит преимущественно из или состоит из одного или более биспецифических антител, специфически связывающихся с опухолеспецифическим антигеном и привлекающих иммунные клетки, таких как привлекающий Т-клетки биспецифический активатор, привлекающий NK-клетки биспецифический активатор, привлекающий NKT-

15 клетки биспецифический активатор, привлекающий гамма-дельта Т-клетки биспецифический активатор и привлекающий цитотоксические Т-клетки биспецифический активатор. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент включает, состоит преимущественно из или состоит из одного или более конъюгатов антитело – лекарственный препарат. В

20 некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент включает, состоит преимущественно из или состоит из одного или более вариантов клеточной терапии CAR, таких как введение иммунной клетки, экспрессирующей CAR, включая, но не ограничиваясь этим, CAR Т-клетки, CAR NK-клетки, CAR NKT-клетки, CAR CD8+ Т-клетки, CAR цитотоксические Т-клетки, CAR гамма-

25 дельта Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент включает, состоит преимущественно из или состоит из одной или более противораковых вакцин, таких как полипептид или полинуклеотид, имитирующие опухолеспецифический антиген и способные индуцировать иммунный ответ на антиген у субъекта. В некоторых вариантах осуществления

30 иммунотерапевтический агент включает, состоит преимущественно из или состоит из одного или более вариантов онколитической вирусной терапии, такой как вирусный вектор, специфически инфицирующий раковую клетку и необязательно размножающийся в ней, и доставляющий иммунотерапевтический агент в раковую клетку. В одном варианте осуществления онколитический вирус

35 представляет собой HSV, необязательно выбранный из HSV-1 и HSV-2. В дополнительном варианте осуществления онколитический вирус повышает

экспрессию, необязательно на клеточной поверхности, опухолеспецифического антигена в раковой клетке; и/или снижает экспрессию и/или активность ингибирующих иммунных контрольных точек в раковой клетке; и/или повышает экспрессию и/или активность стимулирующих иммунных контрольных точек в раковой клетке.

[0235] Неограничивающие примеры моноклональных антител включают ритуксимаб, блинатумомаб, алемтузумаб, ибритутомаб тиуксетан, бевацизумаб, бевацизумаб-awwb, цетуксимаб, панитумумаб, офатумумаб, деносумаб, пертузумаб, обинутузумаб, элотузумаб, рамуцирумаб, динутуксимаб, даратумумаб, трастузумаб, трастузумаб-dkst, ниволумаб, пембролизумаб, цемиплимаб, спартализумаб, камрелизумаб, синтилимаб, тислелизумаб, торипалимаб, AMF 514 (MEDI0680), балстилимаб, авелумаб, дурвалумаб, атезолизумаб, ипилимумаб, тремелимумаб, залифрелимаб и AGEN1181. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело комбинируют с другим агентом. Например, ритуксимаб можно составлять и гиалуронидазой человека.

[0236] Неограничивающие примеры конъюгатов антитело – лекарственный препарат включают моксетумомаб пасудотокс-tdfk, брентуксимаб ведотин, трастузумаб эмтанзин, инотузумаб озогамидин, гемтузумаб озогамидин, таграксифусп-erzs, полатузумаб ведотин-piiq, энфортумаб ведотин-ejfv, трастузумаб дерукстекан и сацитузумаб говитекан-hziy.

[0237] Неограничивающие примеры Т-клеточной CAR-терапии включают тисагенлеклейсел и аксикабтаген цилолейсел.

[0238] Неограничивающие примеры иммунных регуляторов включают интерлейкины, альдеслейкин, интерферон альфа-2a/2b, пексидартиниб, эритропозтин, гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), талидомид, леналидомид, помалидомид и имиквимод.

[0239] Неограничивающие примеры противораковых вакцин включают живую БЦЖ (ТЕРАЦИС®) или сипулейцел-Т (ПРОВЕНЖ®).

[0240] Неограничивающие примеры онколитической вирусной терапии включают онкорин (H101) и талимоген лагерпарепвек (ИМЛИГИК®).

[0241] В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент включает, состоит преимущественно из или состоит из ингибитора контрольных точек.

[0242] В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольных точек включает, состоит преимущественно из или состоит из отличного от антитела агента. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольных точек включает, состоит преимущественно из или состоит из GS4224, AMP-224, CA-327, CA-170, BMS-1001, BMS-1166, пептида-57, M7824, MGD013, CX-072, UNP-12, NP-12 или комбинации двух или более из них.

[0243] В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольных точек включает, состоит преимущественно из или состоит из одного или более из анти-PD-1 агента, анти-PD-L1 агента, анти-CTLA-4 агента, анти-LAG-3 агента, анти-TIM-3 агента, анти-TIGIT агента, анти-VISTA агента, анти-B7-H3 агента, анти-BTLA агента, анти-ICOS агента, анти-GITR агента, анти-4-1BB агента, анти-OX40 агента, анти-CD27 агента, анти-CD28 агента, анти-CD40 агента и анти-Siglec-15 агента. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 агент, анти-PD-L1 агент, анти-CTLA-4 агент, анти-LAG-3 агент, анти-TIM-3 агент, анти-TIGIT агент, анти-VISTA агент, анти-B7-H3 агент, анти-BTLA агент, анти-ICOS агент, анти-GITR агент, анти-4-1BB агент, анти-OX40 агент, анти-CD27 агент, анти-CD28 агент, анти-CD40 агент или анти-Siglec-15 агент является антагонистом. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 агент, анти-PD-L1 агент, анти-CTLA-4 агент, анти-LAG-3 агент, анти-TIM-3 агент, анти-TIGIT агент, анти-VISTA агент, анти-B7-H3 агент, анти-BTLA агент, анти-ICOS агент, анти-GITR агент, анти-4-1BB агент, анти-OX40 агент, анти-CD27 агент, анти-CD28 агент, анти-CD40 агент или анти-Siglec-15 агент является агонистом. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-1 агент, анти-PD-L1 агент, анти-CTLA-4 агент, анти-LAG-3 агент, анти-TIM-3 агент, анти-TIGIT агент, анти-VISTA агент, анти-B7-H3 агент, анти-BTLA агент, анти-ICOS агент, анти-GITR агент, анти-4-1BB агент, анти-OX40 агент, анти-CD27 агент, анти-CD28 агент, анти-CD40 агент или анти-Siglec-15 агент является ингибитором. В некоторых вариантах осуществления анти-LAG-3 агент включает, состоит преимущественно из или состоит из AK104, KN046, эфтилагимода альфа, релатлимаба, LAG525, MK-4280, REGN3767, TSR-033, BI754111, Sym022, FS118 или MGD013. В некоторых вариантах осуществления анти-TIM-3 агент включает, состоит преимущественно из или состоит из CA-327, TSR-022, MBG453, Sym023, INCAGN2390, LY3321367, BMS-986258, SHR-1702 или RO7121661. В некоторых вариантах осуществления анти-TIGIT агент включает, состоит преимущественно из или состоит из MK-7684, этигилимаба, тираголумаба, BMS-986207, AB-154 или ASP-8374. В некоторых вариантах осуществления анти-VISTA агент включает, состоит преимущественно из или состоит из JNJ-61610588 или CA-170. В

некоторых вариантах осуществления анти-B7-H3 агент включает, состоит преимущественно из или состоит из эноблитузумаба, MGD009 или омбуртамаба. В некоторых вариантах осуществления анти-BTLA агент включает, состоит преимущественно из или состоит из TAB004/JS004. В некоторых вариантах осуществления анти-Siglec-15 агент включает, состоит преимущественно из или состоит из NC318. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольных точек включает, состоит преимущественно из или состоит из AK104 или KN046.

[0244] В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольных точек включает, состоит преимущественно из или состоит из анти-PD1 агента или анти-PD-L1 агента.

[0245] В некоторых вариантах осуществления анти-PD1 агент включает, состоит преимущественно из или состоит из анти-PD1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления анти-PD1 антитело включает, состоит преимущественно из или состоит из ниволумаба, пембролизумаба, цемиплимаба, спартализумаба, камрелизумаба, синтилимаба, тиспелизумаба, торипалимаба, AMF 514 (MEDI0680), балстилимаба или комбинации двух или более из них.

[0246] В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 агент включает, состоит преимущественно из или состоит из анти-PD-L1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления анти-PD-L1 антитело включает, состоит преимущественно из или состоит из авелумаба, дурвалумаба, атезолизумаба, энвафолимаба или комбинации двух или более из них.

[0247] В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольных точек включает, состоит преимущественно из или состоит из анти-CTLA-4 агента. В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 агент включает, состоит преимущественно из или состоит из анти-CTLA-4 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления анти-CTLA-4 антитело включает, состоит преимущественно из или состоит из ипилимумаба, тремелимумаба, залифрелимаба или AGEN1181 или их комбинации.

[0248] В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент включает, состоит преимущественно из или состоит из пембролизумаба, необязательно для лечения немелкоклеточного рака легкого. В дополнительном варианте осуществления терапия пембролизумабом включает, состоит

преимущественно из или состоит из введения субъекту пембролизумаба в дозе 200 мг каждые 3 недели. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент включает, состоит преимущественно из или состоит из ниволумаба. В дополнительном варианте осуществления терапия ниволумабом включает, состоит преимущественно из или состоит из введения субъекту ниволумаба в дозе 240 мг один раз каждые 2 недели и 480 мг один раз в каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент включает, состоит преимущественно из или состоит из ипилимумаба. В дополнительном варианте осуществления терапия ипилимумабом включает, состоит преимущественно из или состоит из введения субъекту ипилимумаба в дозе 1, 3 или 10 мг/кг каждые 3 недели, всего 4 доз. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент включает, состоит преимущественно из или состоит из авелумаба. В дополнительном варианте осуществления терапия авелумабом включает, состоит преимущественно из или состоит из введения авелумаба в дозе 800 мг каждые 2 недели. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент включает, состоит преимущественно из или состоит из дурвалумаба. В дополнительном варианте осуществления терапия дурвалумабом включает, состоит преимущественно из или состоит из введения субъекту дурвалумаба в дозе 10 мг/кг каждые 2 недели. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент включает, состоит преимущественно из или состоит из атезолизумаба. В дополнительном варианте осуществления терапия атезолизумабом включает, состоит преимущественно из или состоит из введения субъекту атезолизумаба в дозе 1200 мг внутривенно (в/в) в течение 60 минут каждые 3 недели.

Ингибиторы биосинтеза тимидилата

[0249] В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из ингибитора тимидилатсинтазы. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из ингибитора фолат-опосредованного одноуглеродного метаболизма.

[0250] В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из 5-фторурацила (5-FU), пеметрекседа, ралтитрекседа, нолатрекседа, плевитрекседа, GS7904L, капецитабина, метотрексата, пралатрексата, CT-900, NUC-3373 или комбинации двух или более из них. В некоторых вариантах

осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из 5-FU. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из пеметрекседа. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из ралтитрекседа. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из нолатрекседа. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из плевитрекседа. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из GS7904L. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из капецитабина. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из метотрексата. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из пралатрексата. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из CT-900. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из NUC-3373.

[0251] В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из адъювантной терапии на основе 5-FU. В некоторых вариантах осуществления адъювантная терапия на основе 5-FU включает, состоит преимущественно из или состоит из S-1, комбинации S-1 и фолиновой кислоты, FOLFOX, FOLFOX-4, FOLFIRI, MOF, дефлексифола, или комбинации 5-FU с одним или более из облучения, метил-CCNU, лейковорина, арфолитиксорина, оксалиплатина (такого как цисплатин), иринотекана, митомицина, цитарабина и левамизола. В некоторых вариантах осуществления адъювантная терапия на основе 5-FU включает, состоит преимущественно из или состоит из FOLFOX, FOLFOX-4, FOLFIRI, MOF, дефлексифола, или комбинации 5-FU с одним или более из облучения, метил-CCNU, лейковорина, оксалиплатина (такого как цисплатин), иринотекана, митомицина, цитарабина и левамизола. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из S-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза

тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из комбинации S-1 и фолиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из FOLFOX. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из FOLFOX-4. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из FOLFIRI. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из MOF. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из дефлексифола. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из комбинации 5-FU с одним или более из облучения, метил-CCNU, лейковорина, арфолитиксорина, оксалиплатина (такого как цисплатин), иринотекана, митомицина, цитарабина и левамизола. В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата включает, состоит преимущественно из или состоит из комбинации 5-FU с одним или более из облучения, метил-CCNU, лейковорина, оксалиплатина (такого как цисплатин), иринотекана, митомицина, цитарабина и левамизола.

[0252] В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата составлен для доставки на основе наночастиц.

[0253] В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата представляет собой 5-FU. Специалист в данной области техники (например, онколог) может использовать различные схемы, такие как перечислены ниже:

(1) Колоректальный рак: 500 мг/м², в/в болюс в день 1; за 1 час до введения болюса 5-FU вводить лейковорин, 500 мг/м², в/в, в течение 2 часов. Повторять еженедельно в дни 1, 8, 15, 22, 29 и 36 каждые 8 недель в течение 4–6 циклов.

(2) Адъювантное лечение ректального рака стадии II или стадии III высокого риска в комбинации с лучевой терапией: 500 мг/м², в/в болюс ежедневно в течение 5 дней в дни 1 и 36, начиная с 22–70 дней после операции; лучевую терапию в течение 6 недель начинают в день 64 после начала терапии 5-FU. 5-FU 225 мг/м²/день, в/в непрерывную инфузию осуществляют на протяжении всей лучевой терапии. Затем 5-FU 450 мг/м², в/в болюс ежедневно в

течение 5 дней, начиная с 1 месяца после облучения (т. е. дни 134–138), и повторяя раз в 4 недели.

(3) Для лечения метастатического колоректального рака в комбинации с иринотеканом и лейковорином, с бевацизумабом или без (FOLFIRI с бевацизумабом или без): 400 мг/м², в/в болюс в день 1, затем 5-FU 1200 мг/м²/день в дни 1 и 2 путем непрерывной в/в инфузии (НВВ) (общая инфузионная доза 2400 мг/м² в течение 46 часов) на протяжении циклов 1 и 2. При отсутствии токсичности выше степени 1 инфузионную дозу 5-FU можно повышать до 3000 мг/м² для всех последующих циклов.

(4) Для лечения распространенного колоректального рака в комбинации с лейковорином (LV) и оксалиплатином, с бевацизумабом или без (FOLFOX4 с бевацизумабом или без): 400 мг/м², в/в болюс в течение 2–4 минут, потом 5-FU 600 мг/м² непрерывной в/в инфузии (НВВ) в течение 22 часов в день 1. Перед болюсом 5-FU в день 1 вводить оксалиплатин, 85 мг/м², в/в, и лейковорин, 200 мг/м², в/в (оба в течение 120 минут с помощью Y-site). При применении FOLFOX4 плюс бевацизумаб вводить бевацизумаб, 10 мг/кг в/в, в течение 30–90 минут перед химиотерапией в день 1. В день 2 повторить лейковорин, 200 мг/м² в/в, в течение 2 часов, потом 5-FU 400 мг/м², в/в болюс, затем 5-FU 600 мг/м² НВВ в течение 22 часов. Порядок введения: бевацизумаб, потом оксалиплатин и лейковорин, потом 5-FU. Эту 2-дневную схему повторяют каждые 2 недели до прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности.

[0254] В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата представляет собой капецитабин. Специалист в данной области техники (например, онколог) может использовать различные схемы, такие как перечислены ниже:

(1) Рак толстой кишки стадии III, адъювантная терапия после хирургического вмешательства (монотерапия): 1,25 г/м² дважды в день в течение 14 дней, последующие курсы повторяют после 7-дневного интервала, рекомендованная продолжительность лечения составляет 6 месяцев, дозу корректируют в соответствии с переносимостью.

(2) Рак толстой кишки стадии III, адъювантная терапия после хирургического вмешательства (комбинированная терапия): 0,8–1 г/м² дважды в день в течение 14 дней, последующие курсы повторяют после 7-дневного интервала, рекомендованная продолжительность лечения составляет 6 месяцев, дозу корректируют в соответствии с переносимостью.

(3) Метастатический колоректальный рак (монотерапия): $1,25 \text{ г/м}^2$ дважды в день в течение 14 дней, последующие курсы повторяют после 7-дневного интервала, дозу корректируют в соответствии с переносимостью.

(4) Метастатический колоректальный рак (комбинированная терапия):
 5 $0,8\text{--}1 \text{ г/м}^2$ дважды в день в течение 14 дней, последующие курсы повторяют после 7-дневного интервала, дозу корректируют в соответствии с переносимостью.

(5) Распространенный рак желудка (лечение первой линии в комбинации со схемой на основе платины): $0,8\text{--}1 \text{ г/м}^2$ дважды в день в течение 14
 10 дней, последующие курсы повторяют после 7-дневного интервала, в альтернативном варианте — 625 мг/м^2 дважды в день непрерывно, дозу корректируют в соответствии с переносимостью.

[0255] В некоторых вариантах осуществления ингибитор биосинтеза тимидилата представляет собой метотрексат. Специалист в данной области
 15 техники (например, онколог) может использовать различные схемы, такие как перечислены ниже:

(1) Хориокарцинома и схожие трофобластные заболевания: Метотрексат вводят перорально или внутримышечно в дозах $15\text{--}30 \text{ мг}$ ежедневно в течение пятидневного курса. Такие курсы обычно повторяют $3\text{--}5$ раз при
 20 необходимости.

(2) Лимфомы: При опухолях Беркитта стадий I–II рекомендованная дозировка составляет $10\text{--}25 \text{ мг/день}$ перорально в течение $4\text{--}8$ дней.

(3) Фунгоидный микоз (кожная Т-клеточная лимфома): Дозировка на ранних стадиях обычно составляет $5\text{--}50 \text{ мг}$ один раз в неделю. Уменьшение или
 25 прекращение приема дозы обусловлено ответом пациента и гематологическими показателями.

(4) Остеосаркома: Метотрексат используют в комбинации с другими агентами. Помимо метотрексата в высокой дозе с резервным лейковорином, эти агенты могут включать доксорубин, цисплатин и комбинацию блеомицина, циклофосфамида и дактиномицина (BCD). Начальная доза для лечения
 30 метотрексатом в высокой дозе составляет 12 г/м^2 .

Антрациклин или другие ингибиторы топоизомеразы II

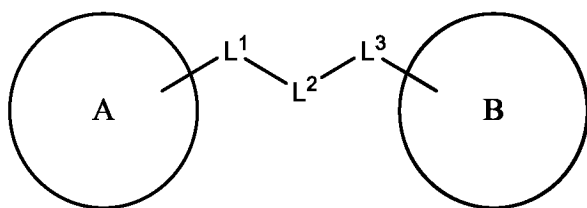
[0256] В некоторых вариантах осуществления антрациклин или другие ингибиторы топоизомеразы II включают, состоят преимущественно из или состоят
 35 из антрациклина. В некоторых вариантах осуществления антрациклин включает, состоит преимущественно из или состоит из одного или более из даунорубина,

доксорубицина (включая липосомальный доксорубицин), эпирубицина, идарубицина, митоксантрона и валрубицина. В некоторых вариантах осуществления антрациклин включает, состоит преимущественно из или состоит из даунорубицина. В некоторых вариантах осуществления антрациклин включает, состоит преимущественно из или состоит из доксорубицина (включая липосомальный доксорубицин). В некоторых вариантах осуществления антрациклин включает, состоит преимущественно из или состоит из эпирубицина. В некоторых вариантах осуществления антрациклин включает, состоит преимущественно из или состоит из идарубицина. В некоторых вариантах осуществления антрациклин включает, состоит преимущественно из или состоит из валрубицина.

[0257] В некоторых вариантах осуществления антрациклин или другие ингибиторы топоизомеразы II включают, состоят преимущественно из или состоят из соединения, выбранного из митоксантрона, этопозиды и тенипозиды. В некоторых вариантах осуществления ингибитор топоизомеразы II включает, состоит преимущественно из или состоит из митоксантрона. В некоторых вариантах осуществления ингибитор топоизомеразы II включает, состоит преимущественно из или состоит из этопозиды. В некоторых вариантах осуществления ингибитор топоизомеразы II включает, состоит преимущественно из или состоит из тенипозиды.

Ингибиторы дУТФазы

[0258] В некоторых вариантах осуществления ингибитор дУТФазы представляет собой соединение формулы (I):



(I)

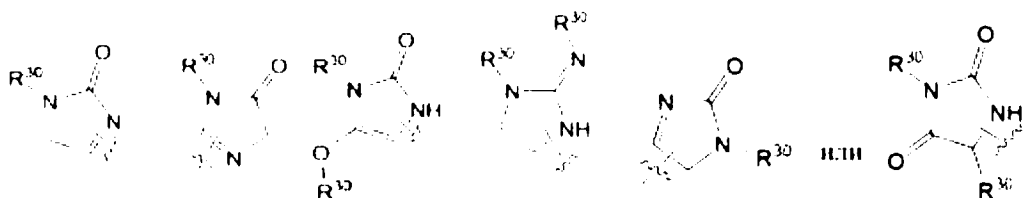
или его таутомер или пролекарство каждого из них; или дейтериевый изотоп каждого из вышеуказанного, в котором до 10, предпочтительно до 6, более предпочтительно до 3 атомов водорода, которые присоединены к одному или более атомам углерода, замещены атомами дейтерия; или фармацевтические приемлемую соль каждого из вышеприведенного; или фармацевтические приемлемый сольват каждого из вышеупомянутого,

где

А представляет собой необязательно замещенный 5-членный гетероцикл, содержащий фрагмент $-C(O)NZC(O)-$, фрагмент $-C(O)OC(O)-$, фрагмент $-C(O)CR^{10}C(O)-$ или фрагмент $-C(O)NR^{10}C(O)-$; или

А представляет собой 5-членный гетероарил или 5-членный по существу планарный гетероцикл (т. е. гетероцикл, в котором по меньшей мере 3 или по меньшей мере 4 атома могут стабильно находиться в одной плоскости), замещенный в позициях 1,3 заместителями, выбранными из галогена, необязательно замещенного гидроксильной и необязательно замещенных групп $-SH$, предпочтительно двумя атомами фтора, при этом 5-членный гетероарил или по существу планарный гетероцикл дополнительно необязательно замещен; или

А представляет собой



каждый R^{10} независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_{10} алкокси или необязательно замещенный C_1-C_{10} алкил, предпочтительно R^{10} представляет собой водород;

каждый R^{30} независимо представляет собой водород; необязательно замещенный C_1-C_{10} алкокси; необязательно замещенный аминами, такой как $-NH_2$ или его одно- или двухзамещенная форма; необязательно замещенный C_1-C_{10} алкил; необязательно замещенный гидроксильной; или Z; или A и L^1 , предпочтительно R^{30} , где R^{30} присоединен к атому, смежному с атомом, присоединенным к L^1 , и при этом L^1 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют 5–7-членное кольцо;

L^1 представляет собой линкер, содержащий 2–13 атомов в цепи, выбранных из C, N, O, S и/или P, при этом линкер необязательно замещен; или

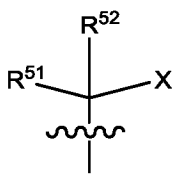
L^1 представляет собой $-L^{11}-L^{12}-L^{13}-$, где L^{11} присоединен к A и L^{11} представляет собой O, S, NR, C_1-C_2 алкилен, C_2 алкенилен, C_2 гетероалкилен, C_3 гетероалкенилен, L^{12} представляет собой арилен или гетероарил, L^{13} представляет собой связь или необязательно замещенный C_1-C_5 алкилен, а R представляет собой H или C_1-C_3 алкил;

L^2 представляет собой $-SO_2NR^{50}-$, где атом серы присоединен к L^1 ; $-NR^{50}SO_2-$, где атом азота присоединен к L^1 ; $-C(O)NR^{50}-$, где атом углерода

присоединен к L^1 ; $-NR^{50}C(O)-$, где атом азота присоединен к L^1 ; $-NR^{50}SO_2NR^{50}-$; или $-NR^{50}CONR^{50}-$;

каждый R^{50} независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный C_2-C_6 гетероалкил, необязательно замещенный C_2-C_6 алкенил, необязательно замещенный C_3-C_6 гетероалкенил, необязательно замещенный C_2-C_6 алкинил, необязательно замещенный C_3-C_6 гетероалкинил или Z;

Z представляет собой



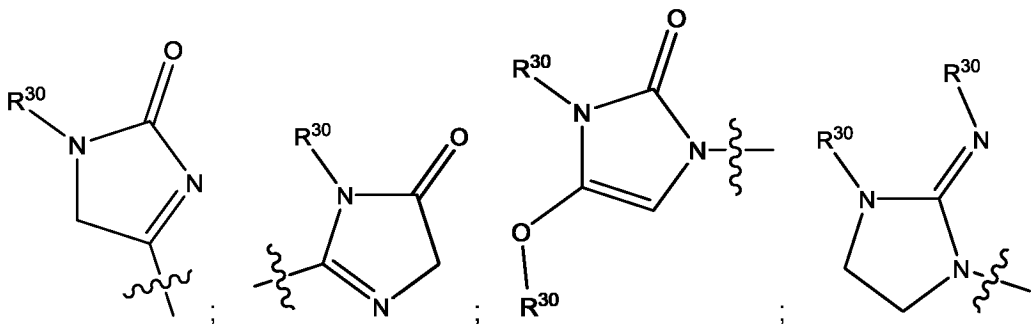
каждый R^{51} и R^{52} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_{10} алкил;

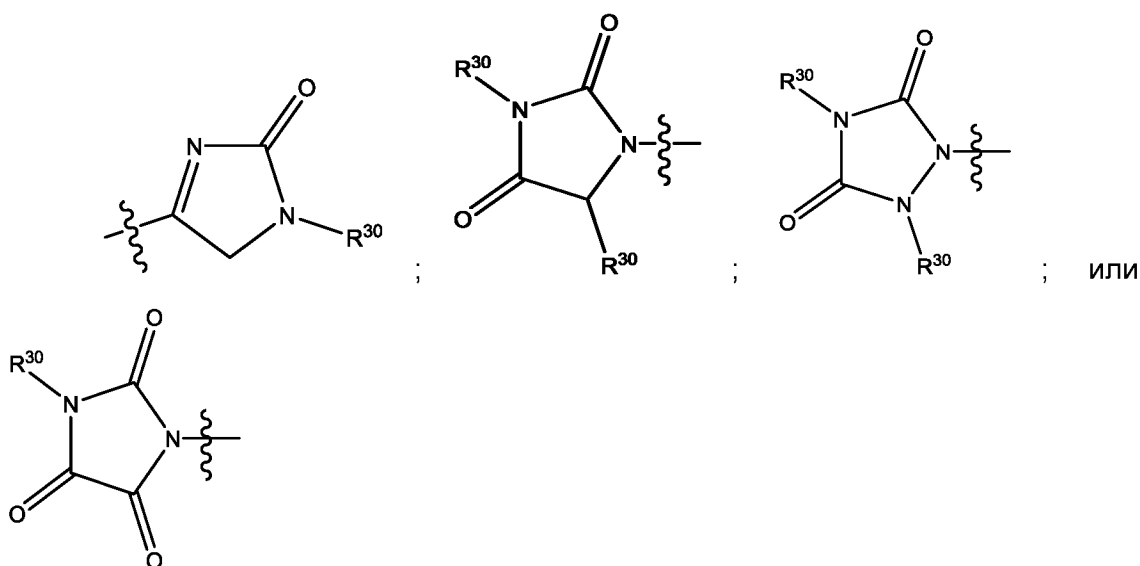
X представляет собой необязательно замещенную гидроксигруппу, необязательно замещенную группу NH_2 или необязательно замещенную SH;

L^3 представляет собой связь, необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен, необязательно замещенный C_2-C_6 гетероалкилен, необязательно замещенный C_2-C_6 алкенилен, необязательно замещенный C_3-C_6 гетероалкенилен, необязательно замещенный C_2-C_6 алкинилен или необязательно замещенный C_3-C_6 гетероалкинилен; и

V представляет собой необязательно замещенный 6–10-членный арил; необязательно замещенный 5–15-членный гетероарил; необязательно замещенный 4–15-членный гетероциклил; или необязательно замещенный 3–15-членный циклоалкил, если циклоалкил, то предпочтительно 4-членный или более предпочтительно 5–10-членный циклоалкил.

[0259] В некоторых вариантах осуществления A представляет собой





[0260] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе соединение представляет собой пролекарство. В контексте данного документа «пролекарство» относится к соединению, которое после введения метаболизируется или иным образом превращается в биологически активное или более активное соединение (или лекарственный препарат) в отношении по меньшей мере одного свойства. Пролекарство по сравнению с лекарством модифицировано химическим образом, который делает его по сравнению с лекарством менее активным или неактивным, но химическая модификация является такой, чтобы происходило образование соответствующего лекарственного препарата посредством метаболических или иных биологических процессов после введения пролекарства. Пролекарство может характеризоваться по сравнению с активным лекарством измененными метаболитической стабильностью или транспортными характеристиками, меньшим количеством побочных эффектов или более низкой токсичностью, или улучшенным вкусом (например, смотрите Nogrady, 1985, Medicinal Chemistry A Biochemical Approach, Oxford University Press, New York, pages 388-392, включенную в данный документ посредством ссылки). Пролекарство можно синтезировать, используя реагенты, отличные от соответствующего лекарства. Примеры пролекарств и способов их получения также приведены в публикации заявки на патент США № 20160024127, которая в полном объеме включена в данный документ посредством ссылки.

[0261] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе соединение содержит один или более атомов дейтерия. Примеры дейтерий-содержащего соединения, предложенного в данном документе, в котором до 10, предпочтительно до 6, более предпочтительно до 3 атомов

водорода, которые присоединены к атомам углерода, замещены дейтерием, включают, без ограничения: соединение, в котором метильная группа преобразована в $-\text{CH}_2\text{D}$, $-\text{CHD}_2$ или $-\text{CD}_3$; соединение, в котором метиленовая группа преобразована в $-\text{CHD}-$ или $-\text{CD}_2-$, фенильное кольцо, в котором один или более атомов водорода замещены атомами дейтерия, и т. д.

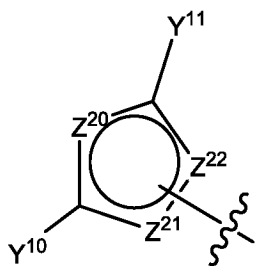
[0262] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой необязательно замещенный 5-членный гетероцикл, содержащий фрагмент $-\text{C}(\text{O})\text{NZC}(\text{O})-$. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой необязательно замещенный 5-членный гетероцикл, содержащий фрагмент $-\text{C}(\text{O})\text{OC}(\text{O})-$. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой необязательно замещенный 5-членный гетероцикл, содержащий фрагмент $-\text{C}(\text{O})\text{CR}^{10}\text{C}(\text{O})-$. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой необязательно замещенный 5-членный гетероцикл, содержащий фрагмент $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{10}\text{C}(\text{O})-$.

[0263] В некоторых вариантах осуществления R^{10} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{10} представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_{10} алкокси. В некоторых вариантах осуществления R^{10} представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_{10} алкил.

[0264] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 5-членный гетероарил, замещенный в позициях 1,3 заместителями, выбранными из галогена, необязательно замещенного гидроксидной и необязательно замещенных групп $-\text{SH}$, предпочтительно двумя атомами фтора, при этом 5-членный гетероарил дополнительно необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 5-членный гетероарил, замещенный в позициях 1,3 галогеном, при этом 5-членный гетероарил дополнительно необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления 5-членный гетероарил замещен в позициях 1,3 двумя атомами фтора, при этом 5-членный гетероарил дополнительно необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 5-членный гетероарил, замещенный в позициях 1,3 необязательно замещенным гидроксидом, при этом 5-членный гетероарил дополнительно необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 5-членный гетероарил, замещенный в позициях 1,3 необязательно замещенными группами $-\text{SH}$, при этом 5-членный гетероарил дополнительно необязательно замещен.

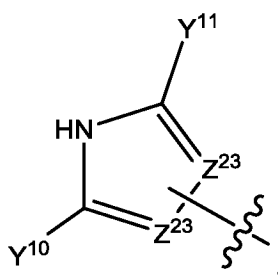
[0265] Неограничивающие и иллюстративные примеры 5-членного гетероарила, замещенного в позициях 1,3 заместителями, выбранными из галогена,

необязательно замещенного гидроксид, необязательно замещенных групп -SH, включают, без ограничения:



такие как

5



где Y^{10} и Y^{11} независимо выбраны из галогена, предпочтительно хлора или фтора, гидроксид, -SH, замещенного гидроксид и замещенного -SH; Z^{20} - Z^{22} независимо выбраны из необязательно замещенного CH, необязательно замещенного NH, N, S, SO_2 , SO и O, при условии, что комбинация Z^{20} - Z^{22} обеспечивает планарный совпадающий по валентности гетероарил или его таутомер; а каждый Z^{23} независимо представляет собой CH или N.

10

[0266] В некоторых вариантах осуществления Y^{10} представляет собой галоген. В некоторых вариантах осуществления Y^{10} представляет собой хлор. В некоторых вариантах осуществления Y^{10} представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления Y^{10} представляет собой гидроксид. В некоторых вариантах осуществления Y^{10} представляет собой -SH. В некоторых вариантах осуществления Y^{10} представляет собой замещенный гидроксид. В некоторых вариантах осуществления Y^{10} представляет собой замещенный -SH.

15

[0267] В некоторых вариантах осуществления Y^{11} представляет собой галоген. В некоторых вариантах осуществления Y^{11} представляет собой хлор. В некоторых вариантах осуществления Y^{11} представляет собой фтор. В некоторых вариантах осуществления Y^{11} представляет собой гидроксид. В некоторых вариантах осуществления Y^{11} представляет собой -SH. В некоторых вариантах осуществления Y^{11} представляет собой замещенный гидроксид. В некоторых вариантах осуществления Y^{11} представляет собой замещенный -SH.

20

25

[0268] В некоторых вариантах осуществления Z^{20} представляет собой необязательно замещенный СН. В некоторых вариантах осуществления Z^{20} представляет собой необязательно замещенный NH. В некоторых вариантах осуществления Z^{20} представляет собой N. В некоторых вариантах осуществления Z^{20} представляет собой S. В некоторых вариантах осуществления Z^{20} представляет собой SO_2 . В некоторых вариантах осуществления Z^{20} представляет собой SO. В некоторых вариантах осуществления Z^{20} представляет собой O.

[0269] В некоторых вариантах осуществления Z^{21} представляет собой необязательно замещенный СН. В некоторых вариантах осуществления Z^{21} представляет собой необязательно замещенный NH. В некоторых вариантах осуществления Z^{21} представляет собой N. В некоторых вариантах осуществления Z^{21} представляет собой S. В некоторых вариантах осуществления Z^{21} представляет собой SO_2 . В некоторых вариантах осуществления Z^{21} представляет собой SO. В некоторых вариантах осуществления Z^{21} представляет собой O.

[0270] В некоторых вариантах осуществления Z^{22} представляет собой необязательно замещенный СН. В некоторых вариантах осуществления Z^{22} представляет собой необязательно замещенный NH. В некоторых вариантах осуществления Z^{22} представляет собой N. В некоторых вариантах осуществления Z^{22} представляет собой S. В некоторых вариантах осуществления Z^{22} представляет собой SO_2 . В некоторых вариантах осуществления Z^{22} представляет собой SO. В некоторых вариантах осуществления Z^{22} представляет собой O.

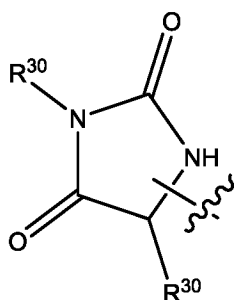
[0271] В некоторых вариантах осуществления Z^{23} представляет собой необязательно замещенный СН. В некоторых вариантах осуществления Z^{23} представляет собой N.

[0272] В некоторых вариантах осуществления A представляет собой 5-членный по существу планарный гетероциклил (т. е. гетероциклил, в котором по меньшей мере 3 или по меньшей мере 4 атома могут стабильно находиться в одной плоскости), замещенный в позициях 1,3 заместителями, выбранными из галогена, необязательно замещенного гидроксид и необязательно замещенных групп -SH, предпочтительно двумя атомами фтора, при этом 5-членный по существу планарный гетероциклил дополнительно необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления A представляет собой 5-членный по существу планарный гетероциклил, замещенный в позициях 1,3 галогеном, при этом 5-

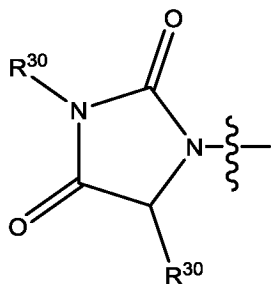
членный по существу планарный гетероциклил дополнительно необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления 5-членный по существу планарный гетероциклил замещен в позициях 1,3 двумя атомами фтора, при этом 5-членный по существу планарный гетероциклил дополнительно необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 5-членный по существу планарный гетероциклил, замещенный в позициях 1,3 необязательно замещенным гидроксигруппой, при этом 5-членный по существу планарный гетероциклил дополнительно необязательно замещен. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой 5-членный по существу планарный гетероциклил, замещенный в позициях 1,3 необязательно замещенными группами -SH, при этом 5-членный по существу планарный гетероциклил дополнительно необязательно замещен.

[0273] Примеры 5-членного по существу планарного гетероциклила, замещенного в позициях 1,3 галогеном, необязательно замещенным гидроксигруппой и необязательно замещенными группами -SH, имеют аналогичные структуры, что и соответствующий 5-членный гетероарил, за исключением того, что 5-членное кольцо не является ароматическим кольцом.

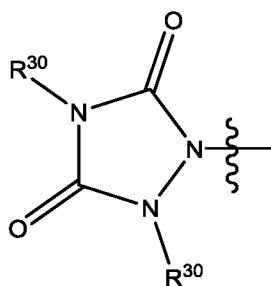
[0274] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой:



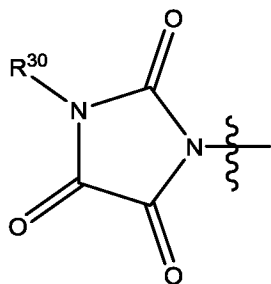
[0275] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой:



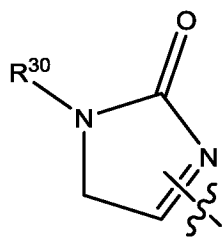
[0276] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой:



[0277] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой:

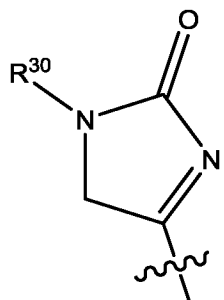


[0278] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой:

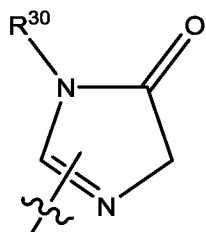


5

[0279] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой:

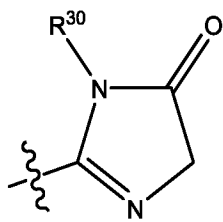


[0280] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой:

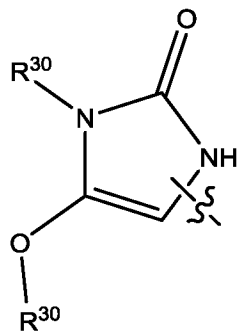


10

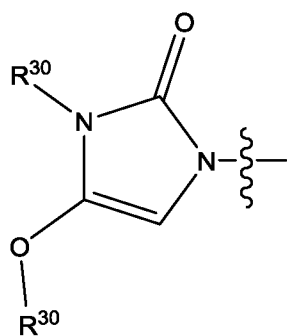
[0281] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой:



[0282] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой:

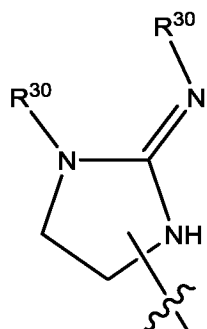


[0283] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой:

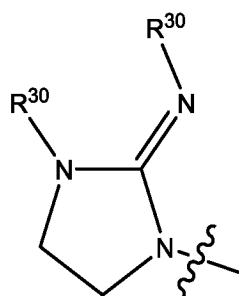


5

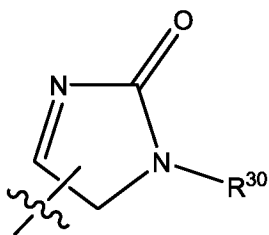
[0284] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой:



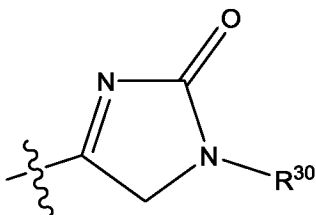
[0285] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой:



[0286] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой:



[0287] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой:



- 5 [0288] В некоторых вариантах осуществления R^{30} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{30} представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_{10} алкокси. В некоторых вариантах осуществления R^{30} представляет собой необязательно замещенный amino, такой как $-NH_2$ или его одно- или двухзамещенную форму. В некоторых вариантах осуществления R^{30}
- 10 представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_{10} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{30} представляет собой необязательно замещенный гидрокси. В некоторых вариантах осуществления R^{30} представляет собой пролекарственный фрагмент. Неограничивающие и иллюстративные примеры пролекарственных фрагментов включают формилловые эфиры и сложные
- 15 формилловые эфиры, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^{30} представляет собой Z.

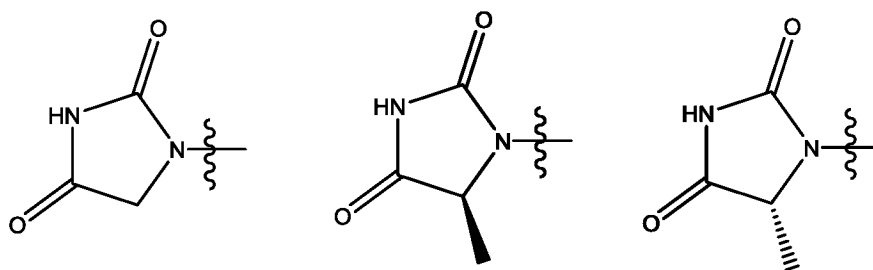
[0289] Иллюстративные и неограничивающие примеры R^{30} включают замещенный гидрокси или $-CH_2OC(O)R^{80}$, где R^{80} представляет собой H или необязательно замещенный C_1 - C_{10} алкил. В некоторых вариантах

20 осуществления R^{80} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{80} представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_{10} алкил.

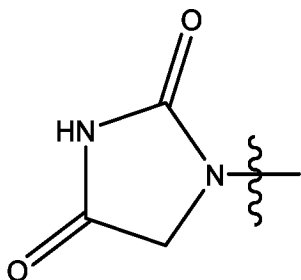
[0290] В некоторых вариантах осуществления А и L^1 , предпочтительно R^{30} и L^1 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют 5–7-членное кольцо.

[0291] В некоторых вариантах осуществления А выбран из группы, состоящей

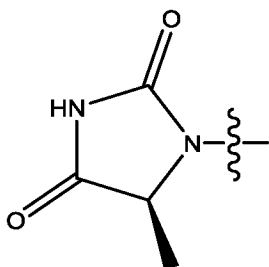
25 из:



[0292] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой

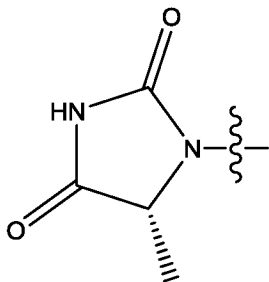


[0293] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой



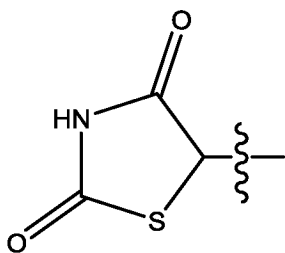
5

[0294] В некоторых вариантах осуществления А представляет собой

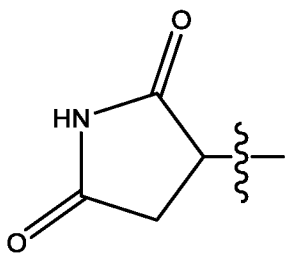


[0295] Описанные в данном документе фрагменты А, включая приведенные выше, могут, в некоторых вариантах осуществления, быть дополнительно замещены 1–3, предпочтительно 1–2, более предпочтительно 1 заместителем R^{30} , предложенным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления, в которых R^{30} и L^1 присоединены к смежным атомам (т. е. атомам, имеющим позиционное расположение 1,2), R^{30} и часть L^1 вместе с промежуточными атомами могут образовывать 5–6-членное необязательно замещенное циклоалкильное или гетероциклическое кольцо.

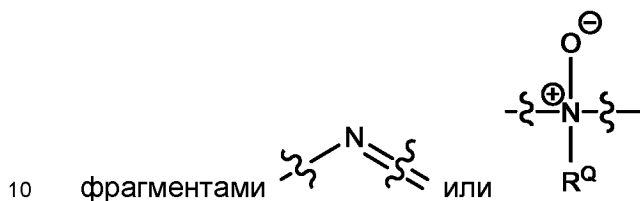
[0296] В некоторых вариантах осуществления А не представляет собой:



[0297] В некоторых вариантах осуществления А не представляет собой:



[0298] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой линкер, содержащий 2–13 атомов в цепи, выбранных из C, N, O, S и/или P, при этом линкер необязательно замещен. В различных вариантах осуществления L^1 , содержащий 2–13 атомов в цепи, выбранных из C, N, O, S и/или P, может представлять собой: алкилен, алкенилен, алкинилен, где один или более атомов углерода замещены O, S, SO, SO₂, необязательно замещенным NH,



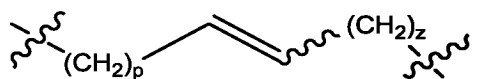
где R^Q представляет собой H или C₁–C₆ алкил, необязательно замещенный -CO-NH-, необязательно замещенный -SO₂-NH-, необязательно замещенный -P(O)(OH)-, необязательно замещенный фосфорамид и необязательно замещенный фосфорамидат (такой как -P(O)NH₂-, -P(O)(OH)NH- и т. д.), необязательно замещенный олигоэтиленгликоль, необязательно замещенный олигоэтаноламин и т. п., как будет понятно специалисту в данной области техники на основании приведенного в данном документе описания.

[0299] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой -(CH₂)_q-. В некоторых вариантах осуществления один или более атомов водорода необязательно замещены C₁–C₃ алкилом. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два геминальных атома водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены необязательно замещенным 3–5-членным гетероциклилом. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два геминальных атома водорода вместе с

атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены необязательно замещенным 3–5-членным циклоалкилом. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил необязательно замещен циклопропано. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил необязательно замещен циклобутано. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил необязательно замещен циклопентано. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный гетероциклил необязательно замещен тетрагидрофурано.

[0300] В некоторых вариантах осуществления q равно 3. В некоторых вариантах осуществления q равно 4. В некоторых вариантах осуществления q равно 5. В некоторых вариантах осуществления q равно 6. В некоторых вариантах осуществления q равно 7. В некоторых вариантах осуществления q равно 8.

[0301] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой:



В некоторых родственных вариантах осуществления один или более атомов водорода необязательно замещены C_1 – C_3 алкилом. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два геминальных атома водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены необязательно замещенным 3–5-членным гетероциклилом. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два геминальных атома водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены необязательно замещенным 3–5-членным циклоалкилом. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил необязательно замещен циклопропано. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил необязательно замещен циклобутано. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил необязательно замещен циклопентано. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил необязательно замещен тетрагидрофурано.

[0302] В некоторых вариантах осуществления r равно 0. В некоторых вариантах осуществления r равно 1. В некоторых вариантах осуществления r равно 2. В некоторых вариантах осуществления r равно 3. В некоторых вариантах осуществления r равно 4.

вариантах осуществления r равно 4. В некоторых вариантах осуществления r равно 5.

[0303] В некоторых вариантах осуществления z равно 0. В некоторых вариантах осуществления z равно 1. В некоторых вариантах осуществления z равно 2. В некоторых вариантах осуществления z равно 3. В некоторых вариантах осуществления z равно 4. В некоторых вариантах осуществления z равно 5.

[0304] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой $-(CH_2)_m-X^{15}-(CH_2)_n-$. В некоторых вариантах осуществления один или более атомов водорода необязательно замещены C_1 - C_3 алкилом. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два геминальных атома водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены необязательно замещенным 3–5-членным гетероциклилом. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два геминальных атома водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены необязательно замещенным 3–5-членным циклоалкилом. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил необязательно замещен циклопропано. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил необязательно замещен циклобутано. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил необязательно замещен циклопентано. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный гетероциклил необязательно замещен тетрагидрофурано.

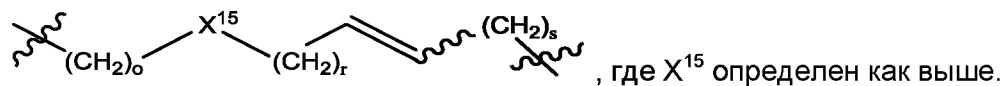
[0305] В некоторых вариантах осуществления m равно 0. В некоторых вариантах осуществления m равно 1. В некоторых вариантах осуществления m равно 2. В некоторых вариантах осуществления m равно 3.

[0306] В некоторых вариантах осуществления n равно 0. В некоторых вариантах осуществления n равно 1. В некоторых вариантах осуществления n равно 2. В некоторых вариантах осуществления n равно 3. В некоторых вариантах осуществления n равно 4. В некоторых вариантах осуществления n равно 5. В некоторых вариантах осуществления n равно 6. В некоторых вариантах осуществления n равно 7.

[0307] В некоторых вариантах осуществления X^{15} представляет собой NR^{40} . В некоторых вариантах осуществления X^{15} представляет собой $NR^{40}(+)-O(-)$. В некоторых вариантах осуществления R^{40} представляет собой H. В некоторых

вариантах осуществления R^{40} представляет собой C_1 - C_{10} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{40} представляет собой C_1 - C_3 алкил. В некоторых вариантах осуществления X^{15} представляет собой O. В некоторых вариантах осуществления X^{15} представляет собой S. В некоторых вариантах осуществления X^{15} представляет собой SO. В некоторых вариантах осуществления X^{15} представляет собой SO_2 .

[0308] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой:



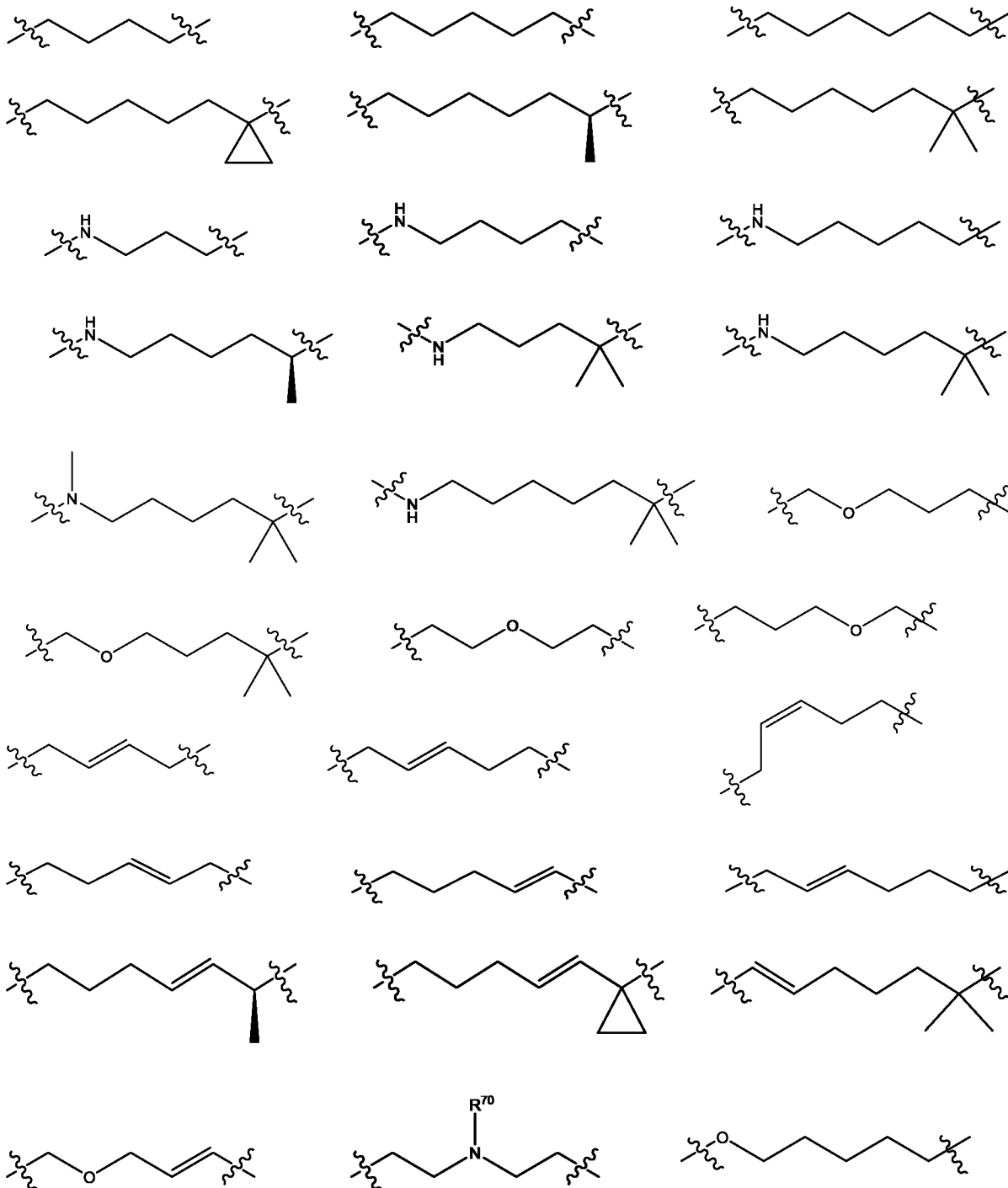
В некоторых родственных вариантах осуществления один или более атомов водорода необязательно замещены C_1 - C_3 алкилом. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два геминальных атома водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены необязательно замещенным 3–5-членным гетероциклилом. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два геминальных атома водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены необязательно замещенным 3–5-членным циклоалкилом. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил необязательно замещен циклопропано. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил необязательно замещен циклобутано. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил необязательно замещен цикlopентано. В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный 3–5-членный гетероциклил необязательно замещен тетрагидрофурано.

[0309] В некоторых вариантах осуществления o равно 0. В некоторых вариантах осуществления o равно 1. В некоторых вариантах осуществления o равно 2. В некоторых вариантах осуществления o равно 3.

[0310] В некоторых вариантах осуществления r равно 1. В некоторых вариантах осуществления r равно 2. В некоторых вариантах осуществления r равно 3.

[0311] В некоторых вариантах осуществления s равно 0. В некоторых вариантах осуществления s равно 1. В некоторых вариантах осуществления s равно 2. В некоторых вариантах осуществления s равно 3. В некоторых вариантах осуществления s равно 4.

[0312] В некоторых вариантах осуществления L^1 выбран из группы, состоящей из:

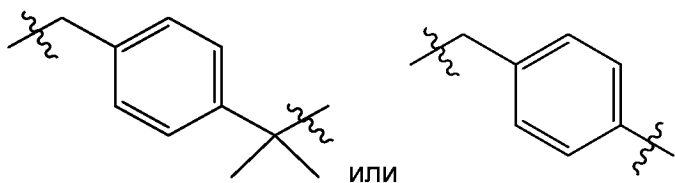


где левые стороны фрагментов присоединены к А.

В некоторых родственных вариантах осуществления 1–5, предпочтительно 1–3 атомов водорода L^1 необязательно замещены, при этом предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1 – C_6 алкокси;

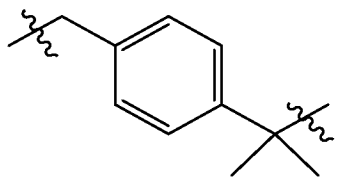
необязательно замещенный C_1-C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор, где левые стороны фрагментов присоединены к А и где R^{70} представляет собой обязательно замещенный C_1-C_{10} алкил. В некоторых вариантах осуществления L^1 обязательно замещен, при этом 1–5 атомов водорода обязательно замещены. В некоторых вариантах осуществления L^1 обязательно замещен, при этом 1–3 атома водорода обязательно замещены. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, C_1-C_6 алкил, обязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, C_1-C_6 алкил, обязательно замещенный C_1-C_6 алкокси. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, обязательно замещенный C_1-C_6 алкокси. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, галоген. В некоторых вариантах осуществления заместители включают фтор.

[0313] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой:

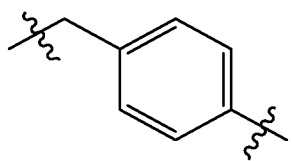


или обязательно замещенную версию каждого из них, где 1–5, предпочтительно 1–3 атомов водорода обязательно замещены, при этом предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1-C_6 алкил, обязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1-C_6 алкокси; обязательно замещенный C_1-C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор, где левые стороны фрагментов присоединены к А.

[0314] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой:



[0315] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой:



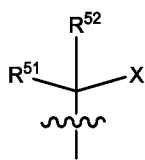
[0316] В некоторых вариантах осуществления L^1 обязательно замещен, при этом 1–5 атома водорода обязательно замещены. В некоторых вариантах

осуществления L^1 необязательно замещен, при этом 1–3 атомов водорода необязательно замещены. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, галоген. В некоторых вариантах осуществления заместители включают фтор.

[0317] В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой $-SO_2NR^{50}-$, где атом серы присоединен к L^1 . В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой $-NR^{50}SO_2-$, где атом азота присоединен к L^1 . В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой $-C(O)NR^{50}-$, где атом углерода присоединен к L^1 . В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой $-NR^{50}C(O)-$, где атом азота присоединен к L^1 . В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой $-NR^{50}SO_2NR^{50}-$. В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой $-NR^{50}CONR^{50}-$.

[0318] В некоторых вариантах осуществления R^{50} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{50} представляет собой необязательно замещенный C_1 – C_6 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{50} представляет собой необязательно замещенный C_2 – C_6 гетероалкил. В некоторых вариантах осуществления R^{50} представляет собой необязательно замещенный C_2 – C_6 алкенил. В некоторых вариантах осуществления R^{50} представляет собой необязательно замещенный C_3 – C_6 гетероалкенил. В некоторых вариантах осуществления R^{50} представляет собой необязательно замещенный C_2 – C_6 алкинил. В некоторых вариантах осуществления R^{50} представляет собой необязательно замещенный C_3 – C_6 гетероалкинил. В некоторых вариантах осуществления R^{50} представляет собой Z.

[0319] В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой



где каждый R^{51} и R^{52} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C_1 – C_{10} алкил, а X представляет собой необязательно замещенную гидроксигруппу, необязательно замещенную группу NH_2 или необязательно замещенную SH.

[0320] В некоторых вариантах осуществления R^{51} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{51} представляет собой необязательно замещенный C_1-C_{10} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{52} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{52} представляет собой необязательно замещенный C_1-C_{10} алкил.

[0321] В некоторых вариантах осуществления X представляет собой необязательно замещенную гидроксигруппу. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой необязательно замещенную группу NH_2 . В некоторых вариантах осуществления X представляет собой необязательно замещенную группу SH .

[0322] В контексте данного документа необязательно замещенная гидроксигруппа относится, без ограничений, к алкилированным, арилированным, циклоалкилированным, гетероциклилированным, ацилированным, карбоксилированным (т. е. с образованием карбоната, карбамата, тиокарбоната, тиокарбамата, содержащего алкил, арил, гетероарил и/или гетероцикл, и другие такие фрагменты), фосфорилированным, фосфонилированным, сульфонируемым формам гидроксигруппы, как будет понятно специалисту в данной области техники в свете этого изобретения.

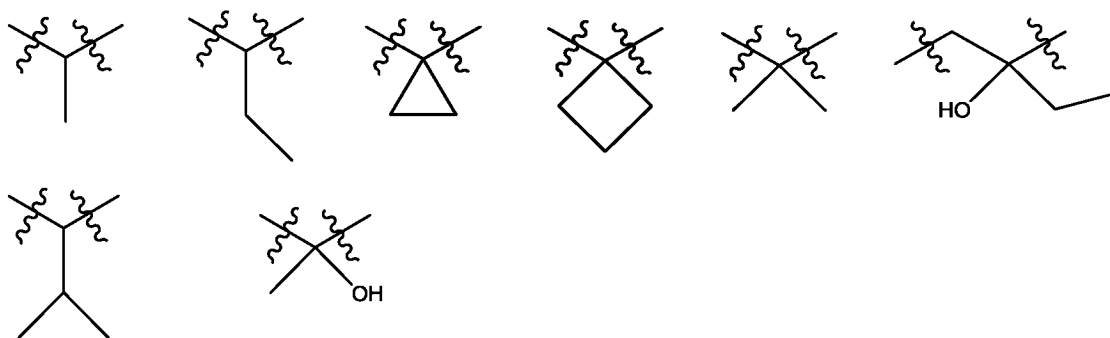
[0323] В контексте данного документа необязательно замещенная группа NH_2 относится, без ограничений, к алкилированным, арилированным, циклоалкилированным, гетероциклилированным, ацилированным, карбоксилированным (т. е. с образованием карбоната, карбамата, тиокарбоната, тиокарбамата, содержащего алкил, арил, гетероарил и/или гетероцикл, и другие такие фрагменты), фосфорилированным, фосфонилированным, сульфонируемым формам группы NH_2 , как будет понятно специалисту в данной области техники в свете этого изобретения.

[0324] В контексте данного документа необязательно замещенная группа SH относится, без ограничений, к алкилированным, арилированным, циклоалкилированным, гетероциклилированным, ацилированным, карбоксилированным (т. е. с образованием карбоната, карбамата, тиокарбоната, тиокарбамата, содержащего алкил, арил, гетероарил и/или гетероцикл, и другие такие фрагменты), фосфорилированным, фосфонилированным, сульфонируемым формам группы SH , как будет понятно специалисту в данной области техники в свете этого изобретения.

[0325] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой связь. В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой необязательно

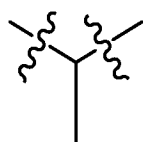
замещенный C_1-C_6 алкилен. В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой $-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой необязательно замещенный C_2-C_6 гетероалкилен. В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой необязательно замещенный C_2-C_6 алкенилен. В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой необязательно замещенный C_3-C_6 гетероалкенилен. В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой необязательно замещенный C_2-C_6 алкинилен. В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой необязательно замещенный C_3-C_6 гетероалкинилен. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой линкер, необязательно замещенный C_3-C_6 циклоалкилом, предпочтительно циклопропилом или циклобутилом. В некоторых вариантах осуществления C_1-C_6 алкилен необязательно замещен C_3-C_6 циклоалкилом.

[0326] В некоторых вариантах осуществления L^3 выбран из группы, состоящей из:

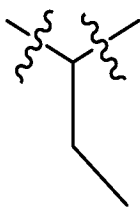


и их необязательно замещенных версий, где 1–5, предпочтительно 1–3 атомов водорода необязательно замещены, при этом предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1-C_6 алкокси; необязательно замещенный C_1-C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор, где левые стороны фрагментов присоединены к L^2 .

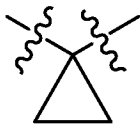
[0327] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой:



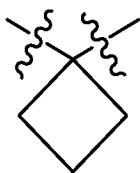
[0328] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой:



[0329] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой:

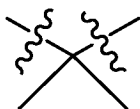


[0330] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой:

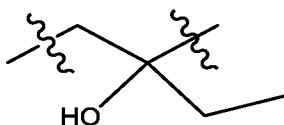


5

[0331] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой:

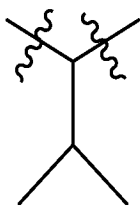


[0332] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой:

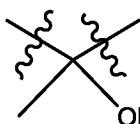


10 В некоторых вариантах осуществления левая сторона присоединена к А.

[0333] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой:



[0334] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой:

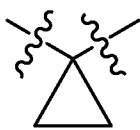


15 В некоторых вариантах осуществления левая сторона присоединена к А.

[0335] В некоторых вариантах осуществления L^3 необязательно замещен, при этом 1–5 атомов водорода необязательно замещены. В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой необязательно замещенную версию, при этом 1–3 атома водорода необязательно замещены. В некоторых вариантах

осуществления заместители включают, без ограничений, C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный C_1-C_6 алкокси. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, необязательно замещенный C_1-C_6 алкокси. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, галоген. В некоторых вариантах осуществления заместители включают фтор.

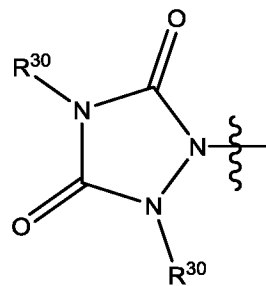
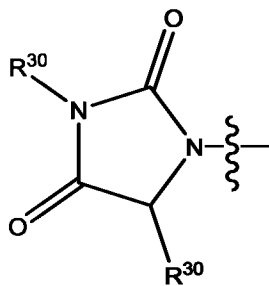
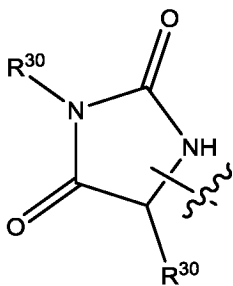
[0336] В некоторых вариантах осуществления, когда L^3 представляет собой



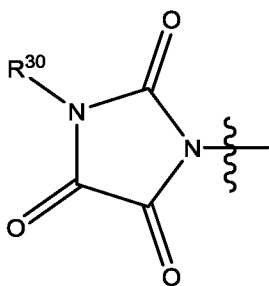
то А представляет собой фрагмент гидантоина, описанный в данном документе.

[0337] В некоторых вариантах осуществления, когда L^3 представляет собой связь, то А представляет собой фрагмент гидантоина, описанный в данном документе.

[0338] В контексте данного документа фрагмент гидантоина относится к:

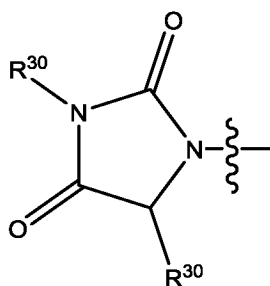


или

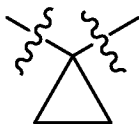


где R^{30} является таким, как определено выше.

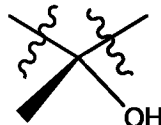
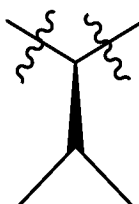
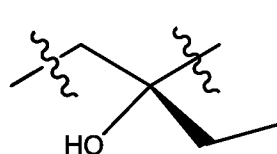
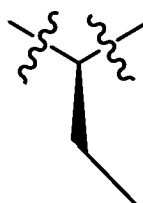
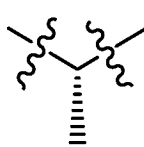
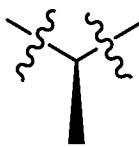
[0339] В некоторых вариантах осуществления фрагмент гидантоина представляет собой:



[0340] В некоторых вариантах осуществления L^3 не представляет собой:

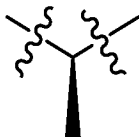


[0341] В некоторых вариантах осуществления L^3 выбран из группы, состоящей из:



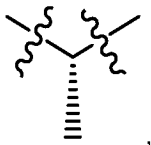
и их необязательно замещенных версий, где 1–5, предпочтительно 1–3 атомов водорода необязательно замещены, при этом предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1 – C_6 алкокси; необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор, где левые стороны фрагментов присоединены к L^2 .

[0342] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой:



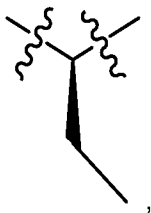
где левая сторона присоединена к А.

[0343] В некоторых менее предпочтительных вариантах осуществления L^3 представляет собой:



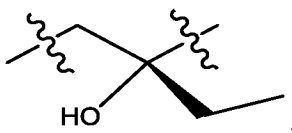
где левая сторона присоединена к А.

5 [0344] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой:



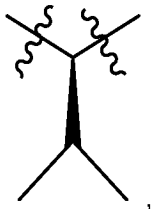
где левая сторона присоединена к А.

[0345] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой:



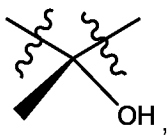
10 где левая сторона присоединена к А.

[0346] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой:



где левая сторона присоединена к А.

[0347] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой:



15

где левая сторона присоединена к А.

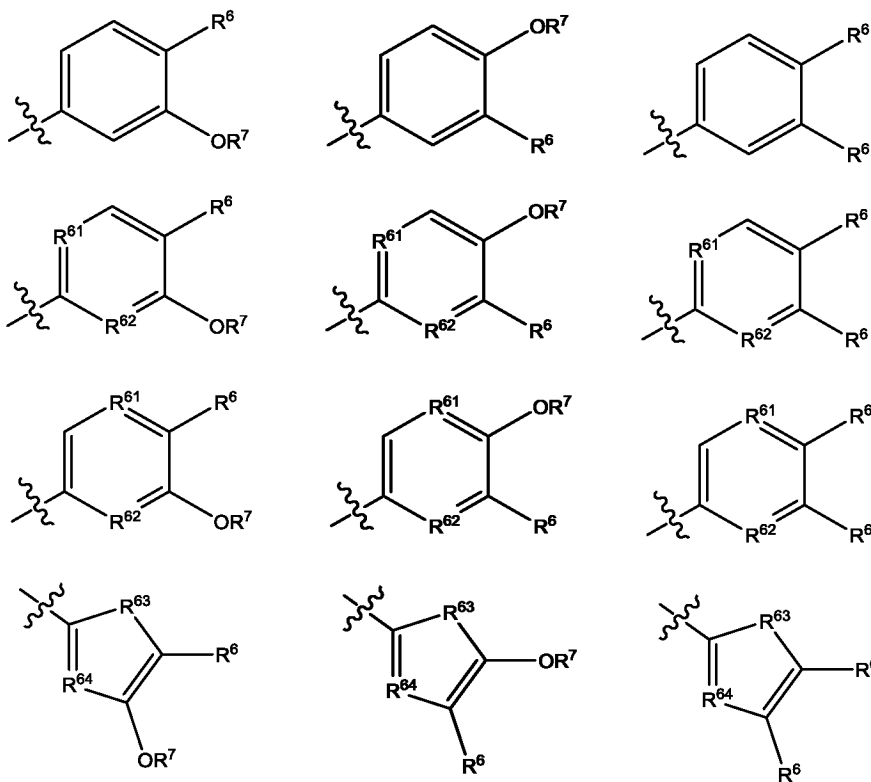
[0348] В некоторых вариантах осуществления L^3 необязательно замещен, при этом 1–5 атомов водорода необязательно замещены. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой необязательно замещенную версию, при этом 1–3 атома водорода необязательно замещены. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, C_1 - C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, C_1 - C_6 алкил,

20

необязательно замещенный C_1-C_6 алкокси. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, необязательно замещенный C_1-C_6 алкокси. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, галоген. В некоторых вариантах осуществления заместители включают фтор.

[0349] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой необязательно замещенный 6–10-членный арил. В некоторых вариантах осуществления В представляет собой необязательно замещенный 5–15-членный гетероарил. В некоторых вариантах осуществления В представляет собой необязательно замещенный 4–15-членный гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления В представляет собой необязательно замещенный 3–15-членный циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления, если В представляет собой 3–15-членный циклоалкил, то В представляет собой по меньшей мере 4-членный циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления, если В представляет собой 3–15-членный циклоалкил, то В представляет собой 5–10-членный циклоалкил.

[0350] В некоторых вариантах осуществления В выбран из группы, состоящей из:



где

каждый R^6 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 алкокси или галоген;

каждый R^7 независимо представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный C_2-C_6 алкенил, необязательно замещенный C_2-C_6 алкинил, необязательно замещенный C_3-C_8 циклоалкил, необязательно замещенный C_3-C_{10} гетероарил, необязательно замещенный C_3-C_{10} гетероциклил или необязательно замещенный C_6-C_{10} арил, такой как необязательно замещенный фенил; или

R^6 и R^7 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо; или 2 группы R^6 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо;

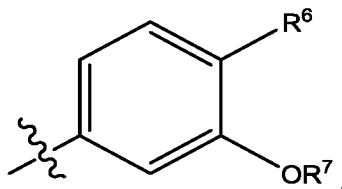
каждый R^{61} и R^{62} независимо представляет собой N или CH при условии, что по меньшей мере один из R^{61} и R^{62} представляет собой N,

каждый R^{63} независимо представляет собой NR^{90} , S или O;

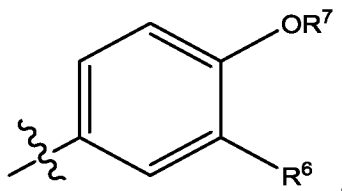
каждый R^{64} независимо представляет собой N или CH; и

каждый R^{90} независимо представляет собой водород или R^7 , и при этом один или более атомов водорода на 5- и 6-членном арильном или гетероарильном кольцах, проиллюстрированных выше, могут быть дополнительно необязательно замещены.

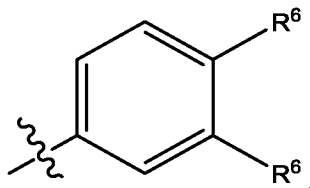
[0351] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой:



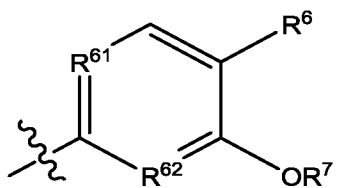
[0352] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой:



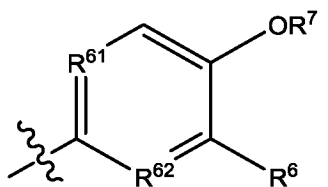
[0353] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой:



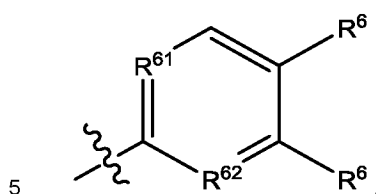
[0354] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой:



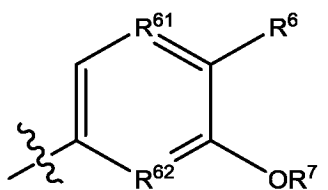
[0355] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой:



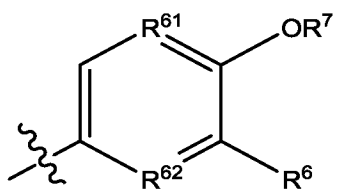
[0356] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой:



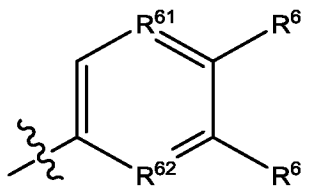
[0357] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой:



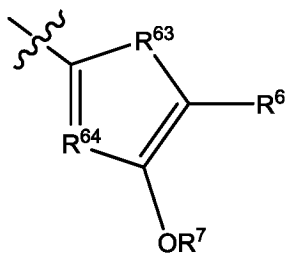
[0358] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой:



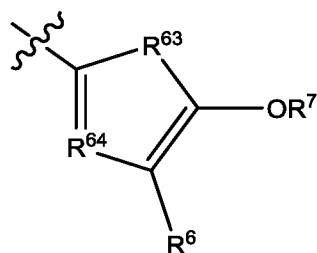
10 [0359] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой:



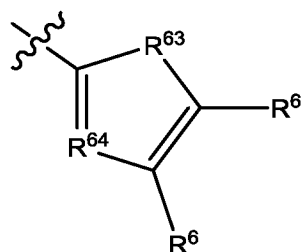
[0360] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой:



[0361] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой:



[0362] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой:



5

[0363] В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкокси. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой галоген.

- 10 [0364] В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенный C_2-C_6 алкенил. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенный C_2-C_6 алкинил. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой
- 15 необязательно замещенный C_3-C_8 циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенный C_3-C_{10} гетероарил. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенный C_3-C_{10} гетероциклил. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенный C_6-C_{10} арил.
- 20 В некоторых вариантах осуществления необязательно замещенный C_6-C_{10} арил представляет собой необязательно замещенный фенил.

[0365] В некоторых вариантах осуществления R^6 и R^7 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное

кольцо. В некоторых вариантах осуществления 2 группы R^6 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо.

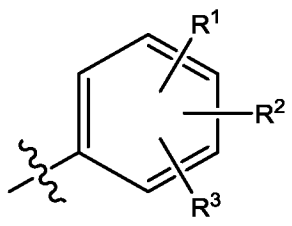
[0366] В некоторых вариантах осуществления один из R^{61} и R^{62} представляет собой N. В некоторых вариантах осуществления оба R^{61} и R^{62} представляют собой N.

[0367] В некоторых вариантах осуществления R^{63} представляет собой NR^{90} . В некоторых вариантах осуществления R^{63} представляет собой S. В некоторых вариантах осуществления R^{63} представляет собой O.

[0368] В некоторых вариантах осуществления R^{64} представляет собой N. В некоторых вариантах осуществления R^{64} представляет собой CH.

[0369] В некоторых вариантах осуществления R^{90} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{90} представляет собой R^7 .

[0370] В некоторых вариантах осуществления B представляет собой

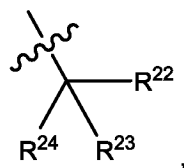


где

каждый R^1 – R^3 независимо представляет собой H, галоген, необязательно замещенный C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный 4–15-членный гетероцикл или $-OR^{20}$ или, если два из R^1 – R^3 находятся на смежных атомах углерода, то два таких заместителя вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо;

R^{20} представляет собой $(CH_2)_w-R^{21}$, необязательно замещенный C_3 – C_6 циклоалкил или необязательно замещенный C_1 – C_6 алкил;

R^{21} представляет собой необязательно замещенный C_1 – C_{10} алкил, необязательно замещенный C_2 – C_{10} алкенил, необязательно замещенный C_2 – C_{10} алкинил, необязательно замещенный C_3 – C_6 циклоалкил, необязательно замещенный фенил, необязательно замещенный 5–15-членный гетероарил, необязательно замещенный 4–15-членный гетероцикл или



где каждый $R^{22}-R^{24}$ независимо представляет собой необязательно замещенный C_1-C_3 алкил или гидроксильный или два из $R^{22}-R^{24}$ вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 3–7-членное, предпочтительно 3–5-членное или 5–7-членное кольцо; и

5 w равно 1, 2, 3, 4 или 5.

[0371] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой галоген. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой необязательно замещенный 4–15-членный гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой $-OR^{20}$.

[0372] В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой галоген. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой необязательно замещенный 4–15-членный гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой $-OR^{20}$.

[0373] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой галоген. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенный 4–15-членный гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой $-OR^{20}$.

[0374] В некоторых вариантах осуществления, если два из R^1-R^3 находятся на смежных атомах углерода, то два таких заместителя вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо.

[0375] В некоторых вариантах осуществления каждый R^1-R^3 независимо представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления каждый R^1-R^3 независимо представляет собой F. В некоторых вариантах осуществления каждый R^1-R^3 независимо представляет собой Cl. В некоторых вариантах осуществления каждый R^1-R^3 независимо представляет собой C_1-C_3 алкил. В

некоторых вариантах осуществления каждый R^1-R^3 независимо представляет собой OR^{20} .

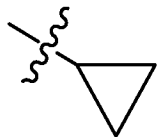
[0376] В некоторых вариантах осуществления R^{20} представляет собой $(CH_2)_w-R^{21}$. В некоторых вариантах осуществления R^{20} представляет собой
 5 обязательно замещенный C_3-C_6 циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления R^{20} представляет собой обязательно замещенный C_1-C_6 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{20} представляет собой C_1-C_6 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{20} представляет собой C_1-C_6 алкил, замещенный 1–3 атомами фтора. В некоторых вариантах осуществления R^{20}
 10 представляет собой C_1-C_6 алкил, замещенный 1–2, предпочтительно одним гидроксидом.

[0377] В некоторых вариантах осуществления R^{20} представляет собой CH_2-R^{21} . В некоторых вариантах осуществления R^{20} представляет собой метил, обязательно замещенный 2 или 3 атомами фтора. В некоторых вариантах
 15 осуществления R^{20} представляет собой C_3-C_6 циклоалкил.

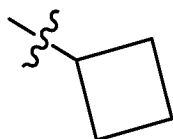
[0378] В некоторых вариантах осуществления w равно 1. В некоторых вариантах осуществления w равно 2. В некоторых вариантах осуществления w равно 3. В некоторых вариантах осуществления w равно 4. В некоторых вариантах осуществления w равно 5.

[0379] В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой C_1-C_{10} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой разветвленный C_3-C_{10} алкил, обязательно замещенный одним или более гидроксидом или атомами фтора. В некоторых вариантах осуществления R^{21}
 20 представляет собой изопропил или трет-бутил, обязательно замещенный одним или более гидроксидом или атомами фтора.

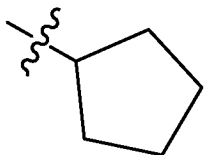
[0380] В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой



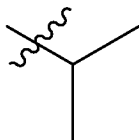
[0381] В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой



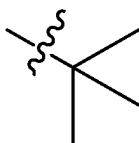
[0382] В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой



[0383] В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой

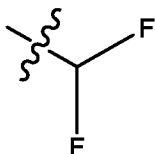


[0384] В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой

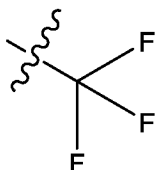


5

[0385] В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой

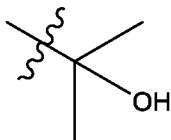


[0386] В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой



10

[0387] В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой



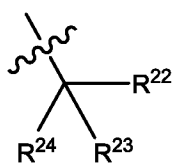
[0388] В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой C_3 - C_6 циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой C_3 -

15 C_6 циклоалкил, замещенный 1–3, предпочтительно 1–2 заместителями. В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой циклопропил. В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой циклопропил, замещенный 1–3, предпочтительно 1–2 заместителями. В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой циклобутил. В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой циклобутил, замещенный 1–3, предпочтительно 1–2 заместителями. В некоторых вариантах осуществления R^{21}

20

представляет собой циклопентил. В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой циклопентил, замещенный 1–3, предпочтительно 1–2 заместителями. В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой необязательно замещенный C_1 – C_{10} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой необязательно замещенный C_2 – C_{10} алкенил. В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой необязательно замещенный C_2 – C_{10} алкинил. В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой необязательно замещенный 4–15-членный гетероциклил.

10 **[0389]** В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой



[0390] В некоторых вариантах осуществления R^{22} представляет собой необязательно замещенный C_1 – C_3 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{22} представляет собой гидрокси. В некоторых вариантах осуществления R^{22} представляет собой H.

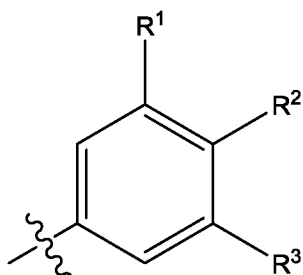
[0391] В некоторых вариантах осуществления R^{23} представляет собой необязательно замещенный C_1 – C_3 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{23} представляет собой гидрокси.

[0392] В некоторых вариантах осуществления R^{24} представляет собой необязательно замещенный C_1 – C_3 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{24} представляет собой гидрокси.

[0393] В некоторых вариантах осуществления каждый R^{22} – R^{24} независимо представляет собой необязательно замещенный C_1 – C_3 алкил. В некоторых вариантах осуществления каждый R^{22} – R^{24} независимо представляет собой гидрокси.

[0394] В некоторых вариантах осуществления два из R^{22} – R^{24} вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 3–7-членное кольцо. В некоторых вариантах осуществления два из R^{22} – R^{24} вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5–7-членное кольцо. В некоторых вариантах осуществления кольцо представляет собой необязательно замещенный циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления кольцо представляет собой необязательно замещенный гетероциклил.

[0395] В некоторых вариантах осуществления B представляет собой



где

R^1 , R^2 и R^3 являются такими, как определено выше; или

R^1 и R^2 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо; или

R^2 и R^3 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо.

[0396] В некоторых вариантах осуществления R^1 и R^2 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^2 и R^3 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо.

[0397] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой H.

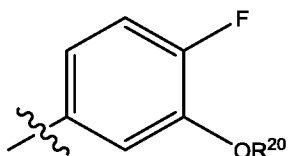
[0398] В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой F. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой H.

[0399] В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой H или -OR²⁰.

[0400] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой F или H.

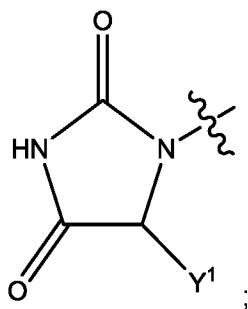
[0401] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой -OR²⁰, где R²⁰ является таким, как определено выше.

[0402] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой:



и где R²⁰ является таким, как определено выше.

[0403] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено соединение, где А представляет собой:

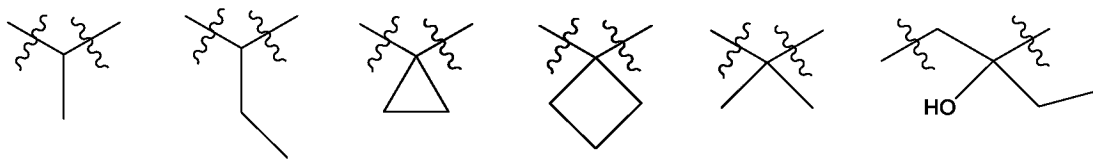


Y^1 представляет собой H или C_1 - C_3 алкил;

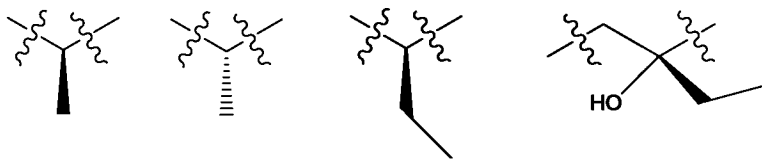
L^1 представляет собой необязательно замещенный C_3 - C_{10} алкилен, дополнительно при этом по меньшей мере два геминальных атома водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены циклопропано или циклобутано; необязательно замещенный C_3 - C_{10} алкенилен, необязательно замещенный C_3 - C_{10} гетероалкилен, необязательно замещенный C_3 - C_{10} гетероалкенилен или $-L^{11}-L^{12}-L^{13}-$; где L^{11} присоединен к A и L^{11} представляет собой O, S, NR, C_1 - C_2 алкилен, C_2 алкенилен, C_2 гетероалкилен, C_3 гетероалкенилен; L^{12} представляет собой арилен или гетероариллен; L^{13} представляет собой связь или необязательно замещенный C_1 - C_5 алкилен; и R представляет собой H или C_1 - C_3 алкил;

L^2 представляет собой $-S(O)_2NH-$, где атом серы присоединен к L^1 , или $-NHS(O)_2-$, где атом азота присоединен к L^1 ;

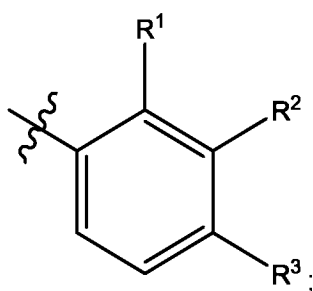
L^3 представляет собой связь или необязательно замещенный C_1 - C_6 алкилен, предпочтительно



более предпочтительно:



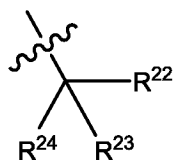
B представляет собой:



каждый R^1-R^3 независимо представляет собой H, F, Cl, C_1-C_3 алкил или OR^{20} ;

R^{20} представляет собой CH_2-R^{21} ; метил, необязательно замещенный 2 или 3 атомами фтора; C_3-C_6 циклоалкил; или C_1-C_6 алкил;

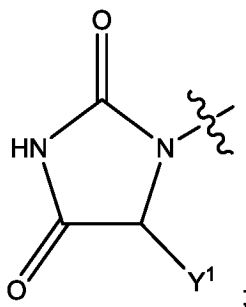
5 R^{21} представляет собой необязательно замещенный C_3-C_6 циклоалкил; необязательно замещенный C_6-C_{10} арил; необязательно замещенный 5–15-членный гетероарил; необязательно замещенный 4–15-членный гетероциклил; C_1-C_{10} алкил, предпочтительно разветвленный C_3-C_{10} алкил, более предпочтительно изопропил или трет-бутил, необязательно замещенный одним
10 или более гидроксильными или атомами фтора; C_3-C_6 циклоалкил, предпочтительно циклопропил, циклобутил, цикlopентил; или



где каждый $R^{22}-R^{24}$ независимо представляет собой необязательно замещенный C_1-C_3 алкил или гидроксил, или

15 два из $R^{22}-R^{24}$ вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 3–7-членное кольцо.

[0404] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено соединение, где A представляет собой



20 Y^1 представляет собой H или C_1-C_3 алкил;

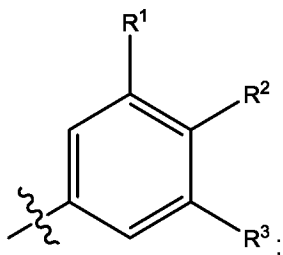
L^1 представляет собой необязательно замещенный C_3-C_{10} алкилен, дополнительно при этом по меньшей мере два гомеональных атома водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены циклопропаном или циклобутаном; необязательно замещенный C_3-C_{10}
25 алкенилен, необязательно замещенный C_3-C_{10} гетероалкенилен, необязательно замещенный C_3-C_{10} гетероалкенилен или $-L^{11}-L^{12}-L^{13}-$, где L^{11} присоединен к A и L^{11} представляет собой O, S, NR, C_1-C_2 алкенилен, C_2 алкенилен, C_2 гетероалкенилен, C_3 гетероалкенилен, L^{12} представляет собой арилен или гетероарил, L^{13}

представляет собой связь или необязательно замещенный C_1-C_5 алкилен, и R представляет собой H или C_1-C_3 алкил;

L^2 представляет собой $-S(O)_2NH-$, где атом серы присоединен к L^1 , или $-NHS(O)_2-$, где атом азота присоединен к L^1 ;

5 L^3 представляет собой связь или необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен;

B представляет собой



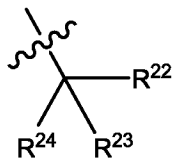
каждый R^1-R^3 независимо представляет собой H, F, Cl, C_1-C_3 алкил или -
10 OR^{20} ; или

R^1 и R^2 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо; или

R^2 и R^3 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо;

15 R^{20} представляет собой CH_2-R^{21} ; метил, необязательно замещенный 2 или 3 атомами фтора; C_3-C_6 циклоалкил; или C_1-C_6 алкил;

R^{21} представляет собой необязательно замещенный C_3-C_6 циклоалкил; необязательно замещенный C_6-C_{10} арил; необязательно замещенный 5–15-членный гетероарил; необязательно замещенный 4–15-членный гетероциклил;
20 C_1-C_{10} алкил, предпочтительно разветвленный C_3-C_{10} алкил, необязательно замещенный одним или более гидроксидными или атомами фтора; C_3-C_6 циклоалкил; или



где каждый $R^{22}-R^{24}$ независимо представляет собой необязательно замещенный
25 C_1-C_3 алкил или гидроксидный; или

два из $R^{22}-R^{24}$ вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 3–7-членное кольцо.

[0405] В некоторых вариантах осуществления Y^1 представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления Y^1 представляет собой C_1-C_3 алкил.

[0406] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой необязательно замещенный C_3 - C_{10} алкилен, дополнительно при этом по меньшей мере два геминальных атома водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены циклопропано или циклобутано. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой необязательно замещенный C_3 - C_{10} алкенилен. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой необязательно замещенный C_3 - C_{10} гетероалкилен. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой необязательно замещенный C_3 - C_{10} гетероалкенилен.

[0407] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой $-L^{11}-L^{12}-L^{13}-$, где L^{11} присоединен к А. В некоторых вариантах осуществления L^{11} представляет собой О. В некоторых вариантах осуществления L^{11} представляет собой S. В некоторых вариантах осуществления L^{11} представляет собой C_1 - C_2 алкилен. В некоторых вариантах осуществления L^{11} представляет собой C_2 алкенилен. В некоторых вариантах осуществления L^{11} представляет собой C_2 гетероалкилен. В некоторых вариантах осуществления L^{11} представляет собой C_3 гетероалкенилен.

[0408] В некоторых вариантах осуществления L^{11} представляет собой NR. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой C_1 - C_3 алкил.

[0409] В некоторых вариантах осуществления L^{12} представляет собой арилен. В некоторых вариантах осуществления L^{12} представляет собой гетероарил.

[0410] В некоторых вариантах осуществления L^{13} представляет собой связь. В некоторых вариантах осуществления L^{13} представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_5 алкилен.

[0411] В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой $-S(O)_2NH-$, где атом серы присоединен к L^1 , или $-NHS(O)_2-$, где атом азота присоединен к L^1 .

[0412] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой связь. В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_6 алкилен.

[0413] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой F. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой Cl. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой C_1 - C_3 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой $-OR^{20}$.

[0414] В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой Н. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой F. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой Cl. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой C_1 - C_3 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой $-OR^{20}$.

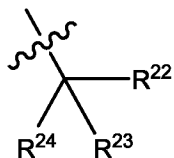
[0415] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой Н. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой F. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой Cl. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой C_1 - C_3 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой $-OR^{20}$.

[0416] В некоторых вариантах осуществления R^1 и R^2 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^2 и R^3 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо.

[0417] В некоторых вариантах осуществления R^{20} представляет собой CH_2-R^{21} . В некоторых вариантах осуществления R^{20} представляет собой метил, необязательно замещенный 2 или 3 атомами фтора. В некоторых вариантах осуществления R^{20} представляет собой C_3 - C_6 циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления R^{20} представляет собой C_1 - C_6 алкил.

[0418] В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой C_1 - C_{10} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой разветвленный C_3 - C_{10} алкил, необязательно замещенный одним или более гидроксидными или атомами фтора. В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой C_3 - C_6 циклоалкил.

[0419] В некоторых вариантах осуществления R^{21} представляет собой



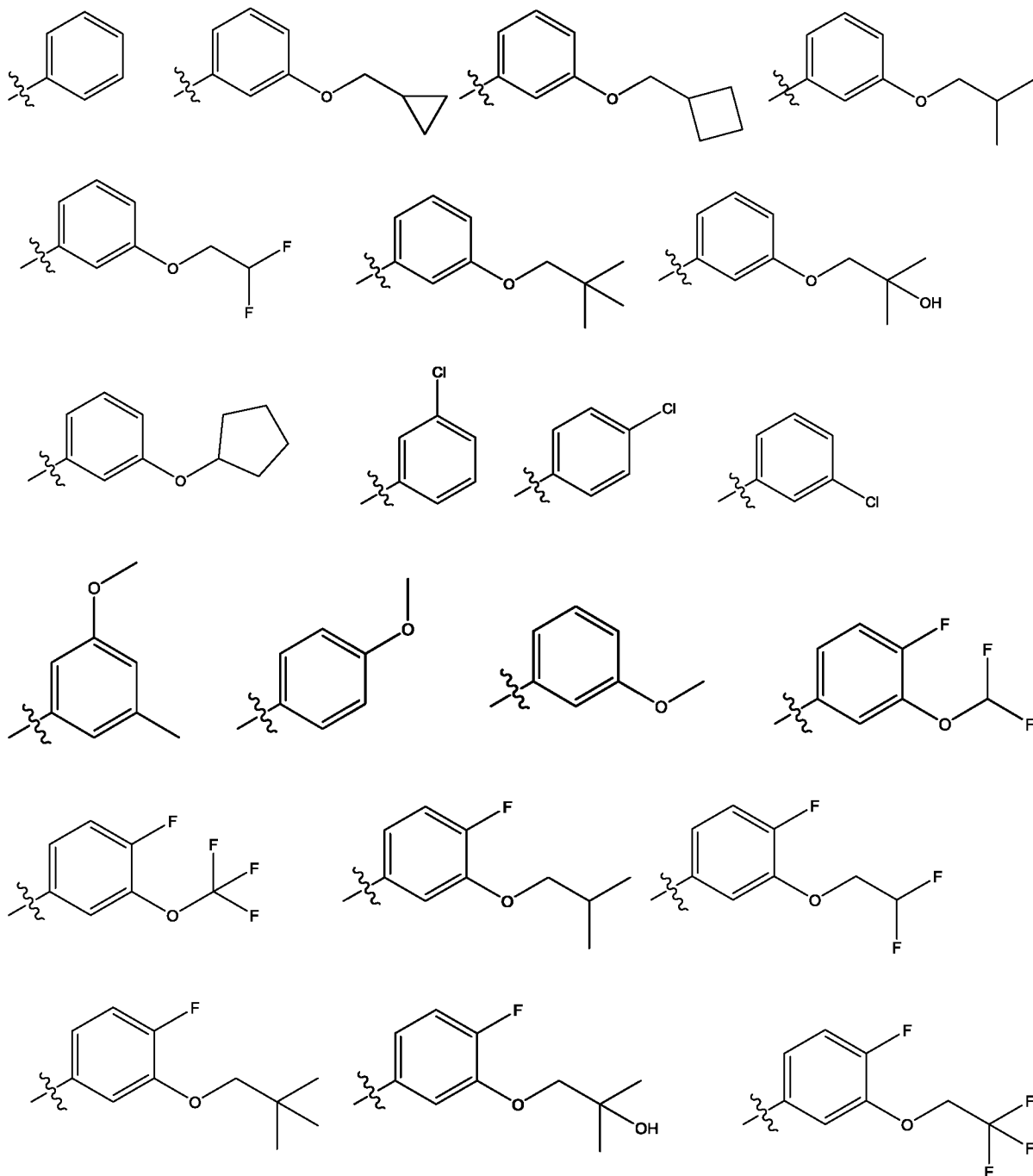
[0420] В некоторых вариантах осуществления R^{22} представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_3 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{22} представляет собой гидроксидный.

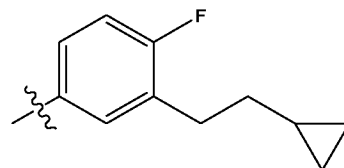
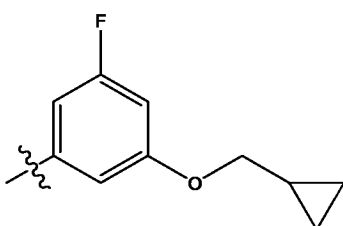
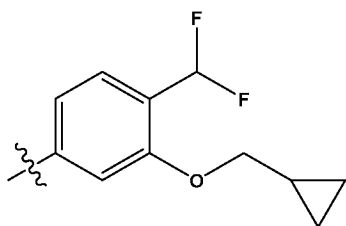
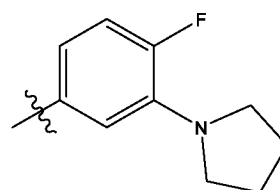
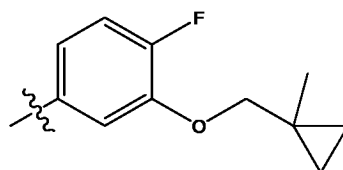
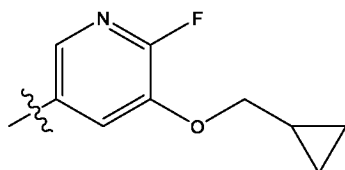
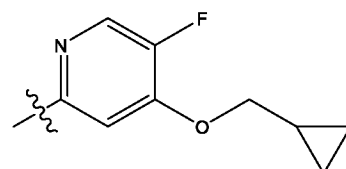
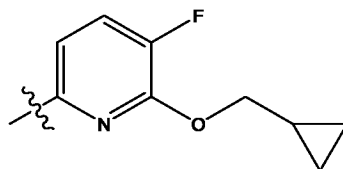
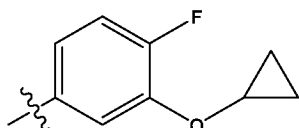
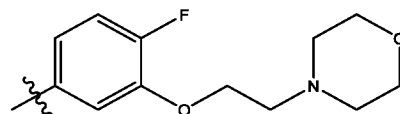
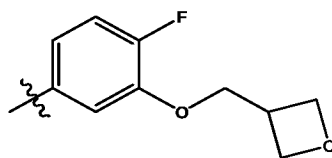
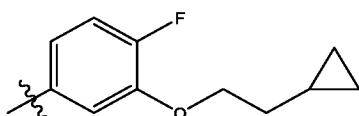
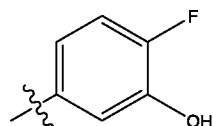
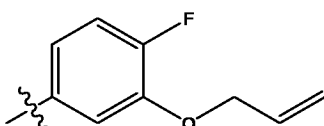
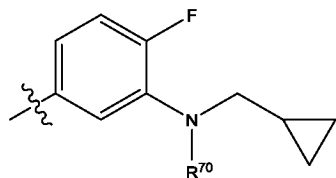
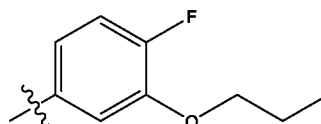
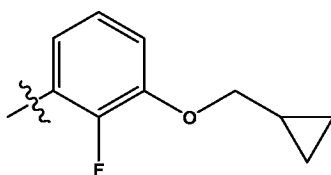
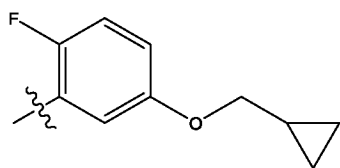
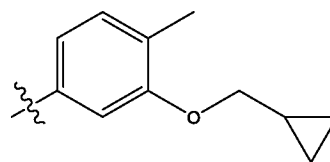
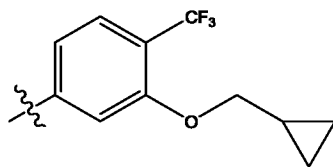
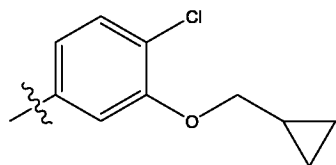
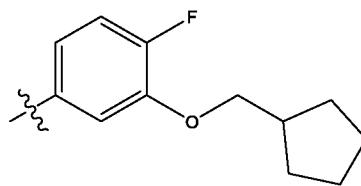
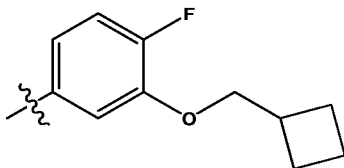
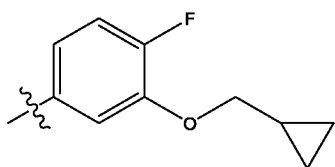
[0421] В некоторых вариантах осуществления R^{23} представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_3 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{23} представляет собой гидроксидный.

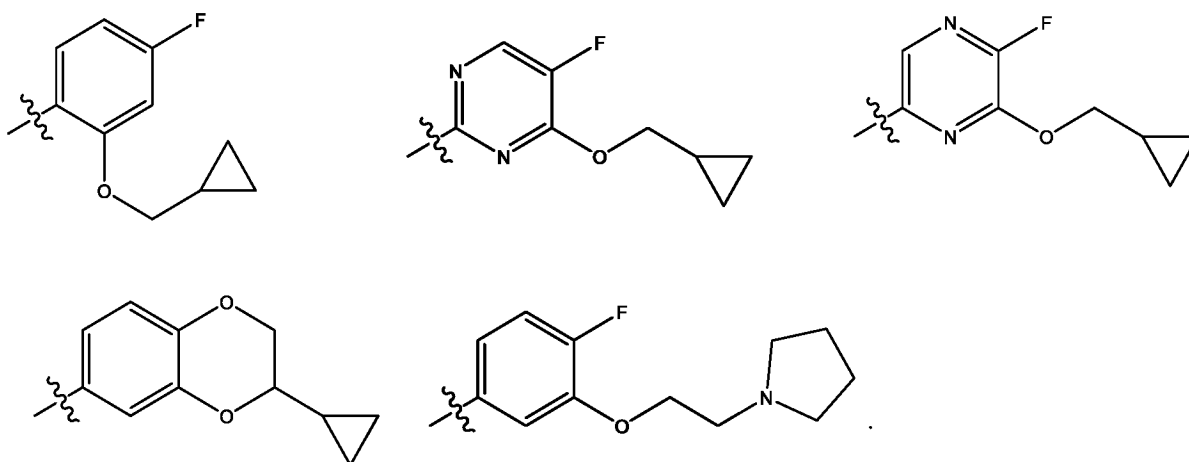
[0422] В некоторых вариантах осуществления R^{24} представляет собой необязательно замещенный C_1 - C_3 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{24} представляет собой гидроксид.

[0423] В некоторых вариантах осуществления два из R^{22} - R^{24} вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5-7-членное кольцо.

[0424] В некоторых вариантах осуществления В выбран из группы, состоящей из:







В некоторых вариантах осуществления алкокси-группа дополнительно замещена, причем 1–5, предпочтительно 1–3 атомов водорода замещены, при этом

5 предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1 – C_6 алкокси; необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, C_1 – C_6 алкил, замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор. В

10 некоторых вариантах осуществления заместители включают без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, замещенный C_1 – C_6 алкокси. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, один или более галогенов. В некоторых вариантах осуществления

15 заместители включают один или более атомов фтора. В некоторых вариантах осуществления кольцевой фрагмент, такой как циклопропильная группа, дополнительно замещен 1–3 галогенами, предпочтительно 1–2 галогенами. В некоторых вариантах осуществления кольцевой фрагмент, такой как циклопропильная группа, дополнительно замещен 1–2 галогенами. В некоторых

20 вариантах осуществления метиленовая группа между атомом кислорода и кольцевым фрагментом, таким как циклопропильная группа, замещен 1–2 C_1 – C_6 алкилами, предпочтительно метильными, этильными или пропильными группами. В некоторых вариантах осуществления метиленовая группа замещена метильными группами. В некоторых вариантах осуществления метиленовая

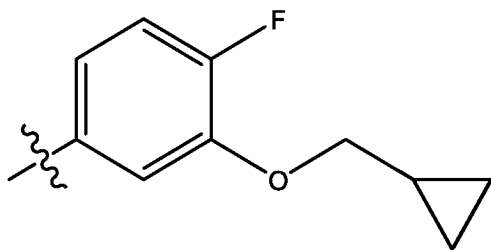
25 группа замещена этильными группами. В некоторых вариантах осуществления метиленовая группа замещена пропильными группами. В некоторых вариантах осуществления R^{70} представляет собой необязательно замещенный C_1 – C_{10} алкил.

[0425] В некоторых вариантах осуществления алкокси-группа дополнительно необязательно замещена, при этом 1–5 атомов водорода необязательно замещены. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси. В некоторых вариантах осуществления заместители включают, без ограничений, галоген. В некоторых вариантах осуществления заместители включают фтор.

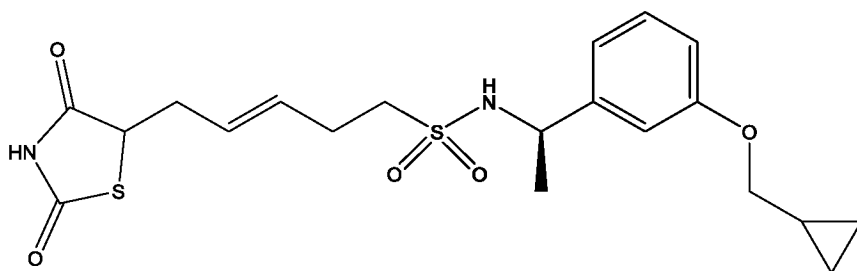
[0426] В некоторых вариантах осуществления кольцевой фрагмент, такой как циклопропильная группа, дополнительно необязательно замещен 1–3 галогенами. В некоторых вариантах осуществления кольцевой фрагмент, такой как циклопропильная группа, дополнительно необязательно замещен 1–2 галогенами.

[0427] В некоторых вариантах осуществления метиленовая группа между атомом кислорода и кольцевым фрагментом, таким как циклопропильная группа, необязательно замещен 1–2 C_1 – C_6 алкилом. В некоторых вариантах осуществления метиленовая группа необязательно замещена метильными группами. В некоторых вариантах осуществления метиленовая группа необязательно замещена этильными группами. В некоторых вариантах осуществления метиленовая группа необязательно замещена пропильными группами.

[0428] В некоторых вариантах осуществления В представляет собой:



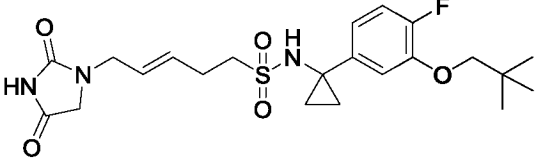
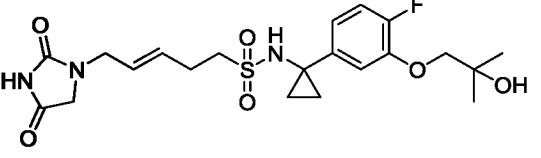
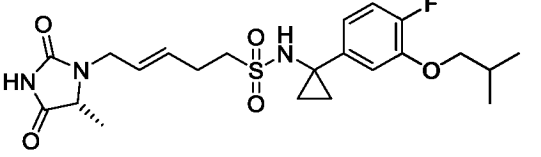
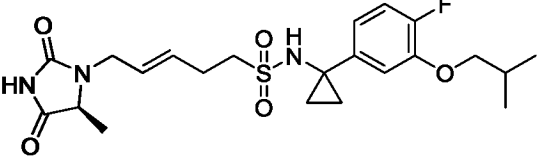
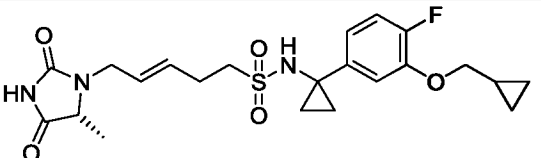
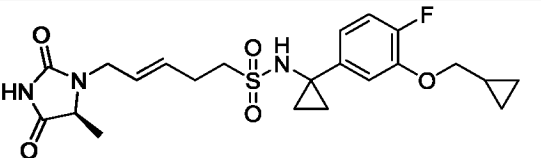
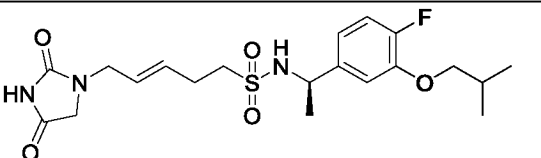
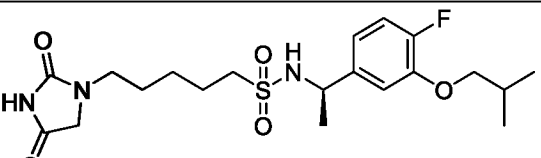
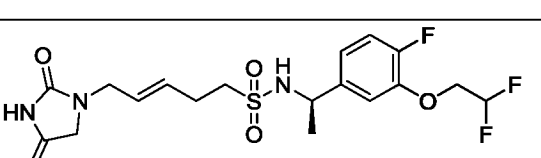
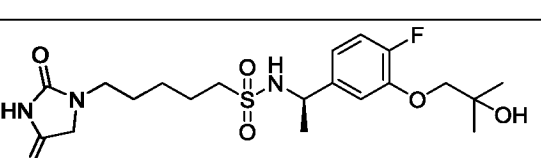
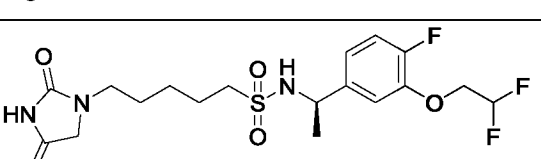
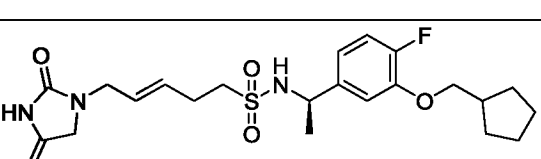
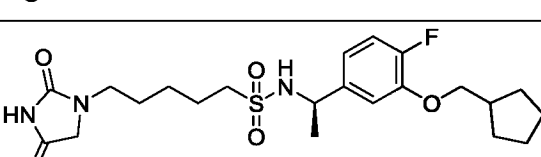
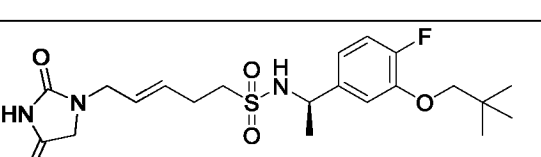
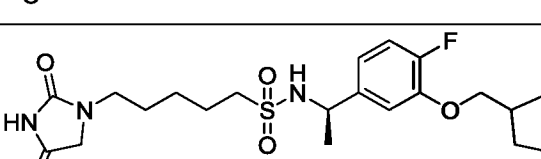
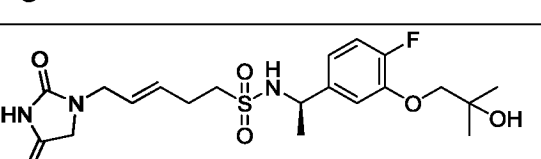
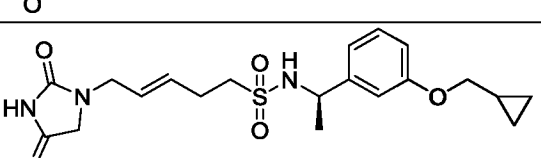
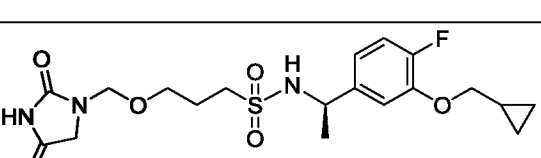
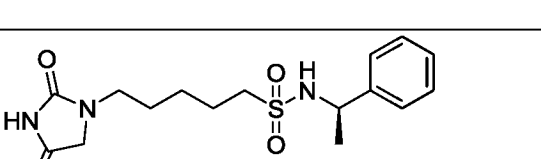
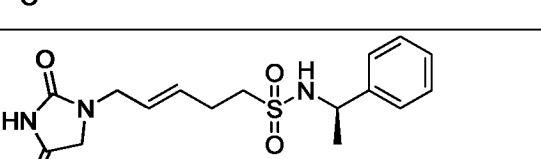
[0429] В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) не представляет собой

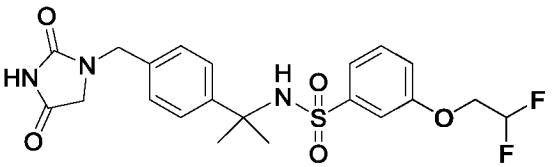
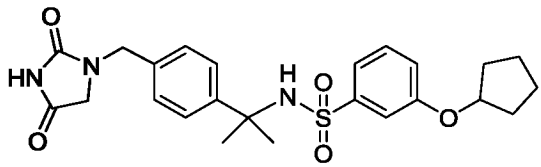
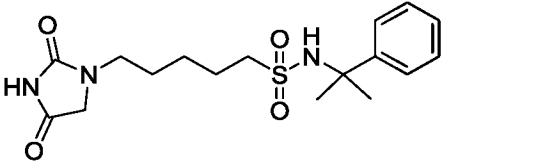
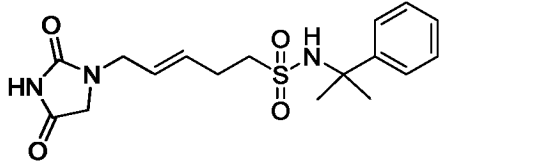
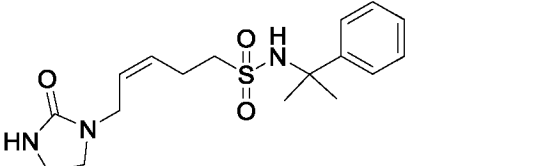
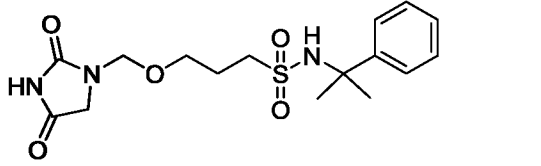
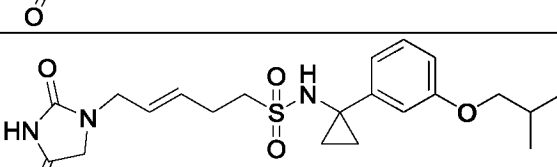
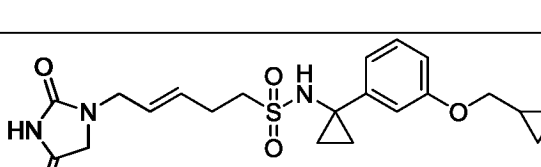
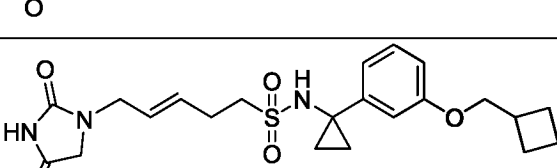
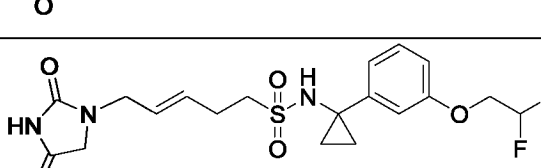
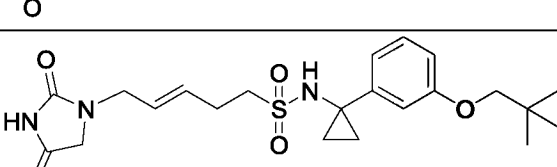
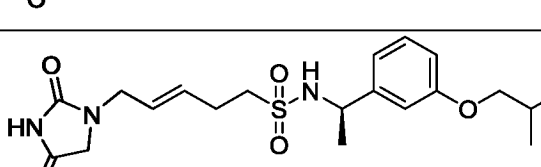
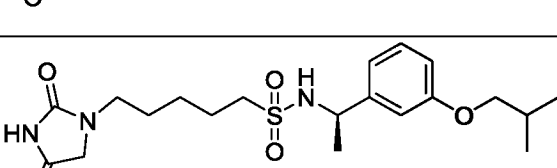
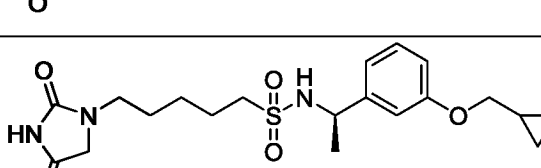
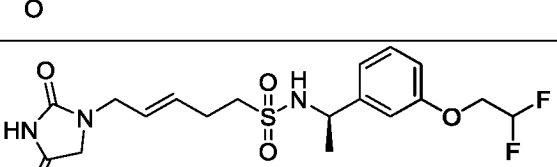
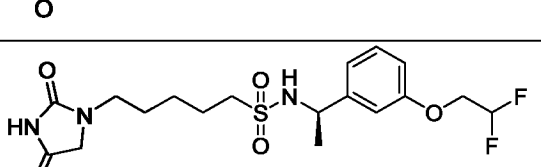
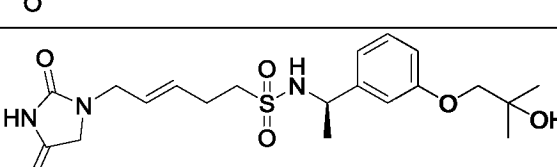
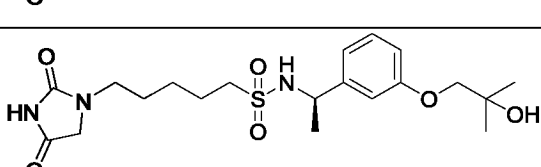


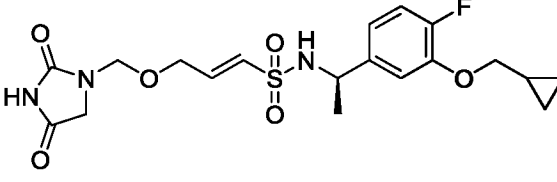
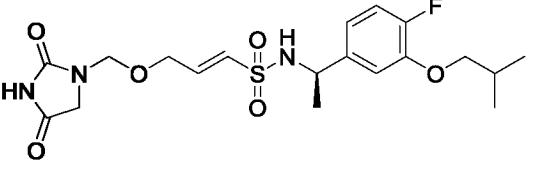
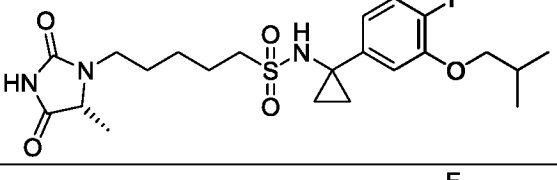
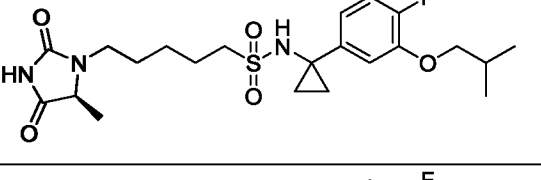
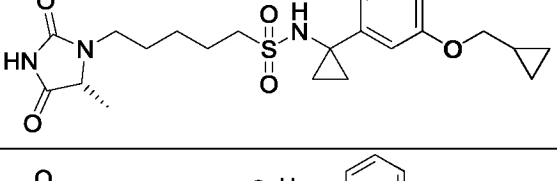
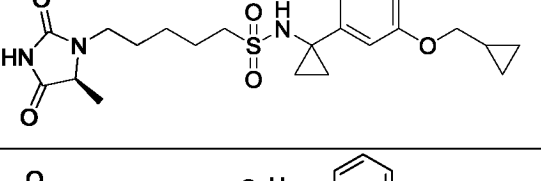
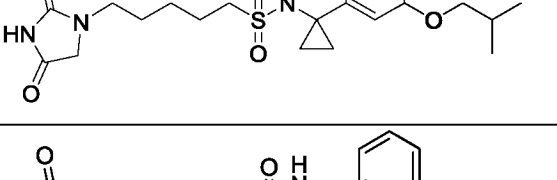
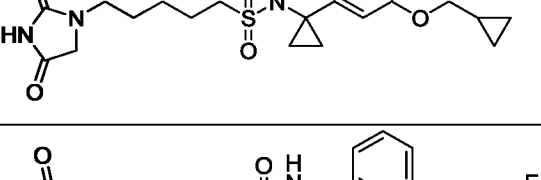
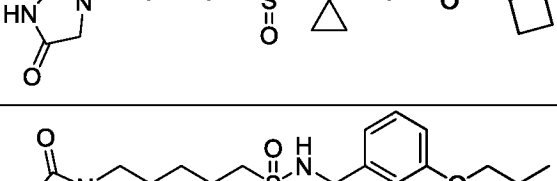
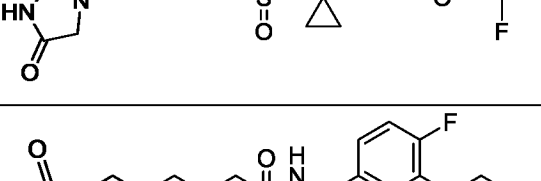
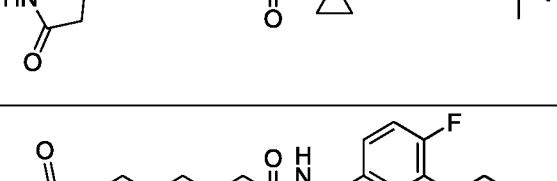
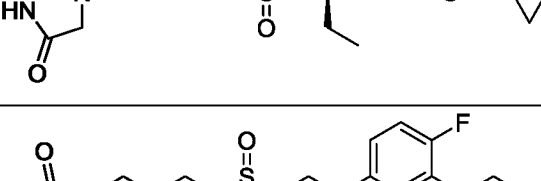
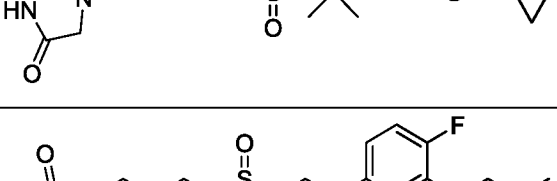
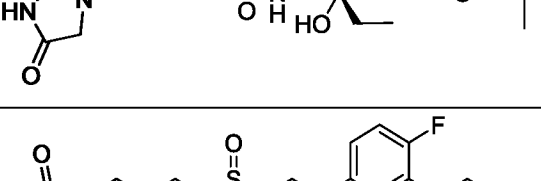
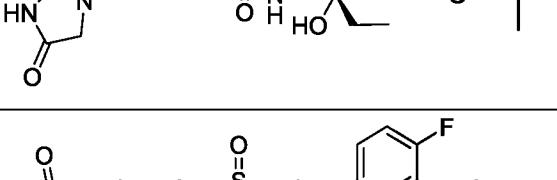
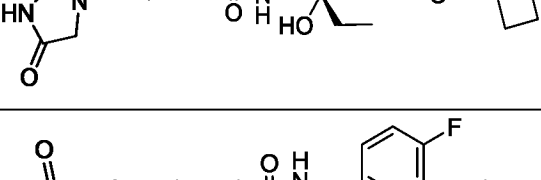
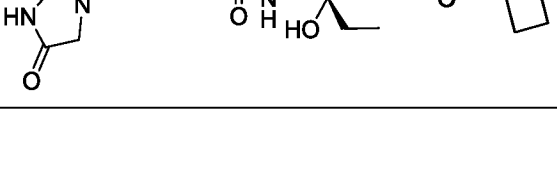
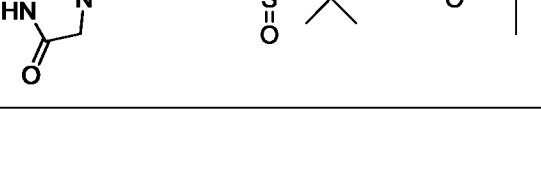
[0430] В этом изобретении также предложен стереохимически чистый энантиомер описанного в данном документе соединения, его таутомер, диастереоизомер или его фармацевтически приемлемая соль. Способы очистки и идентификации чистых энантиомеров известны в данной области техники и описаны в данном документе.

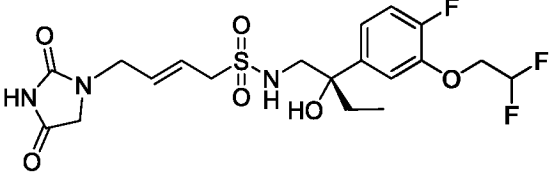
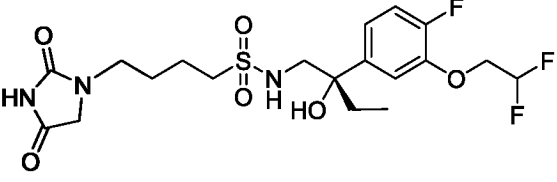
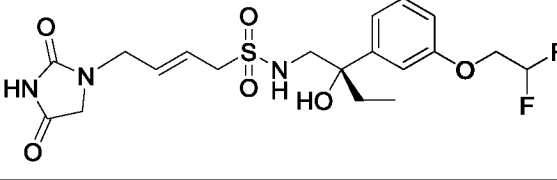
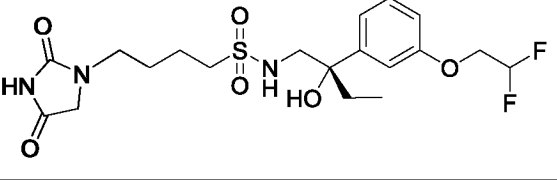
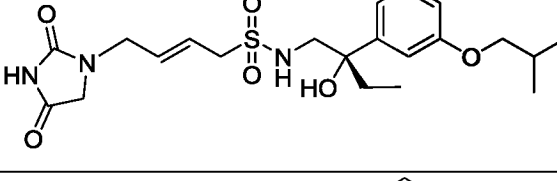
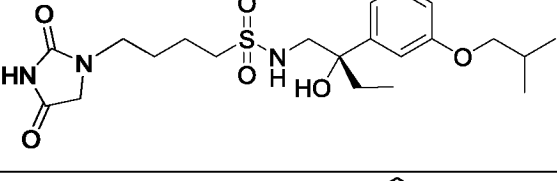
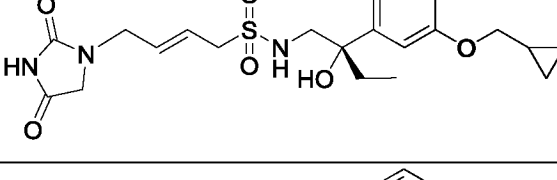
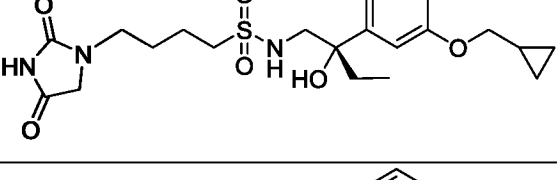
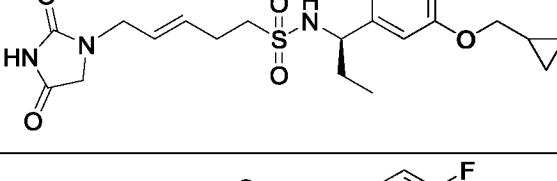
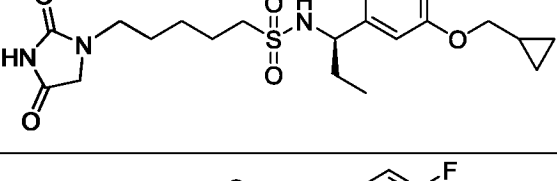
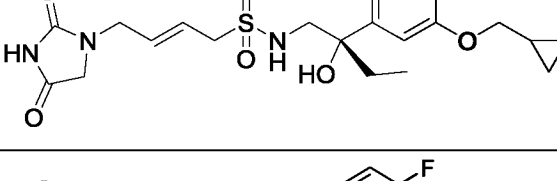
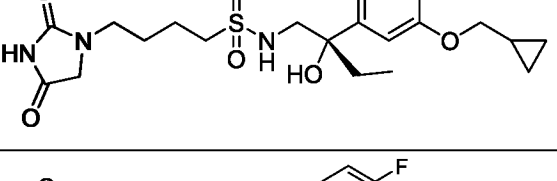
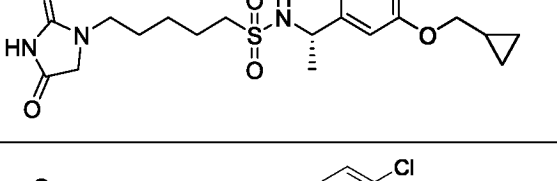
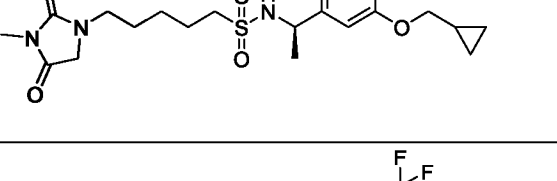
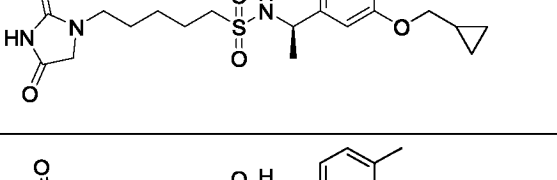
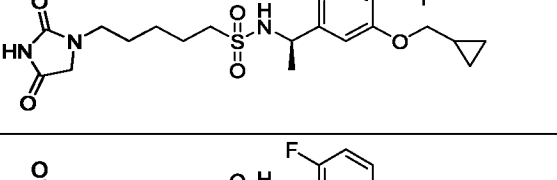
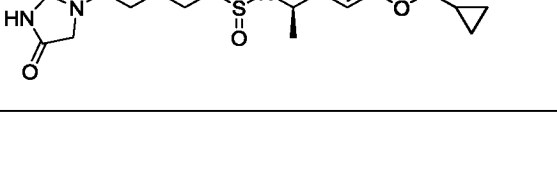
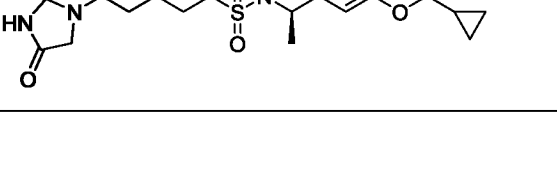
[0431] В некоторых вариантах осуществления ингибитор дУТФазы представляет собой соединение, выбранное из таблицы 1 ниже.

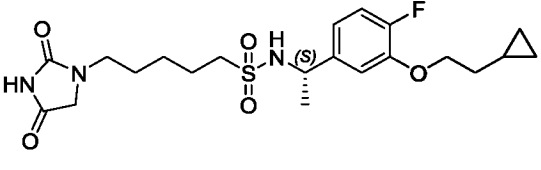
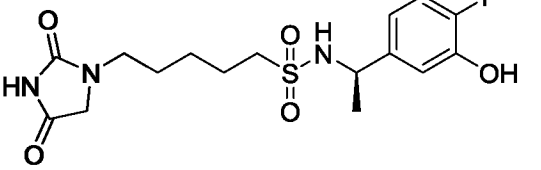
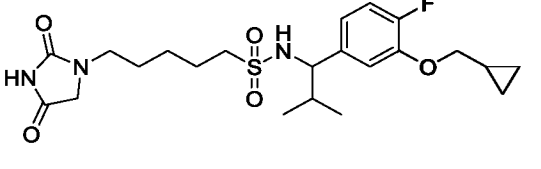
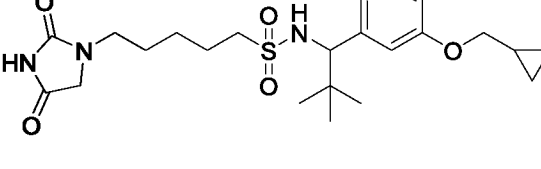
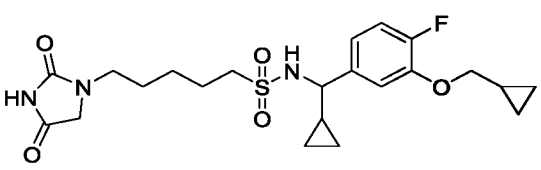
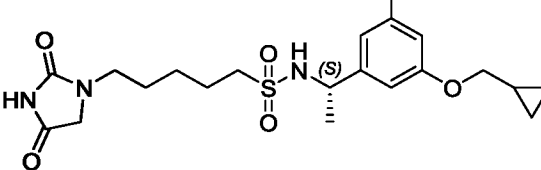
Таблица 1.

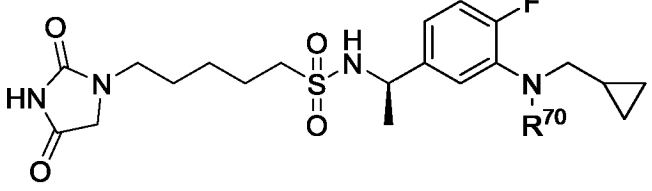
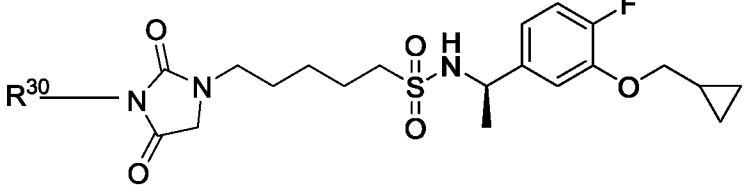
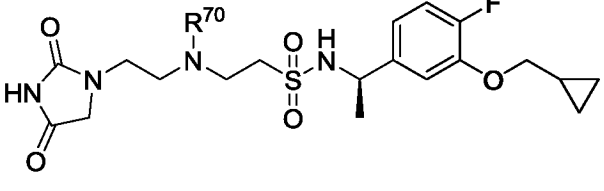
	
	
	
	
	
	
	
	
	

[0432] В некоторых вариантах осуществления ингибитор дУТФазы представляет собой соединение, выбранное из таблицы 2 ниже.

Таблица 2.

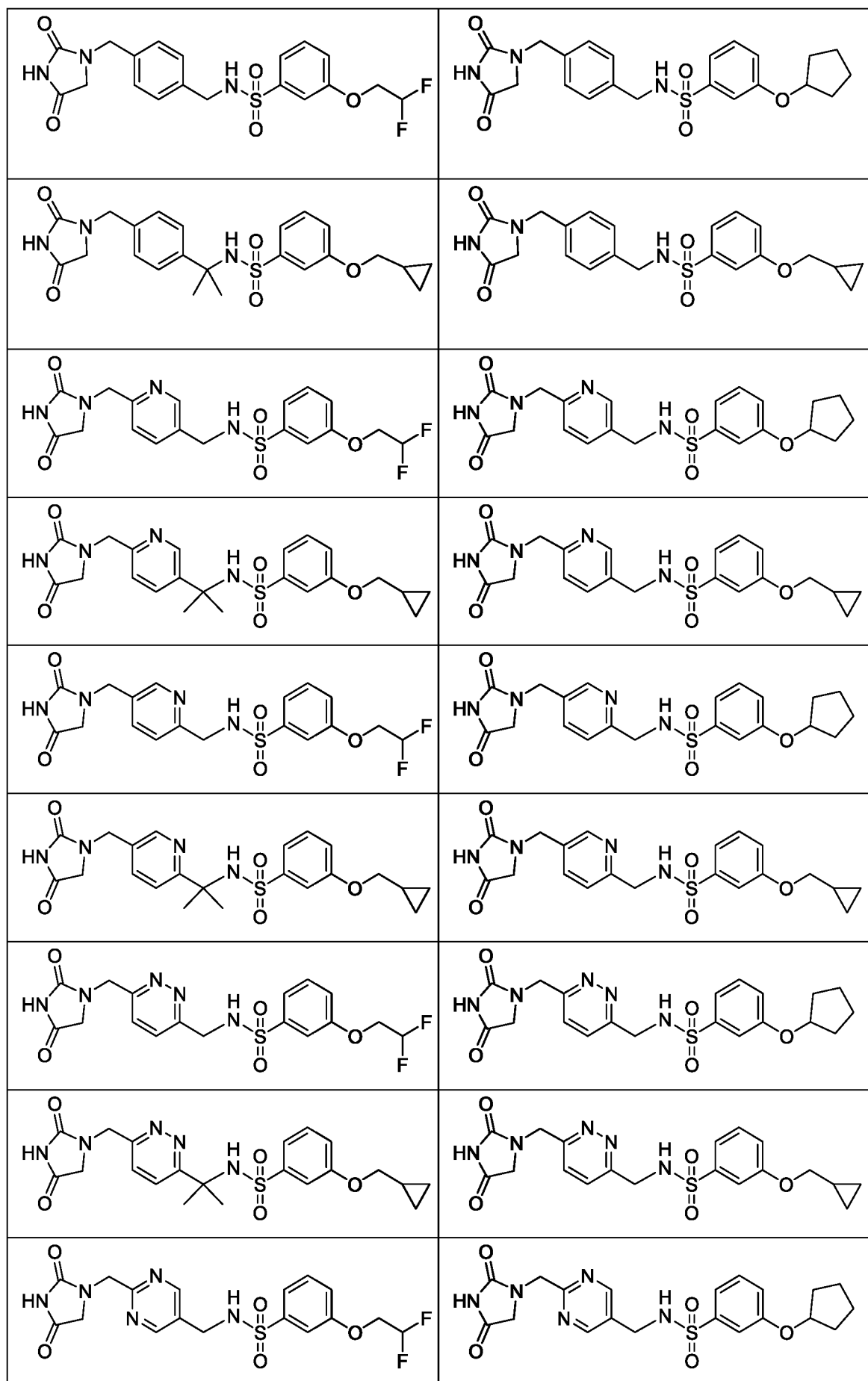
5

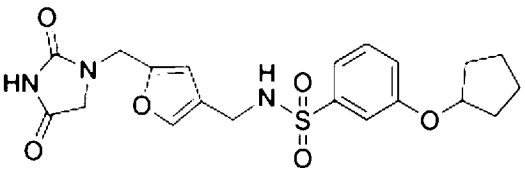
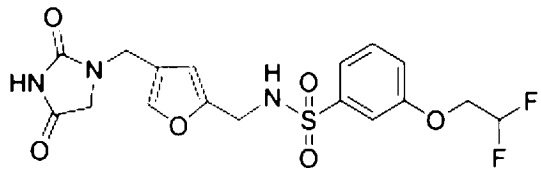
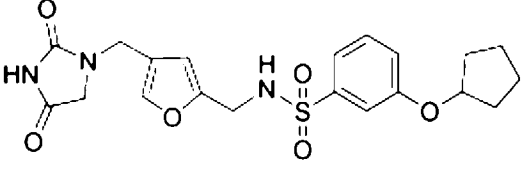
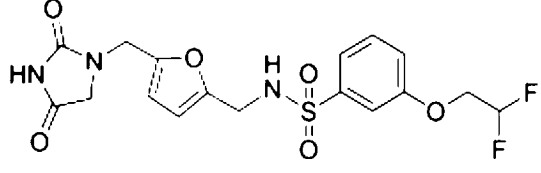
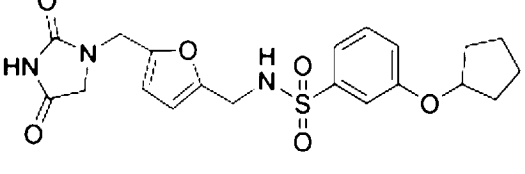
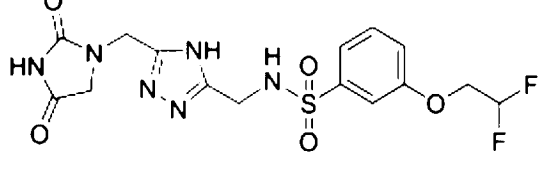
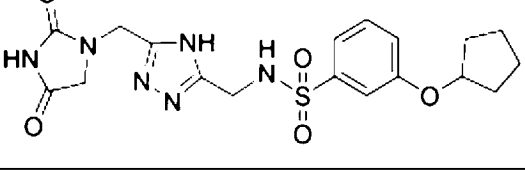
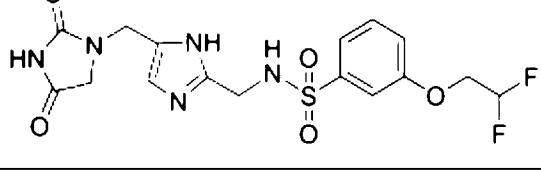
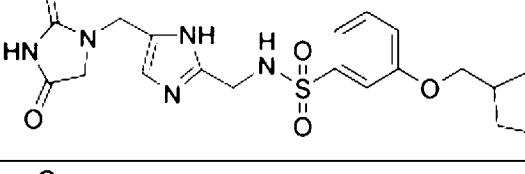
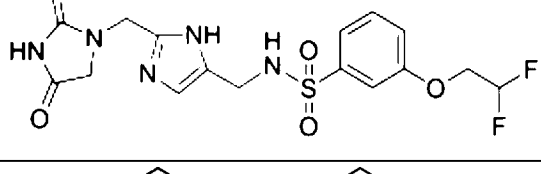
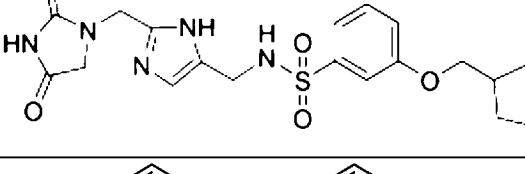
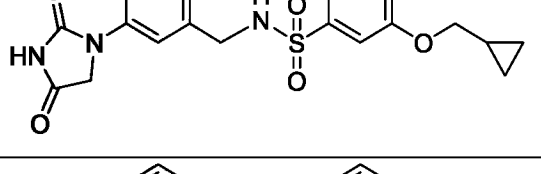
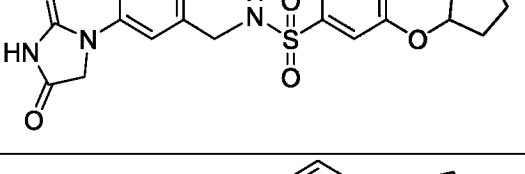
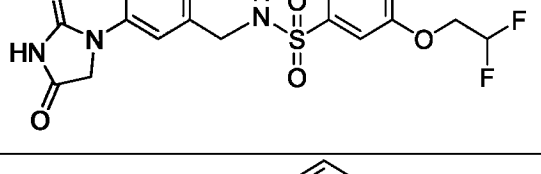
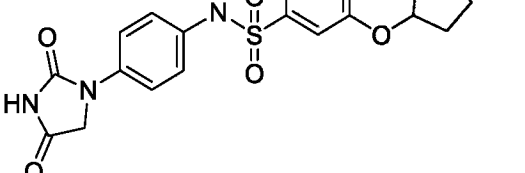
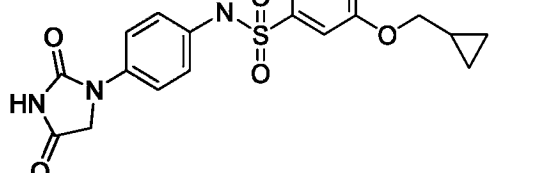
где R^{70} является таким, как определено выше, и R^{30} является таким, как определено выше.

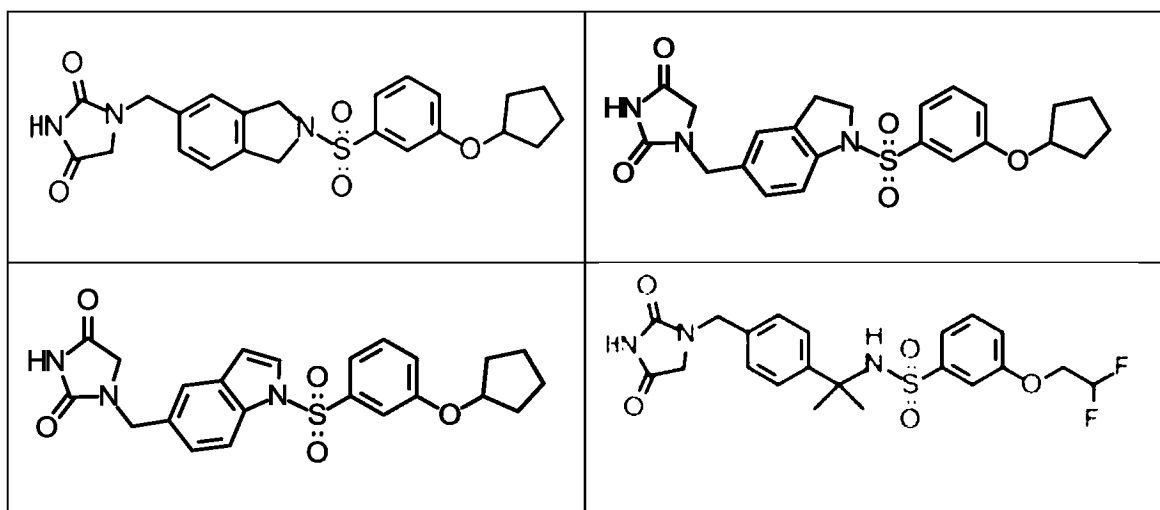
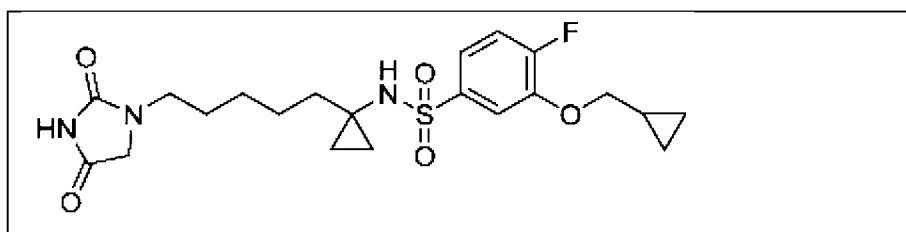
[0433] В некоторых вариантах осуществления ингибитор дУТФазы представляет собой соединение, выбранное из таблицы 3 ниже.

Таблица 3.

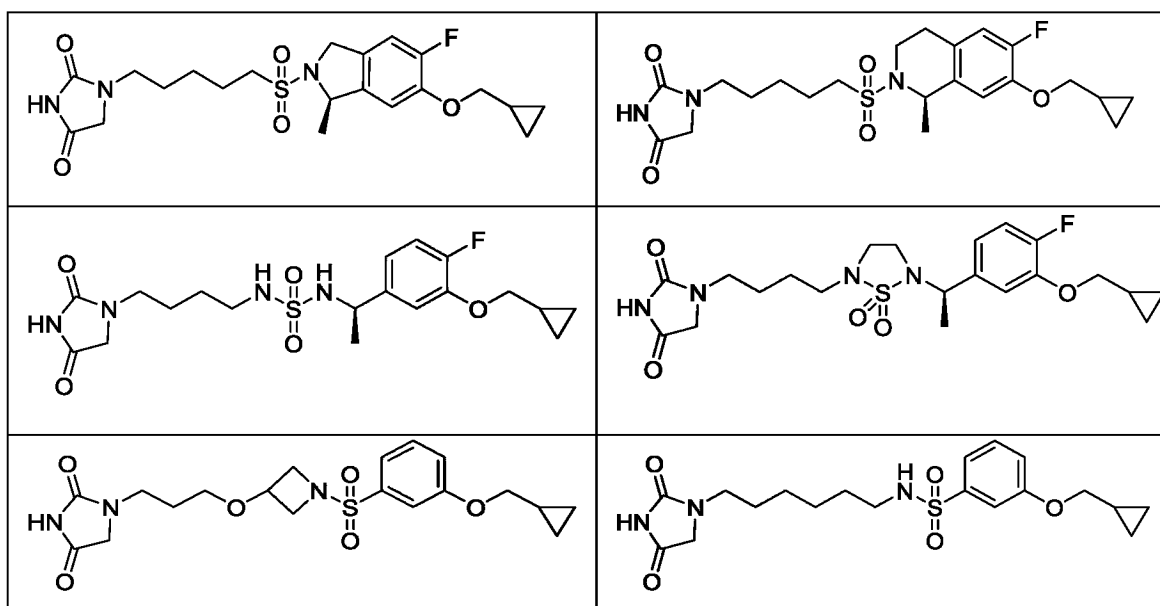
10



**Таблица 4.**

5

Таблица 5.

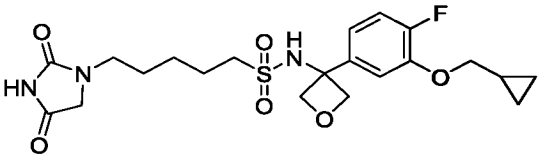
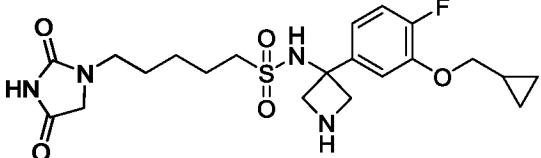
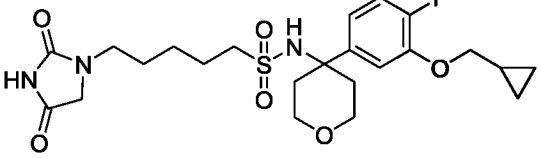
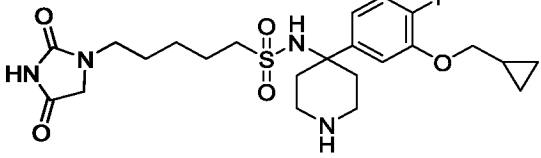
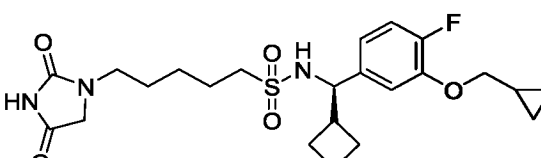
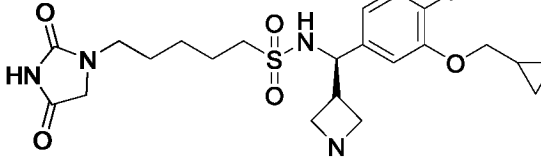
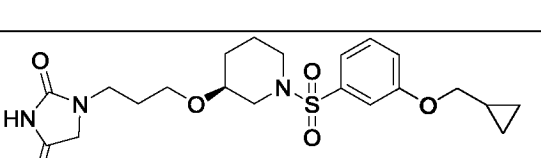
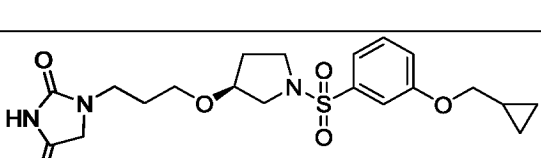
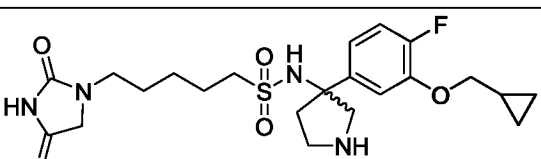
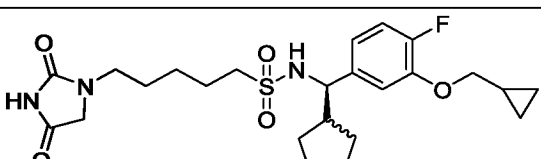
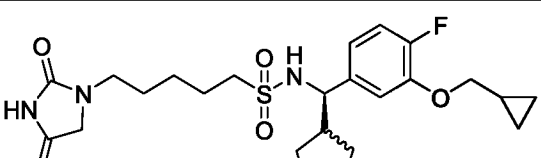
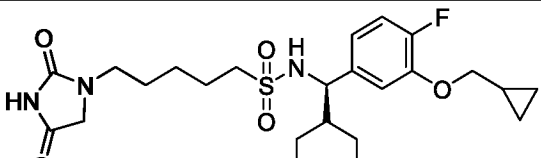
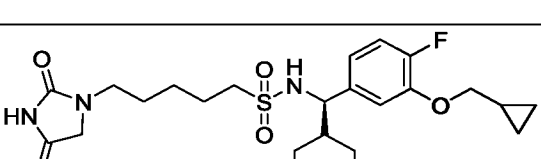
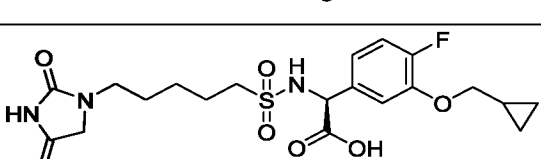
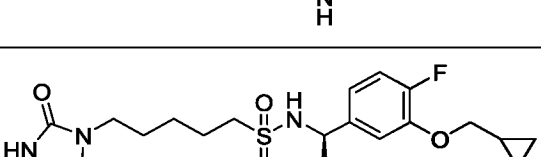
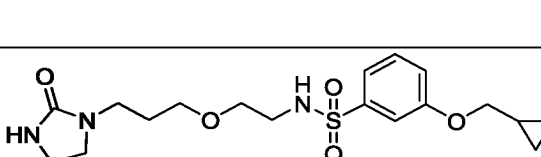
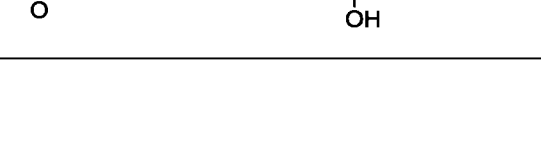
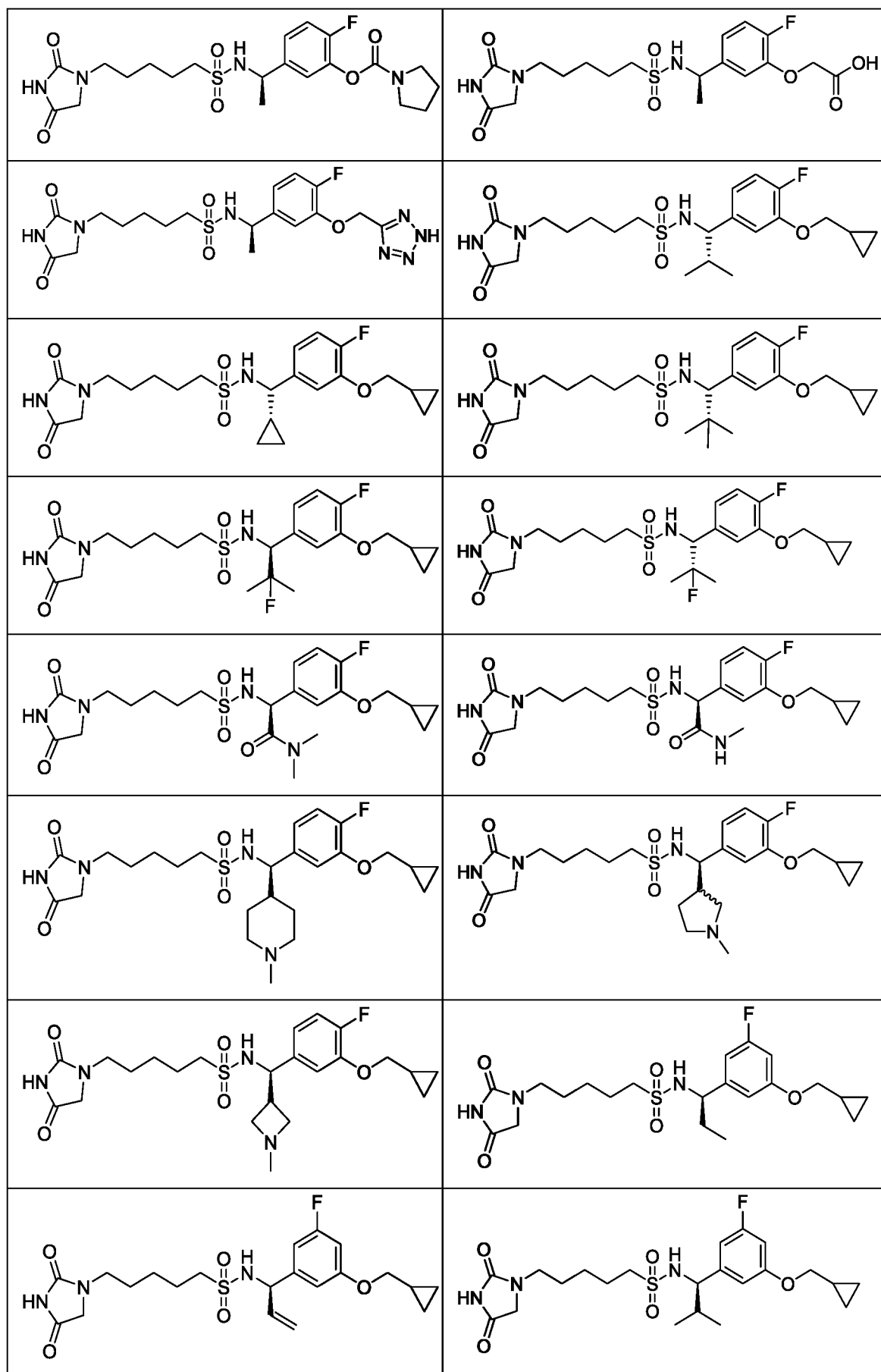
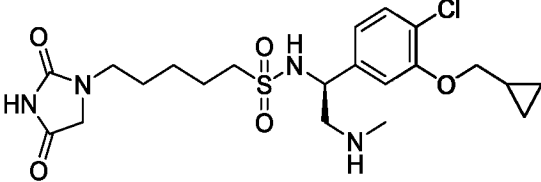
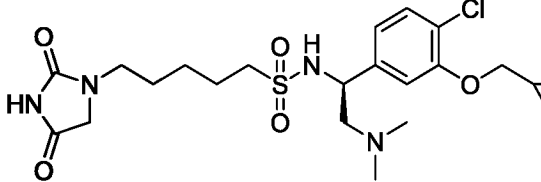
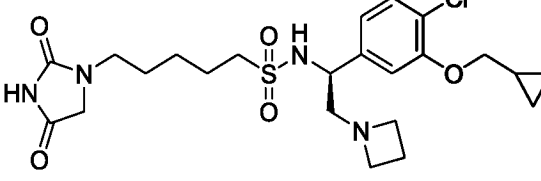
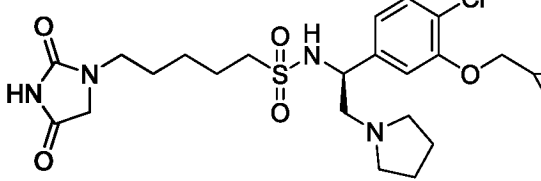
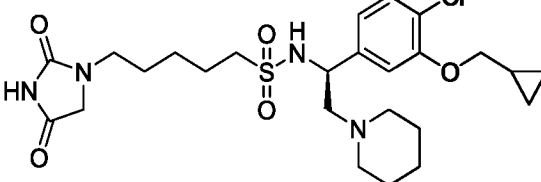
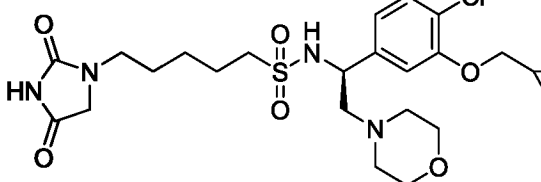
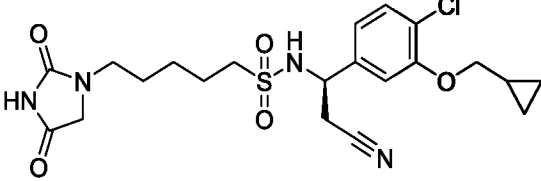
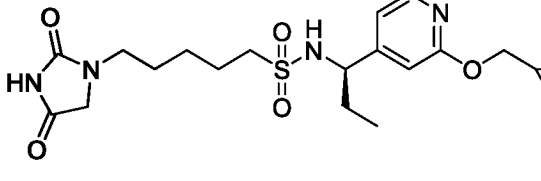
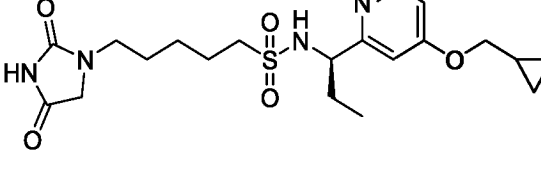
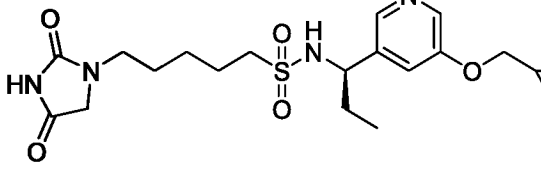
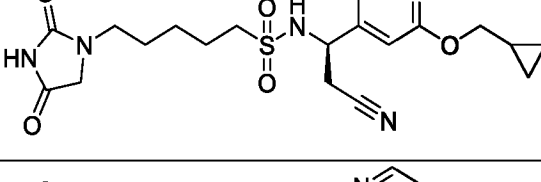
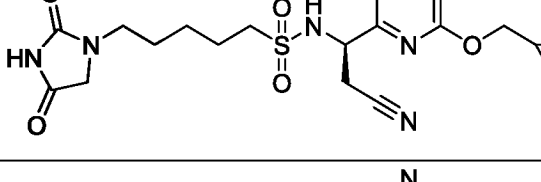
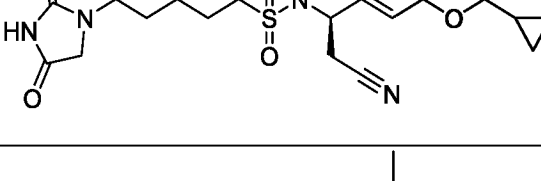
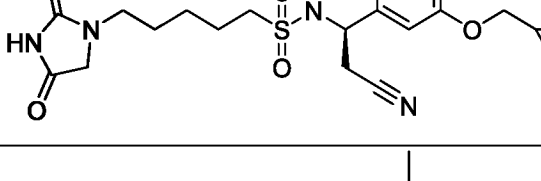
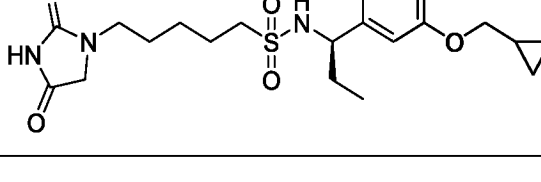
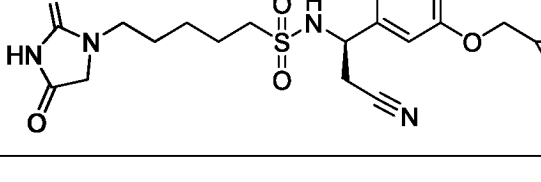
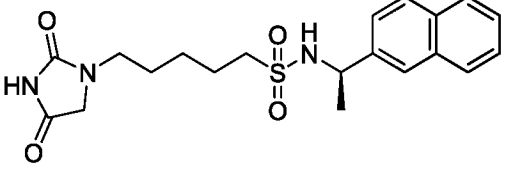
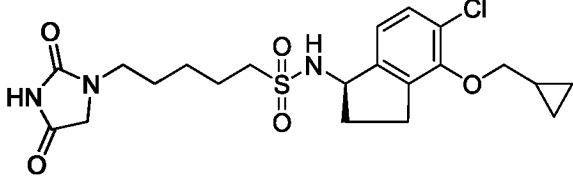
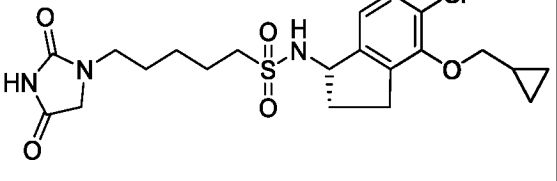
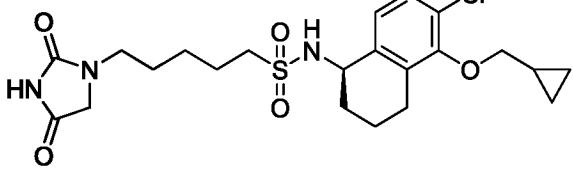
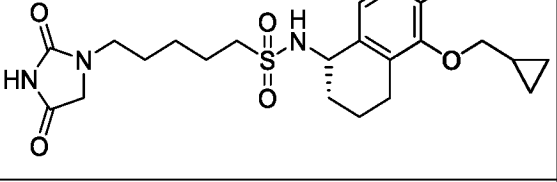
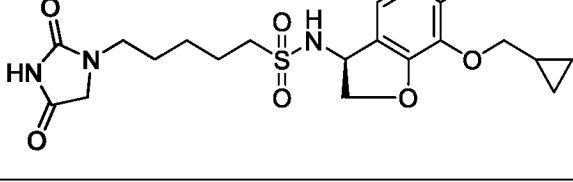
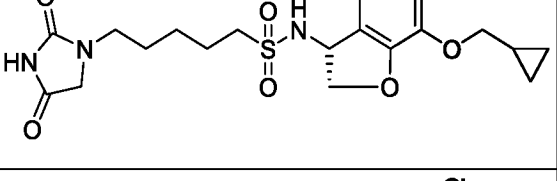
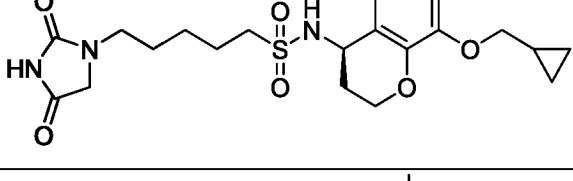
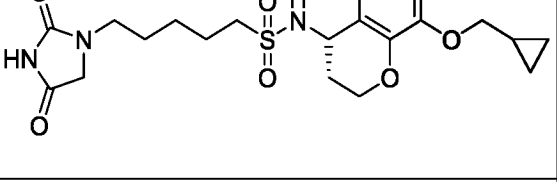
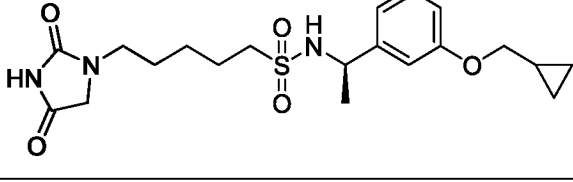
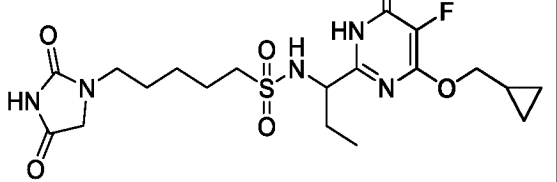
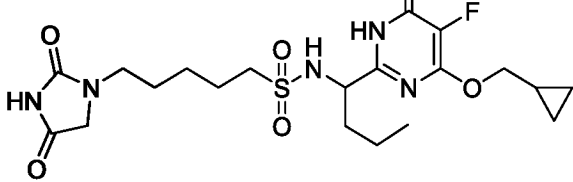
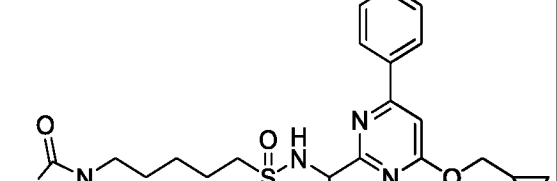
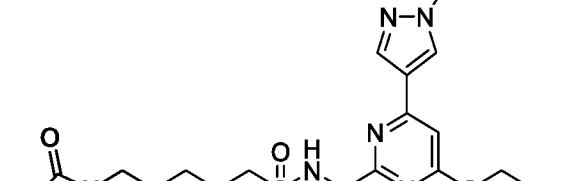
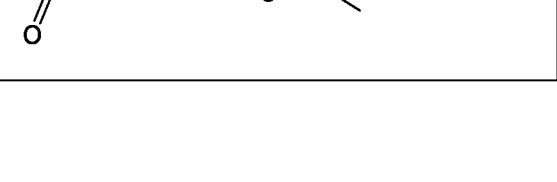
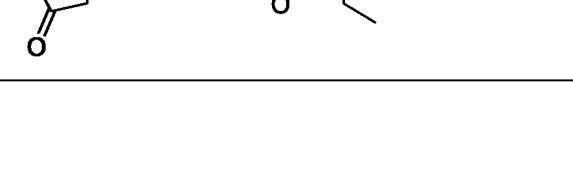
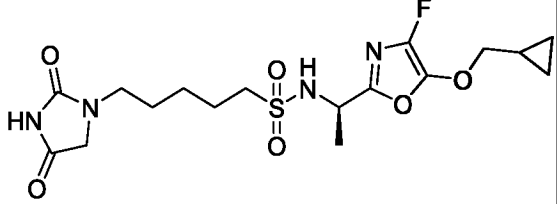
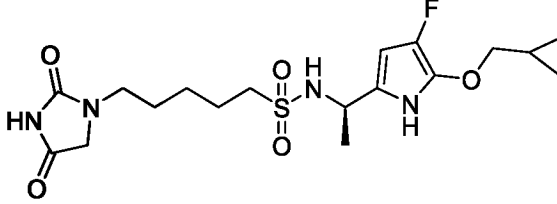
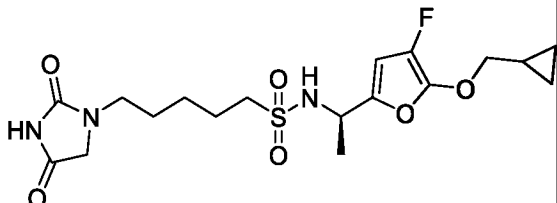
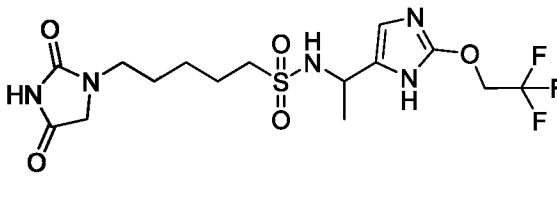
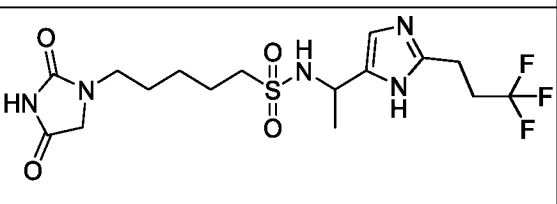
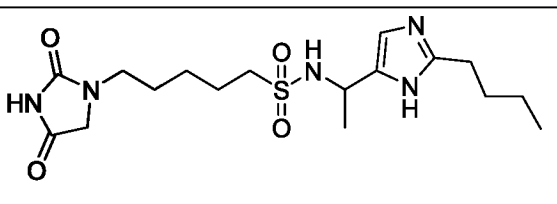
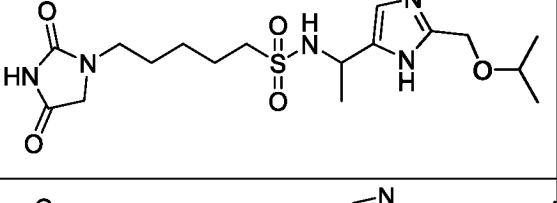
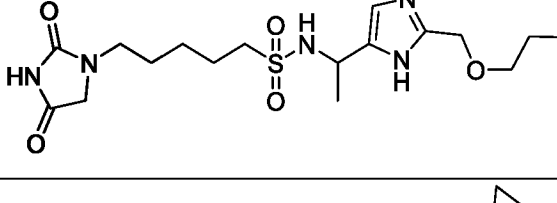
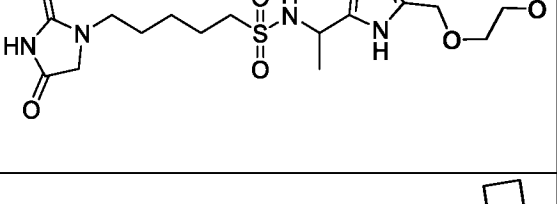
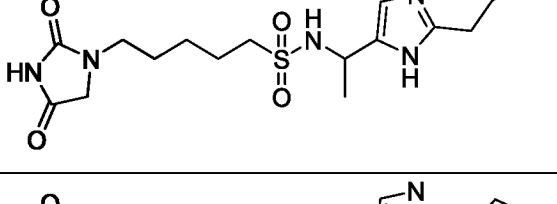
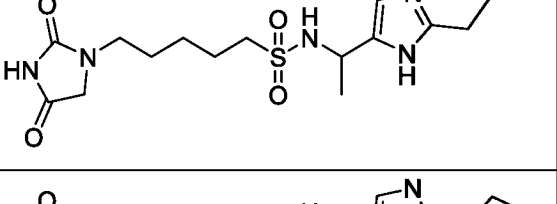
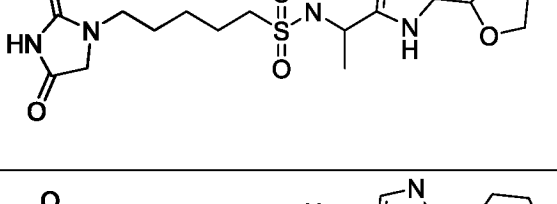
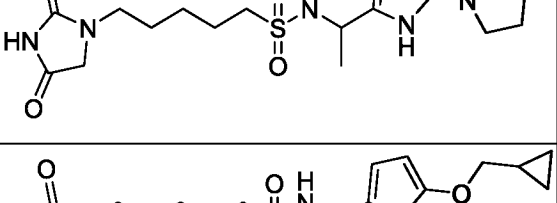
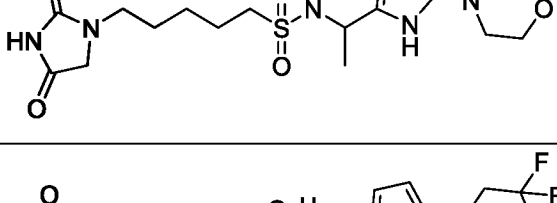
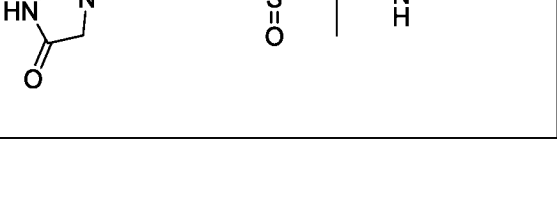
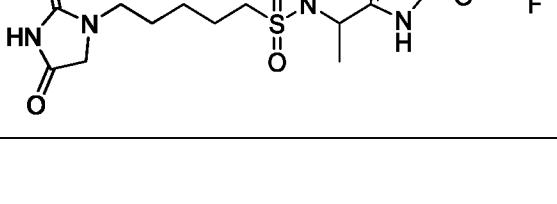
	
	
	
	
	
	
	
	
	

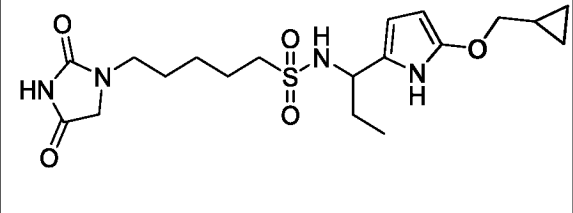
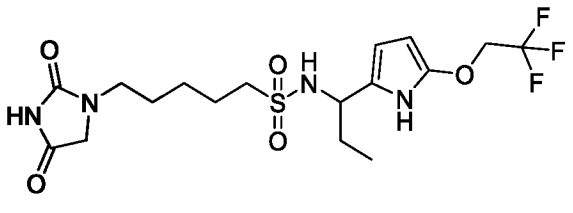
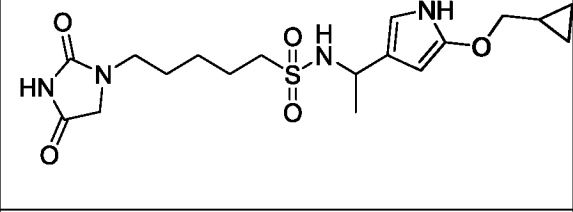
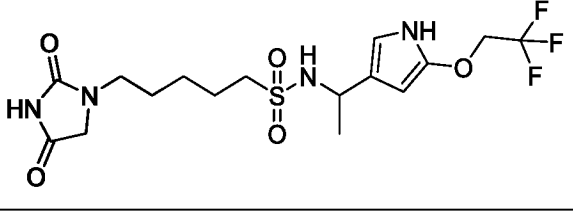
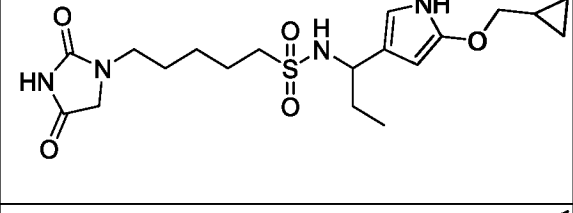
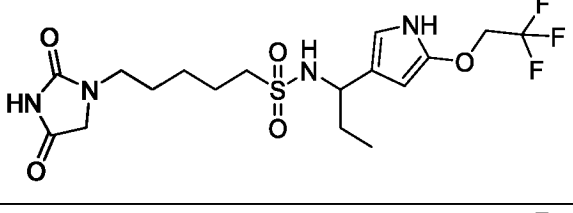
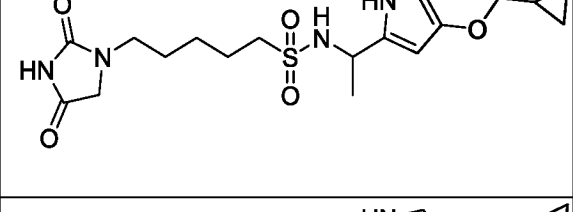
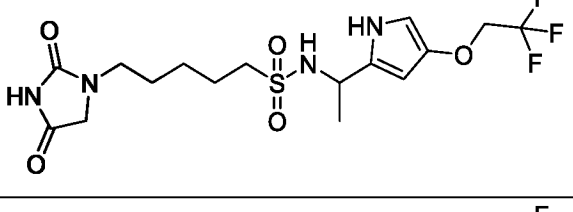
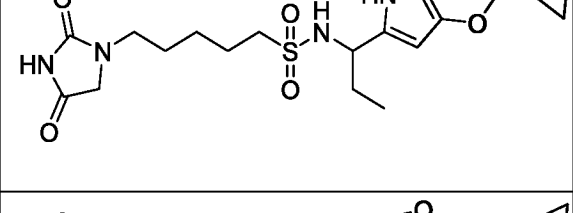
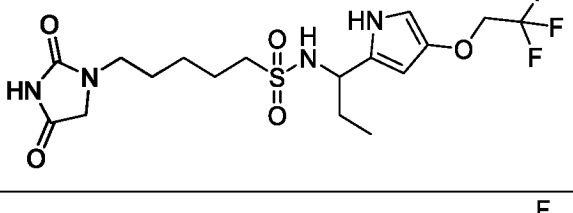
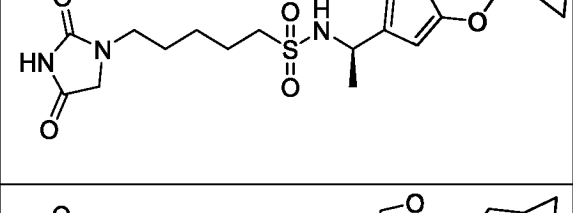
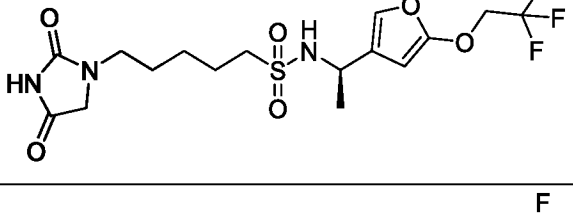
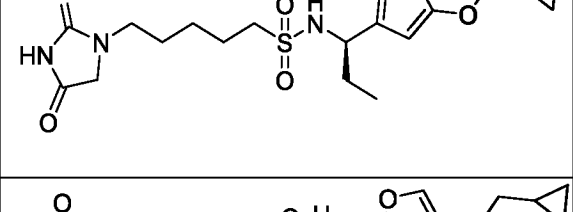
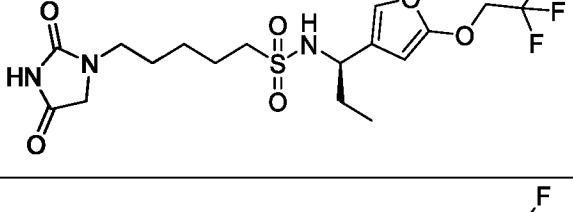
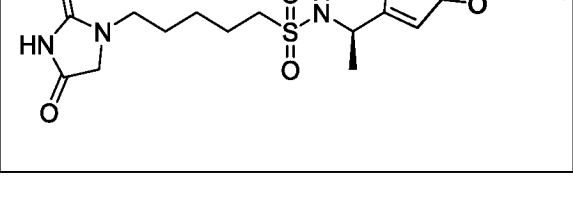
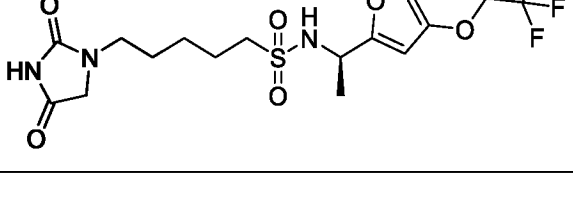
Таблица 6.

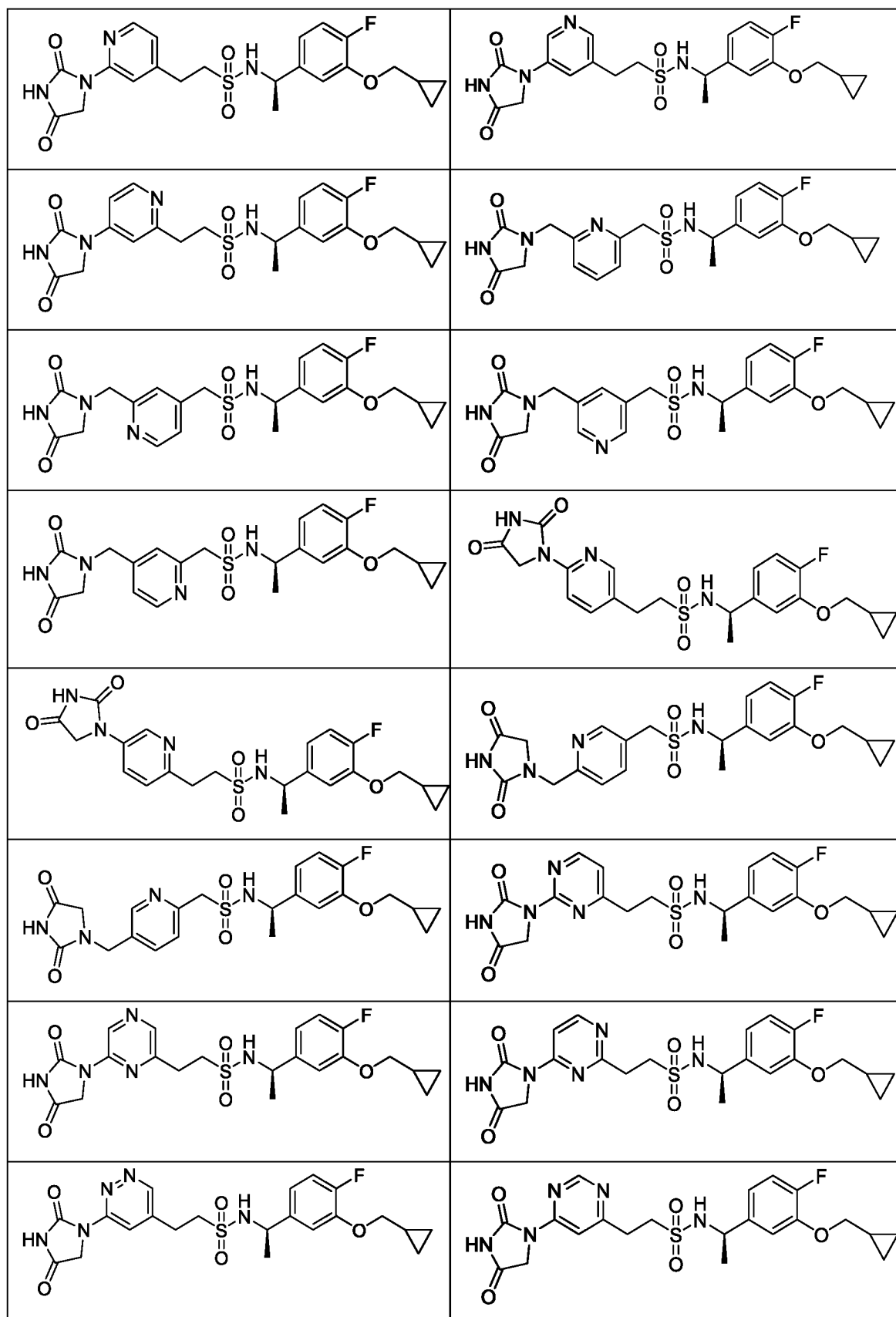


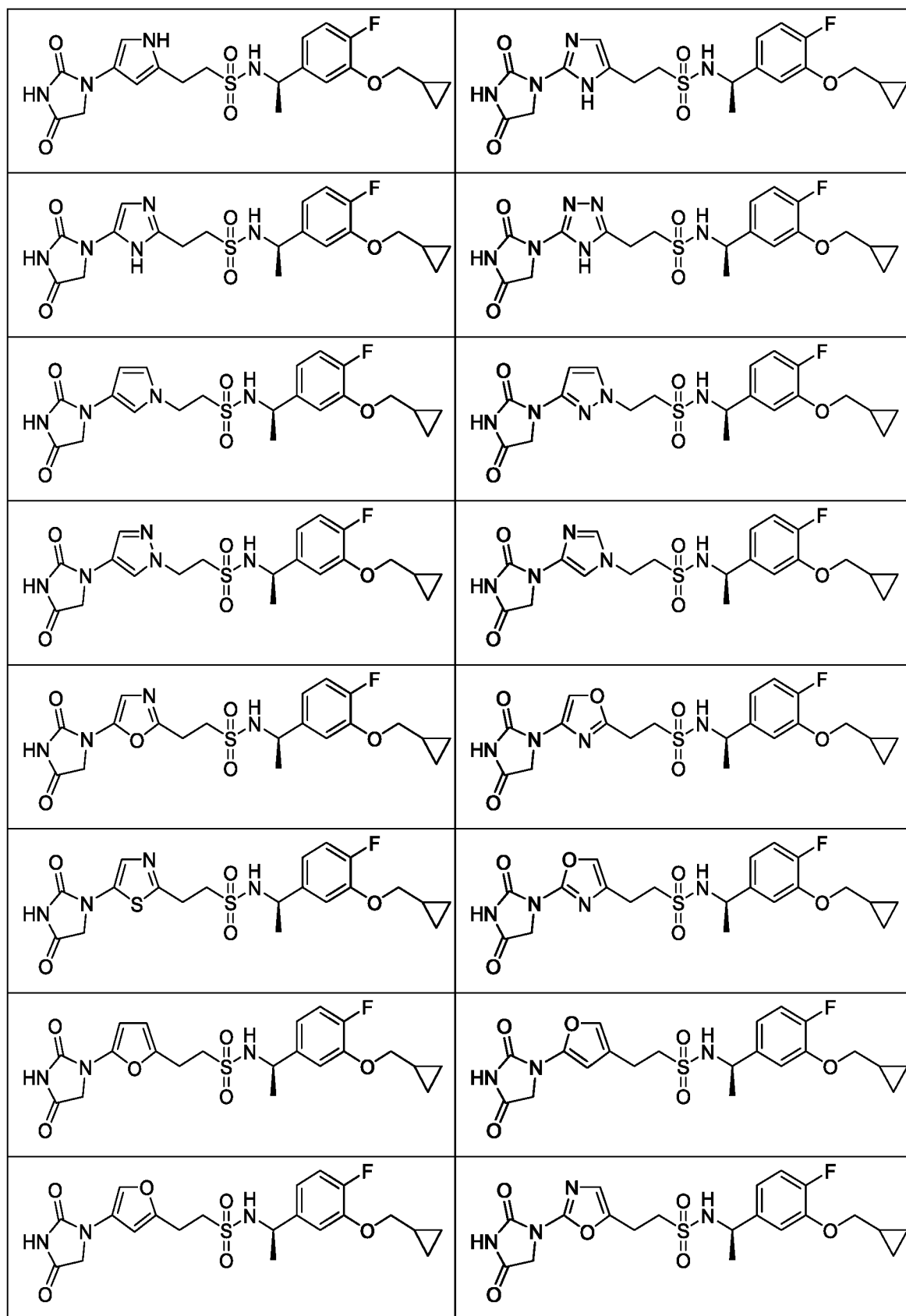
	
	
	
	
	
	
	
	

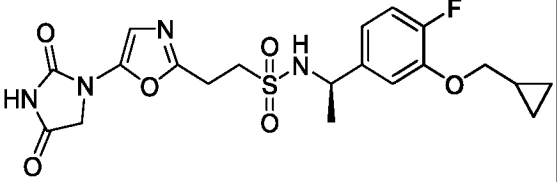
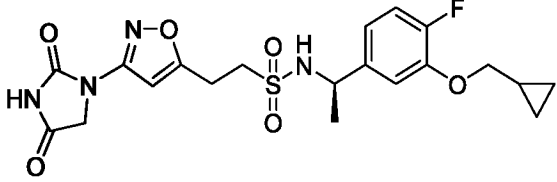
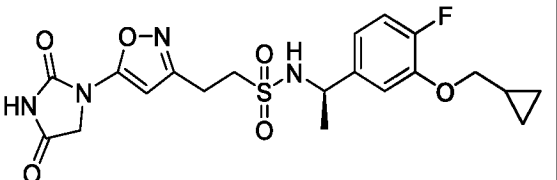
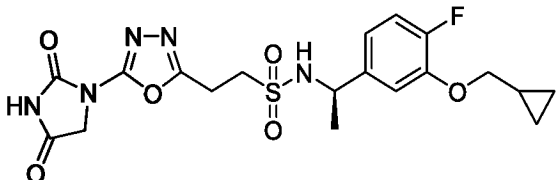
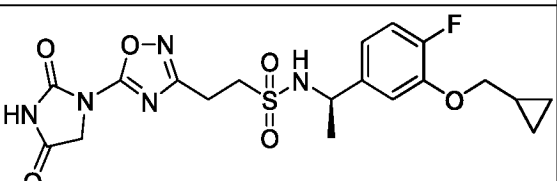
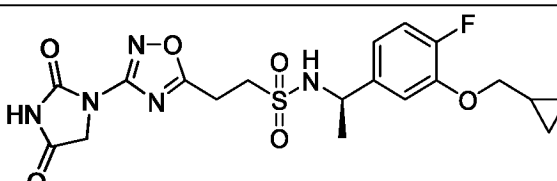
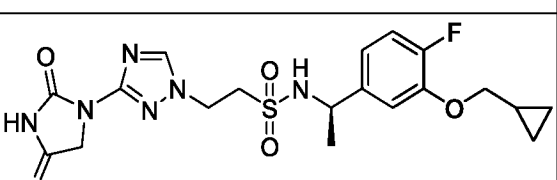
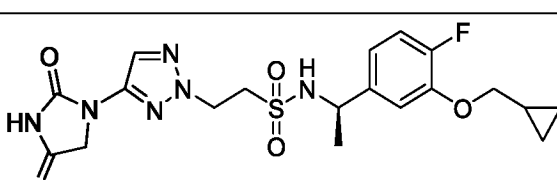
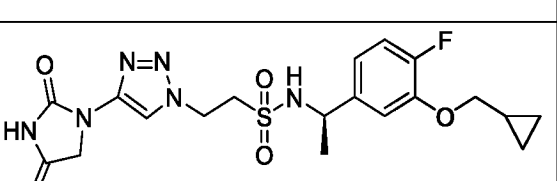
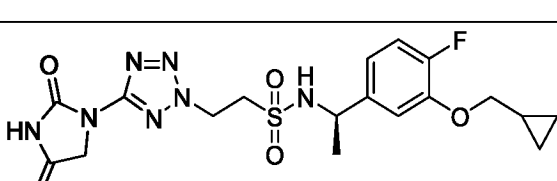
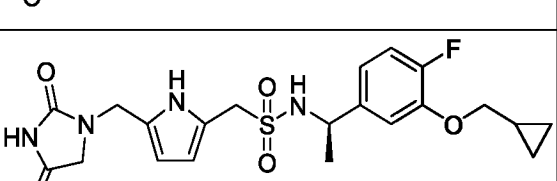
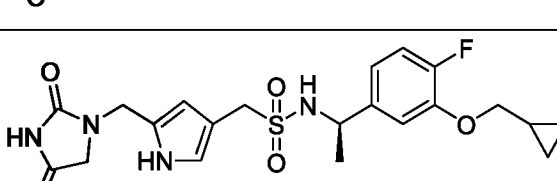
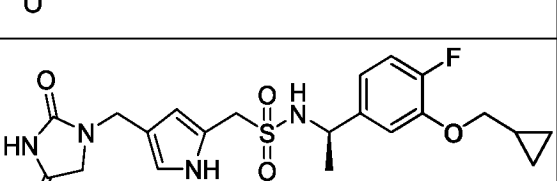
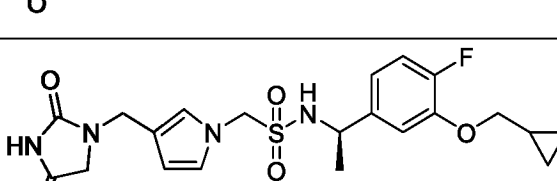
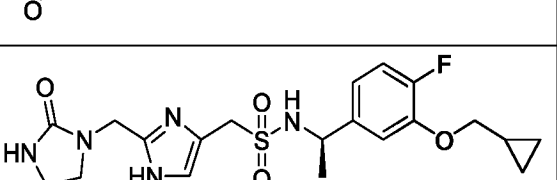
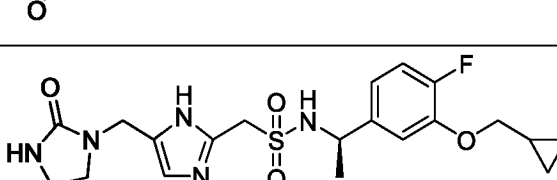
	
	
	
	
	
	
	
	

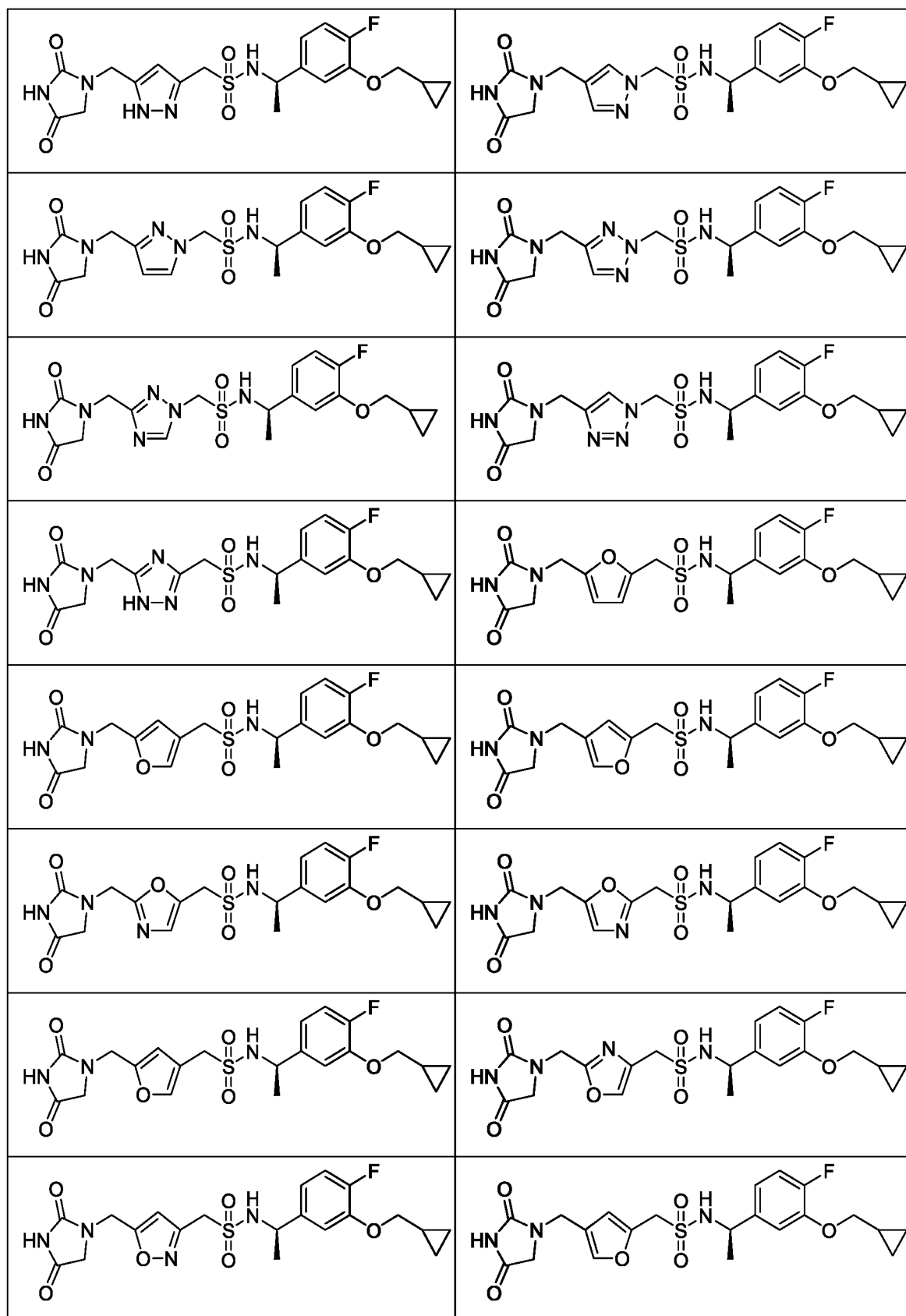
	
	
	
	
	
	
	
	

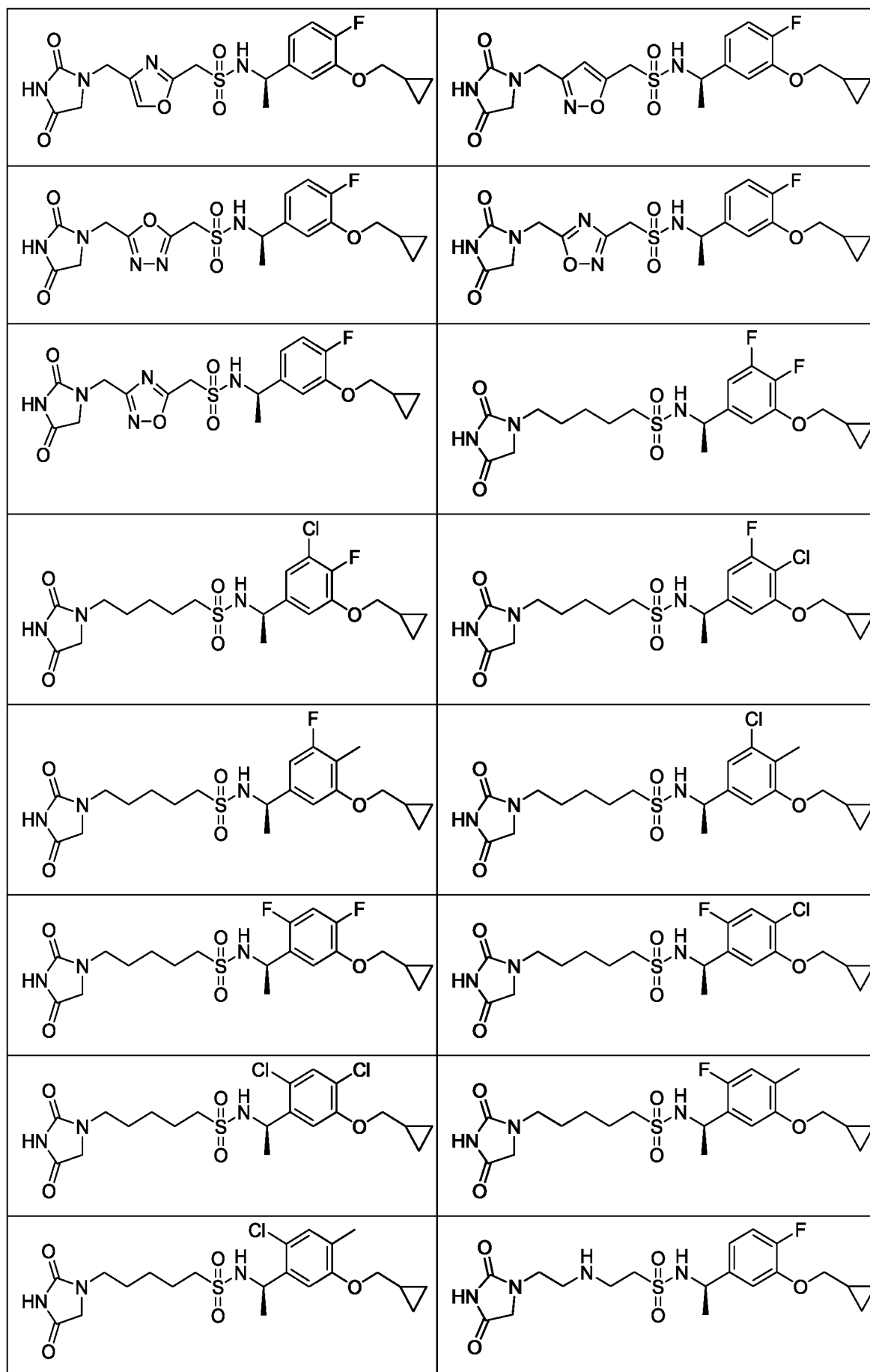
	
	
	
	
	
	
	
	

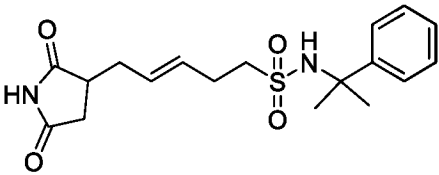
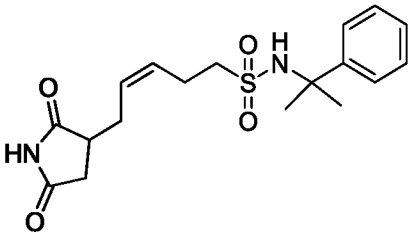
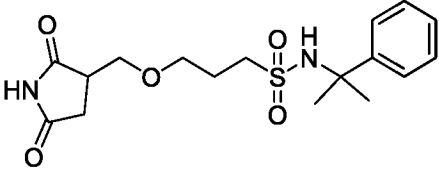
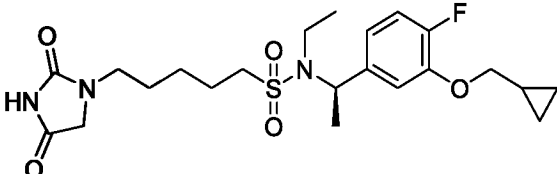
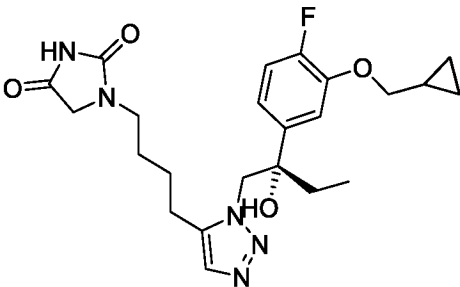
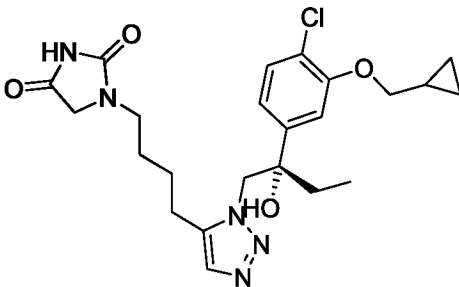
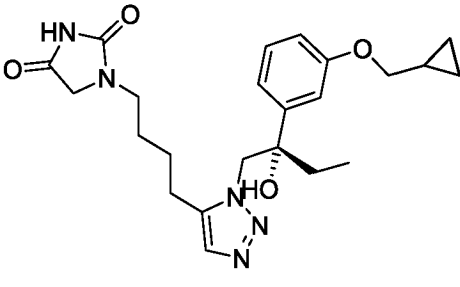
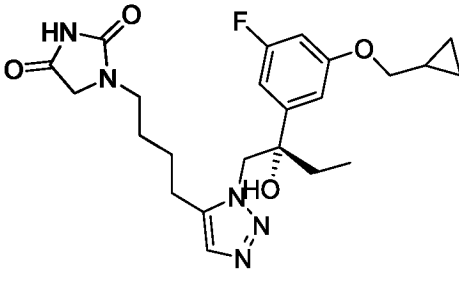
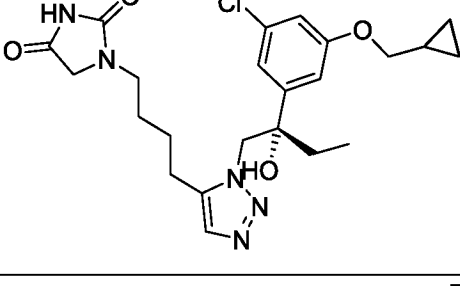
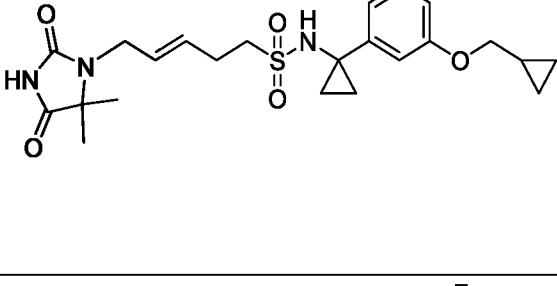
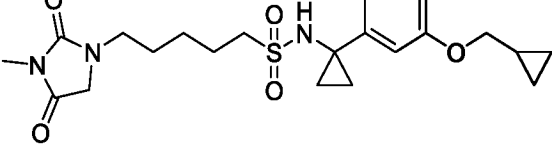
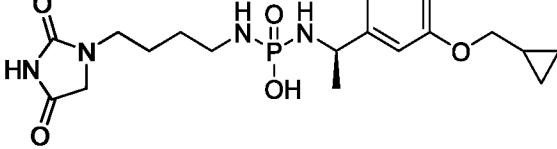
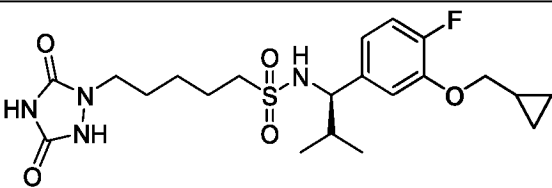
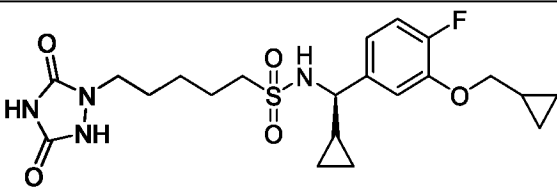








где X представляет собой N или CH и y представляет собой NH или CH ₂ .	где X представляет собой N или CH и y представляет собой NH или CH ₂ .

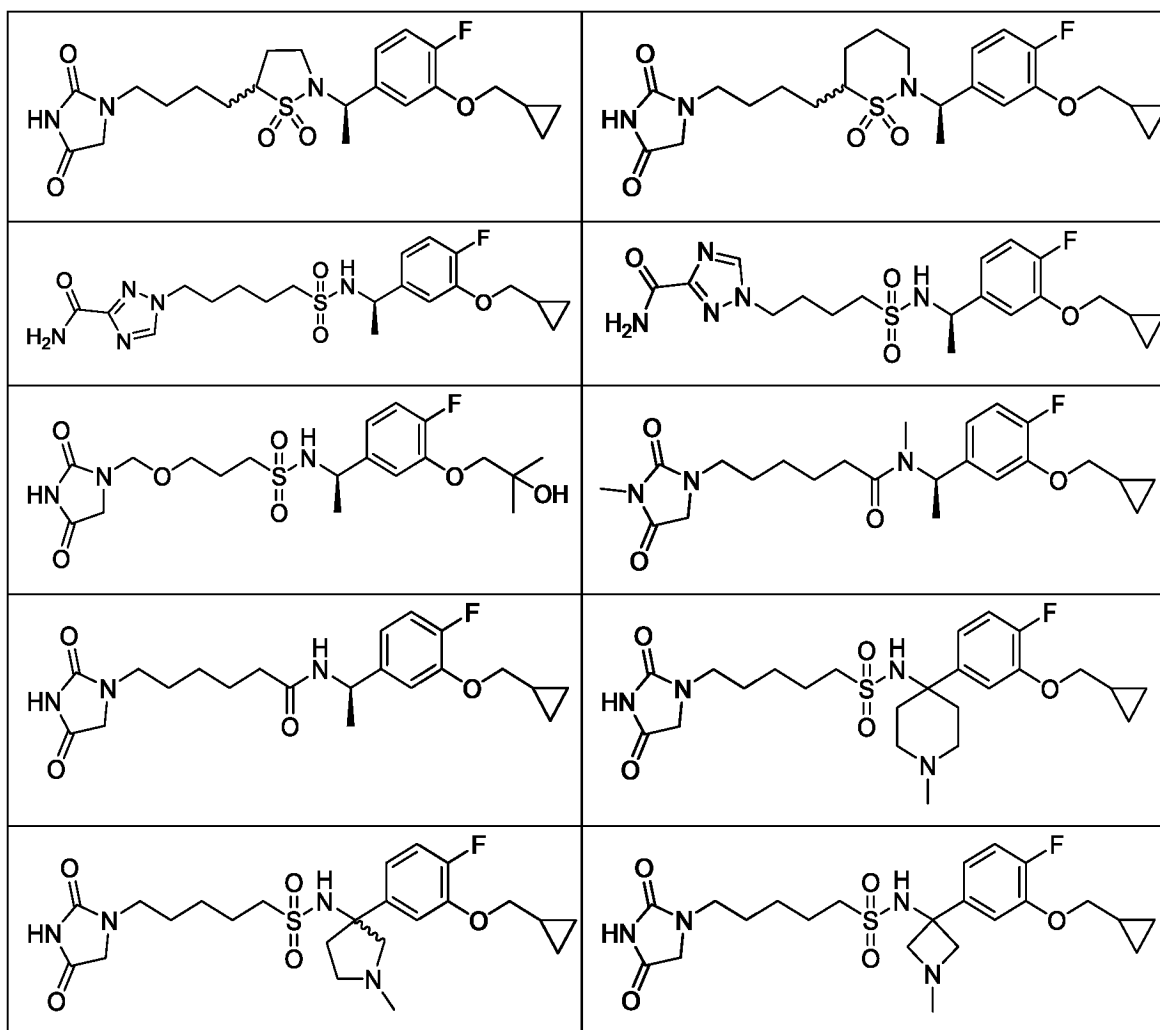


Таблица 7.

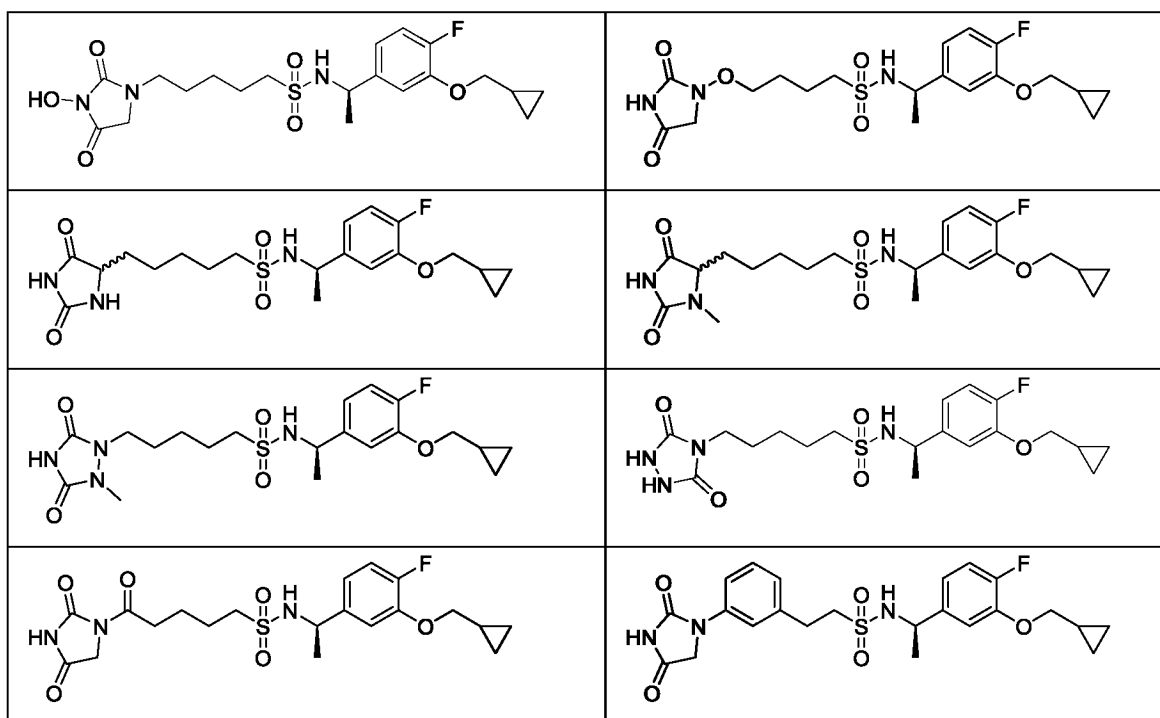


Таблица 8.

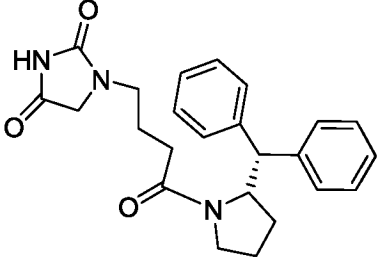
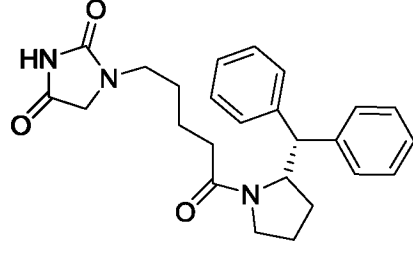
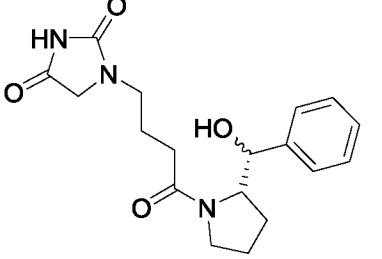
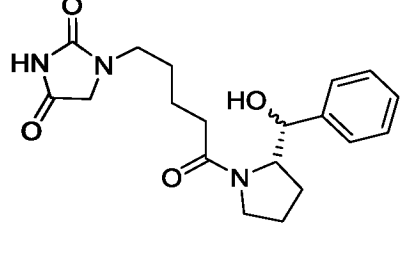
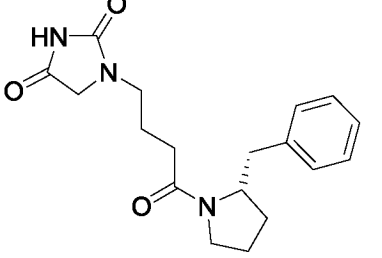
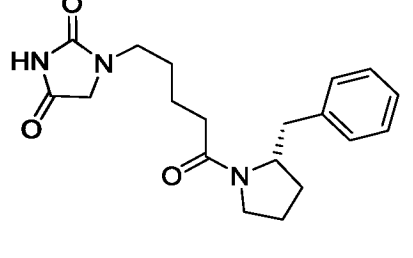
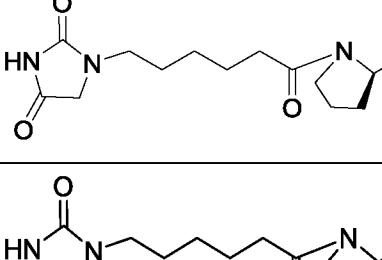
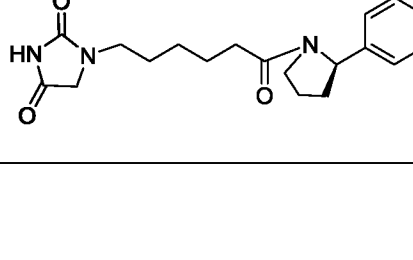
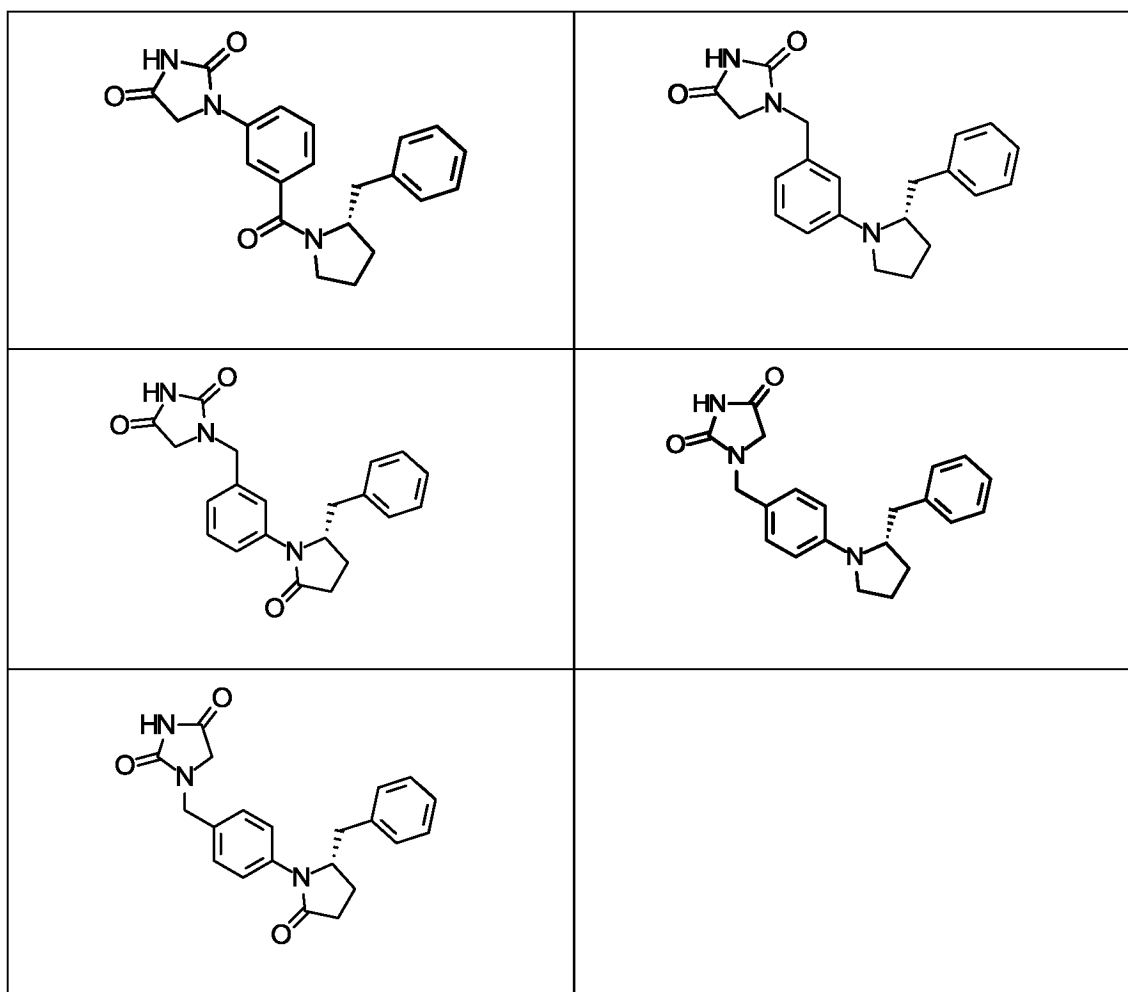
	
	
	
	
	

Таблица 9.



[0434] В некоторых вариантах осуществления ингибитор дУТФазы представляет собой соединение, выбранное из таблиц 1–9. В некоторых вариантах осуществления ингибитор дУТФазы представляет собой соединение, выбранное из таблиц 1 и 2.

[0435] Эти ингибиторы дУТФазы, предложенные в данном документе, а также другие, синтезируют, следуя известным в данной области техники способам с соответствующей заменой коммерчески доступных реагентов при необходимости. Например и без ограничения, способы синтеза описанного в данном документе ингибитора дУТФазы описаны в WO 2017/006282, WO 2017/006271, WO 2018/098206, WO 2018/098207, WO 2018/098208 и WO 2018/098209, каждая из которых в полном объеме включена в данный документ посредством ссылки. Неограничивающие способы синтеза некоторых других ингибиторов дУТФазы описаны в US 2011/0082163; US 2012/0225838; WO 2014/107622; PCT/US2015/010059; Miyahara et al., J. Med. Chem. (2012) 55, 2970-2980; Miyakoshi et al., J. Med. Chem. (2012) 55, 2960-2969; Miyahara et al., J. Med. Chem. (2012) 55 (11), pp 5483–5496; и Miyakoshi et al., J. Med. Chem. (2012) 55

(14), pp 6427–6437 (каждая выше), каждая из которых в полном объеме включена в данный документ посредством ссылки. Способы защиты и снятия защиты, а также защитные группы, применимые в таких целях, хорошо известны в данной области техники и описаны, например, в Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 4th Edition, Wiley, 2006, или более позднем издании этой книги.

[0436] В некоторых вариантах осуществления ингибитор дУТФазы не представляет собой урацил-содержащее соединение. В некоторых вариантах осуществления ингибитор дУТФазы не представляет собой фторурацил-содержащее соединение. В некоторых вариантах осуществления ингибитор дУТФазы не представляет собой (R)-N-(1-(3-(циклопентилокси)фенил)этил)-3-((2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил)метокси)пропан-1-сульфонамид.

Фармацевтические композиции

[0437] В другом аспекте в данном документе предложена композиция, содержащая, состоящая преимущественно из или состоящая из комбинации предложенных в данном документе соединений и по меньшей мере одного фармацевтически приемлемого эксципиента.

[0438] Композиции, включая фармацевтические композиции, содержащие, состоящие преимущественно из или состоящие из комбинации описанных в данном документе соединений, можно изготавливать посредством традиционных процессов смешивания, растворения, грануляции, дражирования, растирания, эмульгации, инкапсуляции, заключения или лиофилизации. Композиции можно составлять традиционным образом, используя один или более физиологически приемлемых носителей, разбавителей, эксципиентов или вспомогательных веществ, которые облегчают обработку комбинаций соединений, предложенных в данном документе, в препараты, которые можно использовать фармацевтически.

[0439] Комбинацию соединений по настоящему изобретению можно вводить парентеральным (например, с помощью внутримышечной, внутрибрюшинной, внутривенной, ИЦВ, интрацистеральной инъекции или инфузии, подкожной инъекции или имплантата), пероральным, назальным посредством ингаляционного спрея, вагинальным, ректальным, подъязычным, уретральным (например, с помощью уретрального суппозитория) или местным путями введения (например, с помощью геля, мази, крема, аэрозоля и т. д.), и можно составлять в подходящих единичных лекарственных формах, содержащих традиционные нетоксичные фармацевтически приемлемые носители, адъюванты, эксципиенты и носители для каждого пути введения.

[0440] В одном варианте осуществления данная технология относится к композиции, содержащей комбинацию описанных в данном документе соединений и носитель.

[0441] В другом варианте осуществления данная технология относится к фармацевтической композиции, содержащей комбинацию описанных в данном документе соединений и фармацевтически приемлемый носитель.

[0442] В другом варианте осуществления данная технология относится к фармацевтической композиции, содержащей эффективное количество или терапевтически эффективное количество комбинации описанных в данном документе соединений и фармацевтически приемлемый носитель.

[0443] Фармацевтические композиции для введения комбинации соединений можно предпочтительно предоставлять в единичной лекарственной форме и получать любыми способами, хорошо известными в области фармации. Фармацевтические композиции можно, например, получать путем равномерного и тщательного объединения предложенных в данном документе соединений с жидким носителем, тонкоизмельченным твердым носителем или ими обоими, а затем, при необходимости, формования продукта в необходимую форму. В фармацевтической композиции каждое соединение предложенной в данном документе комбинации включено в количестве, достаточном для обеспечения необходимого терапевтического эффекта. Например, фармацевтические композиции по представленной технологии могут иметь форму, подходящую практически для любого режима введения, включая, например, местное, глазное, пероральное, буккальное, системное, назальное, инъекционное, инфузионное, трансдермальное, ректальное и вагинальное, или форму, подходящую для введения посредством ингаляции или инсуффляции.

[0444] Для местного применения комбинацию соединений можно составлять в виде растворов, гелей, мазей, кремов, суспензий и т. д., как хорошо известно в данной области техники.

[0445] Системные составы включают разработанные для введения путем инъекции (например, подкожной, внутривенной, инфузионной, внутримышечной, интратекальной или внутрибрюшинной инъекции), а также разработанные для трансдермального, трансмукозального, перорального или легочного введения.

[0446] Применимые инъекционные препараты включают стерильные суспензии, растворы или эмульсии предложенных в данном документе соединений в водных или масляных носителях. Композиции также могут содержать агенты для составления, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или

диспергирующие агенты. Составы для инъекций могут быть представлены в единичной лекарственной форме, например, в ампулах или в многодозовых контейнерах, и могут содержать добавленные консерванты.

[0447] В альтернативном варианте инъекционный состав может быть предоставлен в порошковой форме для восстановления перед применением с помощью подходящего носителя, включая, но не ограничиваясь этим, стерильную апиrogenную воду, буфер и раствор декстрозы. С этой целью предложенные в данном документе соединения можно сушить любым известным в данной области техники способом, таким как лиофилизация, и восстанавливать перед применением.

[0448] Для трансмукозального введения в составе используют пенетранты, подходящие для барьера, через который необходимо проникнуть. Такие пенетранты известны в данной области техники.

[0449] Для перорального введения фармацевтические композиции могут иметь форму, например, леденцов, таблеток или капсул, приготовленных традиционными способами с фармацевтически приемлемыми эксципиентами, такими как связующие агенты (например, прежелатинизированный кукурузный крахмал, поливинилпирролидон или гидроксипропилметилцеллюлоза); наполнители (например, лактоза, микрокристаллическая целлюлоза или вторичный кислый фосфат кальция); смазывающие агенты (например, стеарат магния, тальк или диоксид кремния); разрыхлители (например, картофельный крахмал или натрия крахмалгликолят); или смачивающие агенты (например, лаурилсульфат натрия). Покрытие на таблетки можно наносить способами, хорошо известными в данной области техники, например, сахара, пленки или энтеросолюбильные покрытия.

[0450] Композиции, предназначенные для перорального применения, можно изготавливать любым способом, известным в области техники производства фармацевтических композиций, и при этом такие композиции могут содержать один или более агентов, выбранных из группы, состоящей из подсластителей, ароматизаторов, красителей, антиоксидантов и консервантов, с целью получения фармацевтически приемлемых и приятных на вкус препаратов. Таблетки содержат комбинацию предложенных в данном документе соединений в смеси с нетоксичными фармацевтически приемлемыми эксципиентами, которые подходят для изготовления таблеток. Эти эксципиенты могут представлять собой, например, инертные разбавители, такие как карбонат кальция, карбонат натрия, лактоза, фосфат кальция или фосфат натрия; гранулирующие и

дезинтегрирующие агенты (например, кукурузный крахмал или альгиновую кислоту); связующие агенты (например, крахмал, желатин или аравийскую камедь); и смазывающие агенты (например, стеарат магния, стеариновую кислоту или тальк). Таблетки можно оставлять без покрытия или наносить покрытие известными способами, чтобы замедлить распад и всасывание в желудочно-кишечном тракте и, таким образом, обеспечить устойчивое действие в течение более длительного периода. Например, можно использовать материал для задержки по времени, такой как глицерилмоностеарат или глицерилдистеарат. Также покрытия можно наносить способами, хорошо известными специалисту в данной области техники. Фармацевтические композиции по представленной технологии также могут иметь форму эмульсий типа «масло в воде».

[0451] Жидкие препараты для перорального введения могут иметь форму, например, эликсиров, растворов, сиропов или суспензий, или же они могут быть представлены в виде сухого продукта для разведения водой или другим подходящим носителем перед применением. Такие жидкие препараты можно готовить традиционными способами с фармацевтически приемлемыми добавками, такими как суспендирующие агенты (например, сироп сорбита, производные целлюлозы или гидрогенизованные пищевые жиры); эмульгирующие агенты (например, лецитин или аравийская камедь); неводные носители (например, миндальное масло, жирные сложные эфиры, этиловый спирт, кремофор[™] или фракционированные растительные масла); и консерванты (например, метил или пропил-п-гидроксibenзоаты или сорбиновая кислота). Препараты также могут содержать, при необходимости, буферные соли, консерванты, ароматизаторы, красители и подсластители.

[0452] В некоторых вариантах осуществления одна или более описанных в данном документе композиций находятся в наборе. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен набор, содержащий, состоящий преимущественно из или состоящий из одной или более описанных в данном документе композиций и инструкций по их применению.

Дозировки и схемы введения

[0453] Специалист в данной области техники может определить подходящее количество и схему введения иммунотерапевтического агента, ингибитора биосинтеза тимидилата, ингибитора фолат-опосредованного одноуглеродного метаболизма, антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы I или ингибитора дУТФазы, находящихся в комбинации, предназначенной для

введения субъекту в соответствии с любым из описанных в данном документе способов.

[0454] В некоторых вариантах осуществления активные соединения из описанной в данном документе комбинации или их соли или сольваты можно вводить субъекту, страдающему аномальным ростом клеток, например человеку, отдельно или в качестве части фармацевтически приемлемого состава, один раз в неделю, один раз в день, два раза в день, три раза в день или четыре раза в день, или даже чаще.

[0455] Введение соединений в рамках описанных в данном документе комбинаций можно осуществлять любым способом, который обеспечивает доставку соединений в место действия. Эти способы включают пероральные пути, интрадуоденальные пути, парентеральную инъекцию (включая внутривенную, внутримышечную, внутрисосудистую или инфузию), местное и ректальное введение. Можно применять болюсные дозы или инфузии в течение периода 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120 или более минут, или также можно использовать любой промежуточный период времени, а также инфузии, длящиеся 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 20, 24 или более часов или длящиеся 1–7 дней или более. Инфузии можно осуществлять посредством капельной методики, непрерывной инфузии, инфузионного насоса, дозирующего насоса, депо-состава или любых других подходящих средств.

[0456] Схемы введения можно корректировать для обеспечения оптимального необходимого ответа. Например, можно вводить однократную болюсную дозу, можно вводить несколько разделенных доз в течение некоторого времени или же дозу можно пропорционально уменьшать или увеличивать в зависимости от терапевтической ситуации. Особенно преимущественно составлять парентеральные композиции в виде единичной лекарственной формы для простоты введения и однородности дозировки. В контексте данного документа единичная лекарственная форма относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для субъектов, подлежащих лечению; каждая единица содержит заданное количество активного соединения, рассчитанное для получения необходимого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем. Спецификация для единичных лекарственных форм по изобретению обусловлена и непосредственно зависит от (а) уникальных характеристик химиотерапевтического агента и конкретного терапевтического или профилактического эффекта, который необходимо достигнуть, и (b) ограничений,

присущих области составления соединений, таких как активное соединение, для лечения чувствительности у индивидов.

[0457] Таким образом, специалисту в данной области техники будет понятно с учетом предложенного в данном документе описания, что дозу и схему введения корректируют в соответствии со способами, хорошо известными в терапевтической области. Это означает, что можно легко установить максимальную переносимую дозу и также можно определить эффективное количество, обеспечивающее выявляемую терапевтическую пользу для пациента, а также временные требования для введения каждого агента, чтобы обеспечить выявляемую терапевтическую пользу для пациента. Соответственно, хотя в данном документе в качестве примера приведены некоторые дозы и схемы введения, эти примеры никоим образом не ограничивают дозы и схемы введения, которые можно назначать пациенту при практической реализации настоящего изобретения.

[0458] Следует отметить, что величины дозировок могут варьироваться в зависимости от типа и тяжести патологического состояния, которое необходимо облегчить, и могут включать однократные или многократные дозы. Также следует понимать, что для любого конкретного субъекта конкретные схемы введения следует корректировать со временем в соответствии с индивидуальной потребностью и профессиональным суждением лица, осуществляющего или контролирующего введение композиций, и что диапазоны дозировок, указанные в данном документе, являются всего лишь иллюстративными и не подразумевают ограничения объема или практической реализации заявленной композиции. Например, дозы можно корректировать на основании фармакокинетических или фармакодинамических параметров, что может включать клинические эффекты, такие как токсические эффекты и/или лабораторные показатели. Таким образом, настоящее изобретение охватывает индивидуальное повышение дозы, определяемое специалистом в данной области техники. Определение подходящих дозировок и схем введения химиотерапевтического агента хорошо известно в соответствующей области техники и станет понятно специалисту в данной области техники с учетом описанных в данном документе принципов.

[0459] В некоторых вариантах осуществления пембролизумаб вводят в дозе 200 мг каждые 3 недели.

[0460] В некоторых вариантах осуществления ниволумаб вводят в дозе 240 мг каждые 2 недели. В некоторых вариантах осуществления ниволумаб вводят в дозе 480 мг каждые 4 недели.

[0461] В некоторых вариантах осуществления ипилимумаб вводят в дозе 1 мг/кг, 3 мг/кг или 10 мг/кг каждые 3 недели, всего 4 дозы.

[0462] В некоторых вариантах осуществления авелумаб вводят в дозе 800 мг каждые 2 недели.

5 **[0463]** В некоторых вариантах осуществления дурвалумаб вводят в дозе 10 мг/кг каждые 2 недели.

[0464] В некоторых вариантах осуществления атезолизумаб вводят в дозе 1200 мг внутривенно в течение 60 минут каждые 3 недели.

10 **[0465]** В некоторых вариантах осуществления 5-FU вводят в дозе 500 мг/м², в/в болюс в день 1; и за 1 час перед введением болюса 5-FU пациенту также вводят лейковорин (500 мг/м², в/в) в течение 2 часов. Эту схему повторяют еженедельно в дни 1, 8, 15, 22, 29 и 36 каждые 8 недель в течение 4–6 циклов.

15 **[0466]** В некоторых вариантах осуществления 5-FU вводят в комбинации с лучевой терапией. В дополнительных вариантах осуществления 5-FU вводят в дозе 500 мг/м², в/в болюс в течение 5 дней в дни 1 и 36, начиная в дни 22–70 после хирургического вмешательства; а лучевую терапию применяют в течение 6 недель, начиная с дня 64 после начала терапии 5-FU, при этом 5-FU вводят в дозе 225 мг/м²/день, непрерывная в/в инфузия, на протяжении применения лучевой терапии. Затем вводят 5-FU в дозе 450 мг/м², в/в болюс ежедневно в течение 5 дней, начиная с 1 месяца после облучения (т. е. дни 134–138), и повторяют в течение 4 недель.

25 **[0467]** В некоторых вариантах осуществления 5-FU вводят в комбинации с иринотеканом и лейковорином, с или без бевацизумаба (FOLFIRI с или без бевацизумаба), при этом 5-FU вводят в дозе 400 мг/м², в/в болюс в день 1, затем 5-FU 1200 мг/м²/день в дни 1 и 2 путем непрерывной в/в инфузии (HBB) (общая инфузионная доза 2400 мг/м² в течение 46 часов) на протяжении циклов 1 и 2. При отсутствии токсичности выше степени 1 инфузионную дозу 5-FU можно повышать до 3000 мг/м² для всех последующих циклов.

30 **[0468]** В некоторых вариантах осуществления 5-FU вводят в комбинации с лейковорином и оксалиплатином, с или без бевацизумаба (FOLFOX4 с или без бевацизумаба), при этом 5-FU вводят в дозе 400 мг/м², в/в болюс в течение 2–4 минут, потом 5-FU 600 мг/м² непрерывной в/в инфузии (HBB) в течение 22 часов в день 1. Перед болюсом 5-FU в день 1 вводят оксалиплатин, 85 мг/м², в/в, и лейковорин, 200 мг/м², в/в (оба в течение 120 минут с помощью Y-site). При применении FOLFOX4 плюс бевацизумаб, бевацизумаб, 10 мг/кг в/в, вводят в течение 30–90 минут перед химиотерапией в день 1. В день 2 повторяют схему

лейковорин, 200 мг/м² в/в, в течение 2 часов, потом 5-FU 400 мг/м², в/в болюс, потом 5-FU 600 мг/м² НВВ в течение 22 часов. Порядок введения: бевацизумаб, потом оксалиплатин и лейковорин, потом 5-FU. Эту 2-дневную схему повторяют каждые 2 недели до наблюдаемых прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности.

[0469] В некоторых вариантах осуществления капецитабин вводят в качестве адъюванта после хирургического вмешательства (монотерапия) в дозе 1,25 г/м² дважды в день в течение 14 дней, а последующие курсы повторяют после 7-дневного интервала с рекомендованной продолжительностью лечения 6 месяцев, при этом дозу корректируют в соответствии с переносимостью.

[0470] В некоторых вариантах осуществления капецитабин вводят в качестве адъюванта после хирургического вмешательства (комбинированная терапия) в дозе 0,8–1 г/м² дважды в день в течение 14 дней, а последующие курсы повторяют после 7-дневного интервала с рекомендованной продолжительностью лечения 6 месяцев, при этом дозу корректируют в соответствии с переносимостью.

[0471] В некоторых вариантах осуществления капецитабин вводят в дозе 1,25 г/м² дважды в день в течение 14 дней, а последующие курсы повторяют после 7-дневного интервала, при этом дозу корректируют в соответствии с переносимостью.

[0472] В некоторых вариантах осуществления капецитабин вводят в дозе 0,8–1 г/м² дважды в день в течение 14 дней, а последующие курсы повторяют после 7-дневного интервала, при этом дозу корректируют в соответствии с переносимостью.

[0473] В некоторых вариантах осуществления капецитабин вводят в комбинации со схемой на основе платины, при этом капецитабин вводят в дозе 0,8–1 г/м² дважды в день в течение 14 дней, а последующие курсы повторяют после 7-дневного интервала, или, в альтернативном варианте, вводят в дозе 625 мг/м² дважды в день непрерывно, при этом дозу корректируют в соответствии с переносимостью.

[0474] В некоторых вариантах осуществления метотрексат вводят перорально или внутримышечно в дозах 15–30 мг ежедневно в течение пятидневного курса. Такие курсы обычно повторяют 3–5 раз при необходимости.

[0475] В некоторых вариантах осуществления метотрексат вводят в дозе 10–25 мг/день перорально в течение 4–8 дней.

[0476] В некоторых вариантах осуществления метотрексат вводят в дозе 5–50 мг один раз в неделю. Уменьшение или прекращение приема дозы обусловлено ответом пациента и гематологическими показателями.

[0477] В некоторых вариантах осуществления метотрексат применяют в комбинации с другими агентами. В дополнительных вариантах осуществления помимо метотрексата в высокой дозе с резервным лейковорином, эти агенты могут включать доксорубин, цисплатин и комбинацию блеомицина, циклофосфида и дактиномицина (BCD). Начальная доза для лечения метотрексатом в высокой дозе составляет 12 г/м².

[0478] Следующие примеры включены, чтобы продемонстрировать некоторые варианты осуществления изобретения. При этом специалистам в данной области техники в свете настоящего изобретения станет понятно, что в конкретные описанные варианты осуществления можно вносить много изменений и при этом получать аналогичный или схожий результат, не отступая от сущности и объема изобретения.

ПРИМЕРЫ

[0479] Пример 1. Эффективность соединения А с 5-FU и анти-PD-1 антителом в мышинной сингенной модели MC-38.

[0480] **Обзор эксперимента.** Клетки рака толстой кишки MC38 подкожно имплантировали в правый бок самок мышей C57 Bl6/J и оставляли размножаться, пока они не достигали 80–100 мм³, после чего мышей рандомизировали в одну из девяти групп: Носитель, соединение А, 5-FU, соединение А + 5-FU, анти-PD-1, анти-PD-1 + соединение А, анти-PD-1 + 5-FU, тройная комбинация соединение А + 5-FU + анти-PD-1 и тройная комбинация соединение А + 5-FU + IgG (в качестве изотипического контроля для антитела). Животных обрабатывали 200 мг/кг соединения А (3 обработки каждые 8 часов в день 1), 75 мг/кг 5-FU, 300 мкг анти-PD-1 или IgG в зависимости от ситуации. В комбинированных схемах использовали комбинации таких же доз, которые использовали для терапии одним агентом, и вводили одновременно. Применяли два семидневных цикла обработки, и при этом до конца исследования измеряли объем опухолей и массу тела мышей как показатели противоопухолевой эффективности и переносимости обработки, соответственно. Конечные точки исследования были выбраны и определены в соответствии с Программой разработки терапевтических средств Национального института рака США (dtp.nci.nih.gov) и подробно описаны Holingshead в Journal of the National Cancer Institute (Melinda G. Hollingshead.

Antitumor Efficacy Testing in Rodents. J Natl Cancer Inst. 2008. 5; 100(21): 1500–1510).

1. Объем опухолей в мм³ в каждой группе на момент завершения исследования

2. Масса тела мышей в каждой группе на момент завершения исследования

[0481] Соблюдение норм в исследовании. Это исследование проводили в соответствии с руководствами департамента здравоохранения, социального обеспечения и общественной безопасности (NI) (DHSSPS) и в соответствии с Университетским комитетом по благополучию животных и этической экспертизе (AWERB) согласно разрешению на проведение проекта от DHSSPS по вышеупомянутой статье. Все процедуры представленного исследования проводят в соответствии с руководствами, приведенными в Animals (Scientific Procedures) Act 1986 (ASPA) и последующих изменениях. Здоровые самки мышей C57 Bl6/J (возрастом 6–8 недель) массой 17–20 г были закуплены у Envigo (Cambridgeshire, UK). В каждой клетке содержали по четыре мыши. Температуру и влажность поддерживали при 22 ± 3 °C и 40-70 %, соответственно, и записывали с помощью автоматически контролируемой системы регистрации данных. Освещение контролировали так, чтобы обеспечить цикл 12 ч свет и 12 ч темнота. Всех животных держали на стандартном рационе для грызунов *ad libitum*. Воду, обработанную ультрафиолетовым светом, обеспечивала система с обратным осмосом *ad libitum*. Животным давали одну неделю на акклиматизацию.

[0482] Выбор животной модели. Самки *Mus musculus* линии C57 Bl6/J возрастом 6–8 недель и с массой тела $18 \pm 2,5$ грамма были приобретены у Envigo (Cambridgeshire, UK).

[0483] Отбор и получение модели линии клеток. Сингенная мышьяная линия клеток рака толстой кишки MC38 была получена от NCI. Клетки обрабатывали в соответствии с установленным стандартными рабочими процедурами. Вкратце, клетки культивировали и размножали в увлажненных инкубаторах при 5 % CO₂ до момента, когда становились доступными приблизительно 10⁸ клеток. За день до имплантации аллотрансплантата из всех колб выделяли клеточную культуральную среду и проводили скрининг в отношении микоплазмы с подтверждением отрицательного результата.

[0484] Имплантация опухолевых клеток. В день имплантации опухолевых клеток клетки собирали в ледяной ФСБ, подсчитывали и суспендировали в концентрации 1×10^7 клеток/мл в препарате для имплантации. Аллотрансплантаты

прививали посредством инъекции 1×10^6 клеток в объеме 100 μ л ледяного ФСБ, содержащего 50 % матригеля (Corning), используя стерильную иглу 27 калибра (Becton Dickinson).

[0485] Процедура составления и подготовки лекарственного препарата.

5 FU (Sigma Aldrich, > 99 %) взвешивали и суспендировали соответствующую массу в 0,9 % NaCl при концентрации состава 7,5 мг/мл. Для получения раствора 5-FU была необходима повторная обработка на вортексе, а после полного растворения его стерильно фильтровали через 0,22 μ м водную фильтровальную мембрану (Millipore). Пероральный состав соединения А готовили

10 непосредственно перед применением. Все реагенты поставляют стерильными или стерильно фильтруют и предварительно нагревают до 37°C. Состав состоял из соответствующего количества соединения А в 7,5 % NMP, 10 % солютола HS-15, 30 % ПЭГ-400 и 52,5 % солевого раствора с получением состава с концентрацией 13,3 мг/мл (все процентные значения представляют общее

15 масс./об.; следует отметить, что 60 % ПЭГ-400 представляет собой 50 % раствор в солевом растворе и, таким образом, составляет в целом 30 % чистого ПЭГ-400 в составе), Полученный в результате раствор смешивали на вортексе и держали при 37°C до применения. Клон анти-PD-1 (CD279) RMPI-14 (BioXcell; номер партии: 717919M1; концентрация: 7,18 мг/мл; чистота: > 95 %) и изотипический

20 контроль IgG2a, клон 2A3 (BioXcell; номер партии: 716718O1; концентрация: 8,56 мг/мл; чистота: > 95 %) готовили в виде состава с концентрацией 1,5 мг/мл в солевом растворе (0,9 % масс./об. в NaCl) и вводили при 15 мг/кг (~ 300 мкг/мышь) в объеме дозы 10 мл/кг.

[0486] Рандомизация и введение дозы.

25 рандомизировали в девять групп по восемь мышей в каждой группе. Обработку начинали, когда средний объем опухолей во всех группах находился в пределах $100 \text{ мм}^3 \pm 20 \text{ мм}^3$. в/б инъекции проводили, используя иглу Becton Dickinson 30 калибра, а введение через желудочный зонд проводили, используя искривленную иглу для зонда из нержавеющей стали 20 калибра (Fine Science Tools). Схема

30 обработки состояла из двух циклов, разделенных семью днями, при этом обработку проводили в день 1 каждого цикла. Все агенты вводили независимо за исключение животных, получавших комбинации, которые включали 5-FU и анти-PD-1 или IgG (оба в/б путем). Эти агенты вводили в комбинированном препарате из обоих соединений в солевом растворе, при этом общий вводимый объем

35 оставался таким же, как и в случае монотерапии.

1. Животным из группы 1 вводили солевой раствор носителя путем в/б инъекции один раз в день и носитель перорально (7,5 % NMP, 10 % солютола HS-15, 30 % ПЭГ-400 и 52,5 % солевого раствора).
2. Животным из группы 2 вводили соединение А в дозе 200 мг/кг п/о при 15 мл/кг, 3 дозы за период 24 часа в день 1 каждого цикла.
3. Животным из группы 3 вводили 5-FU в дозе 75 мг/кг в/б при 10 мл/кг в день 1 цикла одновременно с первой дозой соединения А.
4. Животным из группы 4 совместно вводили 5-FU и соединение А, как описано выше.
5. Животным из группы 5 вводили 300 мкг анти-PD-1 при 10 мл/кг в/б в день 1 цикла.
6. Животным из группы 6 вводили комбинацию 300 мкг анти-PD-1 и соединения А, как описано выше.
7. Животным из группы 7 вводили анти-PD-1 и 5-FU, как описано выше.
8. Животным из группы 8 вводили тройную комбинацию соединения А, 5-FU и анти-PD-1, как описано выше.
9. Животным из группы 9 вводили тройную комбинацию соединения А, 5-FU и IgG вместо анти-PD-1.

[0487] Анализ эффективности и токсичности и сбор биообразцов. Опухоли измерял один и тот же исследователь 3 раза в неделю в течение исследования с помощью цифрового штангенциркуля, а объем опухолей рассчитывали, используя модифицированное эллипсоидное уравнение $1/2(\text{длина} \times \text{ширина}^2)$, и выражали в мм^3 . Животных считали достигшими окончания исследования и умерщвляли, когда объем опухолей достигал $1000 \text{ мм}^3 \pm 100 \text{ мм}^3$. Массу тела мышей измеряли 3 раза в неделю, используя цифровые весы Ohaus TA301, как общий показатель токсичности и/или общего физического состояния. Также животных ежедневно осматривали на предмет аномального поведения и/или любого ухудшения физического состояния. Обе конечные точки эффективности и массы тела мышей статистически анализировали с помощью двухфакторного ANOVA (Graphpad, Prism 6.0) и критерия множественного сравнения, где значимым считали $p < 0,05$. В конце жизни или при завершении исследования вырезали опухоли у каждого животного и делали срезы. Одну половину фиксировали в формалине и после этого заливали парафином. Небольшой фрагмент края другой половины помещали в RNA Later при 4 °C на ночь перед переносом в условия 80 °C, остаток моментально замораживали на сухом льду

перед переносом в условия 80 °C. Опухоли, которые регрессировали до $< 50 \text{ мм}^3$, обрабатывали только в отношении гистологии из-за недостатка ткани.

[0488] *Результаты*

[0489] **Противоопухолевая эффективность.** Комбинация соединения А + 5-

5 FU + анти-PD-1 приводила к значимому улучшению противоопухолевой эффективности по сравнению со всеми другими группами обработки, включая все другие комбинации 5-FU и анти-PD-1 (Фиг. 1). Комбинация соединения А + 5-FU + анти-PD-1 была единственной группой обработки, которая приводила к полному ингибированию роста опухолей в дни от 1 до 19; все другие группы обработки

10 демонстрировали увеличение среднего объема опухолей в течение этого периода (однофакторный ANOVA в день 19 = $p < 0,0001$ с критерием множественного сравнения Тьюки: $p < 0,05$ и $0,001$ при сравнении соединения А + 5-FU + анти-PD-1 с 5-FU + анти-PD-1 в день 19). В конце исследования 6 из 8 животных в группе соединения А + 5-FU + анти-PD-1 оставались живыми (не

15 достигли максимального допустимого объема опухолей) по сравнению с 4 из 8 в группе обработки 5-FU + анти-PD-1. Все животные в остальных 7 группах обработки достигли максимального допустимого объема опухолей и были удалены из исследования до окончания исследования (день 29). В группе обработки 5-FU + анти-PD-1 у одного животного наблюдалась полная регрессия с

20 отсутствием пальпируемой опухоли (Фиг. 2, группа 7). В группе обработки соединением А + 5-FU + анти-PD-1 у 4 животных были минимальные признаки остаточных опухолей или воспаленной ткани с объемами опухолей $< 40 \text{ мм}^2$ (Фиг. 2, группа 8). Поскольку объем опухолей для этих животных оставался исключительно низким и не увеличивался в течение > 2 недель после последней

25 обработки и при удалении в конце исследования, биообразцы не напоминали опухолевую ткань, а удаленные образцы были отосланы для независимого гистопатологического анализа. Независимый гистопатологический анализ подтвердил, что у этих 4 животных из группы обработки соединением А + 5-FU + анти-PD-1 отсутствовала остаточная жизнеспособная опухолевая ткань, и были

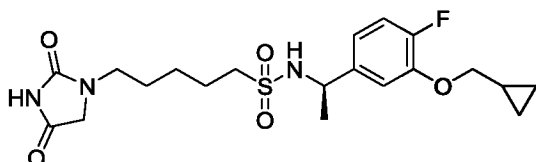
30 лишь признаки наличия фиброзной ткани; этих 4 животных отнесли к категории полного ответа. Эти неожиданные результаты демонстрируют удивительную синергетическую противоопухолевую эффективность комбинации ингибитора дУТФазы, ингибитора биосинтеза тимидилата и иммунотерапевтического агента.

[0490] **Масса тела мышей как общий показатель токсичности.** Все варианты

35 обработки были хорошо переносимыми. Нежелательные явления, признаки стресса или дискомфорта на протяжении исследования отсутствовали.

Отсутствовала статистически значимая разница между средними значениями по каждой группе лечения на протяжении исследования (однофакторный ANOVA $p = n/3$; Фиг. 3). Во всех группах обработки наблюдали увеличение массы тела в течение времени, которое каждая из групп обработки находилась в исследовании, перед достижением максимального допустимого объема опухолей и удаления из исследования (Фиг. 3).

[0491] Соединение А представляет собой



[0492] Пример 2. Исследование биомаркеров для оценки соединения А с 5-FU и анти-PD-1 антителом в мышинной сингенной модели MC-38.

[0493] Обзор эксперимента. Клетки рака толстой кишки MC38 подкожно имплантировали в правый бок самок мышей C57 Bl6/J и оставляли размножаться, пока они не достигали 80–100 мм³, после чего мышей рандомизировали в одну из восьми групп ($n = 8$ на группу): Носитель, соединение А, 5-FU, соединение А + 5-FU, анти-PD-1, анти-PD-1 + соединение А, анти-PD-1 + 5-FU, тройная комбинация соединение А + 5-FU + анти-PD-1. Животных обрабатывали 200 мг/кг соединения А (3 обработки каждые 8 часов в день 1), 75 мг/кг 5-FU, 300 мкг анти-PD-1 или IgG в зависимости от ситуации. В комбинированных схемах использовали комбинации таких же доз, которые использовали для терапии одним агентом, и вводили одновременно. Проводили два семидневных цикла обработки, разделенных одной неделей. Каждую группу обработки из 8 животных делили на 2 группы, одну группу умерщвляли для сбора биообразцов в день 4 (48 часов после обработки в цикле 1), а оставшихся 4 животных умерщвляли в день 10 через 48 часов после обработки в цикле 2. Первичными конечными точками исследования был гистопатологический и иммуногистохимический анализ маркеров иммунной инфильтрации из фиксированных формалином и залитых парафином образцов опухолей, удаленных в день 4 (48 часов после обработки в цикле 1) и день 10 (48 часов после обработки в цикле 2). Вторичные конечные точки включали объем опухолей и массу тела мышей как общие показатели противоопухолевой эффективности и переносимости обработки, соответственно.

[0494] Соблюдение норм в исследовании. Это исследование проводили в соответствии с руководствами департамента здравоохранения, социального обеспечения и общественной безопасности (NI) (DHSSPS) и в соответствии с Университетским комитетом по благополучию животных и этической экспертизе

(AWERB) согласно разрешению на проведение проекта от DHSSPS по вышеупомянутой статье. Все процедуры представленного исследования проводят в соответствии с руководствами, приведенными в Animals (Scientific Procedures) Act 1986 (ASPA) и последующих изменениях. Здоровые самки мышей C57 Bl6/J (возрастом 6–8 недель) массой 17–20 г были закуплены у Envigo (Cambridgeshire, UK). В каждой клетке содержали по четыре мыши. Температуру и влажность поддерживали при 22 ± 3 °C и 40-70 %, соответственно, и записывали с помощью автоматически контролируемой системы регистрации данных. Освещение контролировали так, чтобы обеспечить цикл 12 ч свет и 12 ч темнота. Всех животных держали на стандартном рационе для грызунов *ad libitum*. Воду, обработанную ультрафиолетовым светом, обеспечивала система с обратным осмосом *ad libitum*. Животным давали одну неделю на акклиматизацию.

[0495] Выбор животной модели. Самки *Mus musculus* линии C57 Bl6/J возрастом 6–8 недель и с массой тела $18 \pm 2,5$ грамма были приобретены у Envigo (Cambridgeshire, UK).

[0496] Отбор и получение модели линии клеток. Сингенная мышьяная линия клеток рака толстой кишки MC38 была получена от NCI. Клетки обрабатывали в соответствии с установленным стандартными рабочими процедурами. Вкратце, клетки культивировали и размножали в увлажненных инкубаторах при 5 % CO₂ до момента, когда становились доступными приблизительно 10^8 клеток. За день до имплантации аллотрансплантата из всех колб выделяли клеточную культуральную среду и проводили скрининг в отношении микоплазмы с подтверждением отрицательного результата.

[0497] Имплантация опухолевых клеток. В день имплантации опухолевых клеток клетки собирали в ледяной ФСБ, подсчитывали и суспендировали в концентрации 1×10^7 клеток/мл в препарате для имплантации. Аллотрансплантаты прививали посредством инъекции 1×10^6 клеток в объеме 100 μ л ледяного ФСБ, содержащего 50 % матригеля (Corning), используя стерильную иглу 27 калибра (Becton Dickinson).

[0498] Процедура составления и подготовки лекарственного препарата. 5-FU (Sigma Aldrich, > 99 %) взвешивали и суспендировали соответствующую массу в 0,9 % NaCl при концентрации состава 7,5 мг/мл. Для получения раствора 5-FU была необходима повторная обработка на вортексе, а после полного растворения его стерильно фильтровали через 0,22 μ м водную фильтровальную мембрану (Millipore). Пероральный состав соединения А готовили

непосредственно перед применением. Все реагенты поставляют стерильными или стерильно фильтруют и предварительно нагревают до 37°C. Состав состоял из соответствующего количества соединения А в 7,5 % NMP, 10 % солютола HS-15, 30 % ПЭГ-400 и 52,5 % солевого раствора с получением состава с концентрацией 13,3 мг/мл (все процентные значения представляют общее масс./об.; следует отметить, что 60 % ПЭГ-400 представляет собой 50 % раствор в солевом растворе и, таким образом, составляет в целом 30 % чистого ПЭГ-400 в составе), Полученный в результате раствор смешивали на вортексе и держали при 37°C до применения. Клон анти-PD-1 (CD279) RMPI-14 (BioXcell; номер партии: 717919M1; концентрация: 7,18 мг/мл; чистота: > 95 %) готовили в виде состава с концентрацией 1,5 мг/мл в солевом растворе (0,9 % масс./об. в NaCl) и вводили при 15 мг/кг (~ 300 мкг/мышь) в объеме дозы 10 мл/кг.

[0499] Рандомизация и введение дозы. Шестьдесят четырех мышей взвешивали и рандомизировали в восемь групп по восемь мышей в каждой группе. Обработку начинали, когда средний объем опухолей во всех группах находился в пределах $100 \text{ мм}^3 \pm 20 \text{ мм}^3$. в/б инъекции проводили, используя иглу Becton Dickinson 30 калибра, а введение через желудочный зонд проводили, используя искривленную иглу для зонда из нержавеющей стали 20 калибра (Fine Science Tools). Схема обработки состояла из двух циклов, разделенных семью днями, при этом обработку проводили в день 1 каждого цикла. Все агенты вводили независимо за исключением животных, получавших комбинации, которые включали 5-FU и анти-PD-1 или IgG (оба в/б путем). Эти агенты вводили в комбинированном препарате из обоих соединений в солевом растворе, при этом общий вводимый объем оставался таким же, как и в случае монотерапии.

1. Животным из группы 1 вводили солевой раствор носителя путем в/б инъекции один раз в день и носитель перорально (7,5 % NMP, 10 % солютола HS-15, 30 % ПЭГ-400 и 52,5 % солевого раствора).
2. Животным из группы 2 вводили соединение А в дозе 200 мг/кг п/о при 15 мл/кг, 3 дозы за период 24 часа в день 1 каждого цикла.
3. Животным из группы 3 вводили 5-FU в дозе 75 мг/кг в/б при 10 мл/кг в день 1 цикла одновременно с первой дозой соединения А.
4. Животным из группы 4 совместно вводили 5-FU и соединение А, как описано выше.
5. Животным из группы 5 вводили 300 мкг анти-PD-1 при 10 мл/кг в/б в день 1 цикла.

6. Животным из группы 6 вводили комбинацию 300 мкг анти-PD-1 и соединения А, как описано выше.
7. Животным из группы 7 вводили анти-PD-1 и 5-FU, как описано выше.
8. Животным из группы 8 вводили тройную комбинацию соединения А, 5-FU и анти-PD-1, как описано выше.

[0500] Сбор биообразцов, анализ эффективности и массы тела. В день 4 исследования половину мышей из каждой группы обработки умерщвляли одобренным для графика 1 методом асфиксии CO₂ с последующей цервикальной дислокацией. После подтверждения прекращения сердцебиения и дыхания вырезали опухоли, делали срезы и фиксировали формалином с последующей заливкой парафином. Небольшой фрагмент края помещали в RNA Later при 4 °C на ночь перед переносом в условия 80 °C. Всех оставшихся мышей умерщвляли в день 10 исследования. Опухоли вырезали, делали срезы и фиксировали формалином для заливки парафином. Хотя это исследование не было статистически предназначено для определения противоопухолевой эффективности, объем опухолей (мм³) дважды в неделю (день 4 и день 10) в течение исследования измерял один и тот же исследователь с помощью цифрового штангенциркуля и рассчитывал, используя модифицированное эллипсоидное уравнение $1/2(\text{длина} \times \text{ширина}^2)$. Массу тела мышей также измеряли 3 раза в неделю, используя цифровые весы Ohaus TA301, как общий показатель токсичности и/или общего физического состояния. Также животных ежедневно осматривали на предмет аномального поведения и/или любого ухудшения физического состояния.

[0501] Гистологический и иммуногистохимический анализ

[0502] Биообразцы были направлены в Учебный центр точной медицины (ЦТМ) Королевского университета Белфаста для гистологического и иммуногистохимического анализа. Все эксперты не имели информации о дизайне эксперимента (включая моменты времени и лечебные вмешательства) и принадлежности всех образцов, отличных от образцов ткани (мышинного) происхождения для контроля качества и в целях валидации. Шестьдесят четыре фиксированных формалином и залитых парафином (ФФЗП) образца из сингенной мышинной модели обрабатывали в ФФЗП-блоки, делали срезы по 5 мкм и окрашивали CD3, CD4, CD8 и CD45, используя модуль Leica Research, клон первичного антитела LN10 (Leica), а выявление проводили, используя набор Leica Refine DAB с контрокрашиванием гематоксилином. Окрашивание CD3, CD4, CD8 и CD45 проводили в соответствии с PMC Analytical SOP. Слайды

сканировали на сканере Aperio T2 в формат изображений .svs (Leica Biosystems). QuPath v0.1.2 использовали для количественного определения популяций клеток CD4, CD3, CD8 и CD45 в периферических и внутриопухолевых областях. Внутриопухолевые и периферические иммунные области интереса (ОИ) идентифицировали, используя программное обеспечение QuPath для визуализации, для периферических иммунных ОИ брали в среднем 500 мкм с любой стороны инвазивных опухолевых областей. Индивидуальные площади ОИ варьировались в зависимости от образца. Рассчитывали среднее значение для соответствующих категорий ОИ. Использовали пороговые значения оптической плотности 0,3 DAB и проводили контроль качества областей для идентификации иммунных клеток перед анализом. Этот порог был определен патологом (MST) как наиболее точный при определении плотности положительных CD4, CD3, CD8 или CD45 клеток в предыдущей работе, поданной и находящейся на рассмотрении. Результаты выражали как плотность CD4, CD3, CD8 или CD45 положительных клеток на мм². В случаях нескольких ОИ для каждого образца определяли среднее значение. Средние данные были представлены в формате таблицы Excel.

[0503] Результаты

[0504] Гистопатологические и иммуногистохимическое профилирование иммунных маркеров демонстрирует веские доказательства, что соединение А повышает иммунную инфильтрацию опухоли в комбинации с 5-FU и анти-PD-1 антителом.

[0505] Чтобы определить влияние обработки на содержание иммунных клеток в выделенных опухолевых клетках, использовали гистопатологию и иммуногистохимию для оценки и количественного определения ключевой разницы в соотношении опухолевого содержания и фиброзной ткани и численности ключевых популяций иммунных клеток. Чтобы оценить все лейкоциты, присутствующие в опухолевых образцах, исследовали CD45+. Чтобы оценить популяции Т-клеток, исследовали CD3+, CD8+ и CD4+.

[0506] Комбинация соединения А с 5-FU и анти-PD-1 антителом значительно снижала процент опухолевой ткани в сравнении с фиброзной тканью в опухолях, удаленных у животных в день 10 исследования, по сравнению с контролем носителем (Фиг. 4; $p < 0,0001$ как для опухолевого содержания, так и для фиброзной ткани по сравнению с контролем носителем). По сравнению с 5-FU + анти-PD-1 комбинация соединения А + 5-FU + анти-PD-1 имела значительно большее отношение фиброзной ткани к опухолевому содержанию (Фиг. 4;

$p < 0,001$ как для опухолевого содержания, так и для фиброзной ткани согласно критерию множественного сравнения). Иммуногистохимический анализ инфильтрации Т-клеток продемонстрировал очень значительное увеличение числа CD8+ клеток по сравнению с контролем носителем (Фиг. 5; $p < 0,0001$) и по сравнению со всеми другими группами обработки (Фиг. 5; $p < 0,0001$), и при этом комбинация соединения А + 5-FU + анти-PD-1 приводила к 838 % увеличению числа CD8+ клеток на мм^2 по сравнению с 5-FU + анти-PD-1 (Фиг. 5; $p < 0,0001$). Аналогичный профиль наблюдали для CD4+ клеток, когда соединение А + 5-FU + анти-PD-1 имело большую плотность CD4+ клеток на мм^2 по сравнению со всеми другими группами обработки. По сравнению с 5-FU + анти-PD-1 комбинация соединения А + 5-FU + анти-PD-1 повышала инфильтрацию CD4+ клеток на 215 % (Фиг. 6). Комбинация соединения А + 5-FU + анти-PD-1 была единственной группой обработки, которая давала статистически значимое повышение внутриопухолевой плотности CD3+ клеток на мм^2 (Фиг. 7, $p < 0,01$), при этом все другие группы обработки демонстрировали значительное повышение по сравнению с контролем носителем ($p < 0,05$). CD45+ клетки (лейкоциты) количественно оценивали как общий показатель инфильтрации иммунных клеток. Комбинация соединения А + 5-FU + анти-PD-1 антитело демонстрировала наибольшую внутриопухолевую плотность CD45+ клеток на мм^2 по сравнению с контролем носителем ($p < 0,01$) и всеми другими группами обработки (Фиг. 8). По сравнению с 5-FU + анти-PD-1 антитело комбинация соединения А + 5-FU + анти-PD-1 антитело давала 69 % увеличение количества внутриопухолевых клеток, положительных в отношении CD45+ (Фиг. 8).

[0507] Вместе эти данные неожиданно демонстрируют, что ингибитор дУТФазы (например, соединение А) приводит к значительному повышению инфильтрации как цитотоксических, так и регуляторных Т-клеток (по данным измерения CD8+ CD4+ и CD3+), лейкоцитов (по данным измерения CD45+) в опухолевой ткани в комбинации с ингибитором биосинтеза тимидилата (например, 5-FU) + иммунотерапевтический агент (например, анти-PD-1 антитело). Кроме того, уменьшение количества остающейся опухолевой ткани в комбинации с увеличением количества фиброзной ткани указывает на более сильный иммунологический ответ в опухоли, который приводит к усиленному искоренению опухолевой ткани и повышению уровней фиброзной ткани в результате заживления после иммунного разрушения опухолевых клеток.

[0508] Объем опухоли как показатель противоопухолевой эффективности и масса тела мышей как общий показатель токсичности. Хотя исследование

не было разработано или предназначено для выявления значимой разницы в противоопухолевой эффективности, комбинация соединения А + 5-FU + анти-PD-1 была единственной группой, которая приводила к уменьшению объема опухолей в день 4 и день 10 и демонстрировала значительное улучшение ингибирования роста опухолей по сравнению со всеми другими группами обработки, включая все другие комбинации 5-FU и анти-PD-1 (Фиг. 9; однофакторный ANOVA в день 4 и день 10 = $p < 0,0001$ с критерием множественного сравнения Тьюки: $p < 0,001$, когда соединение А + 5-FU + анти-PD-1 сравнивают с носителем). Все варианты обработки были хорошо переносимыми. Нежелательные явления, признаки стресса или дискомфорта в продолжение исследования отсутствовали. Хотя исследование не было разработано для выявления значимой разницы в массе тела с высокой статистической мощностью, все равно наблюдали статистически значимое увеличение массы тела между группой носителя и всеми другими группами обработки в дни 4 или 10 (однофакторный ANOVA с критерием множественного сравнения Даннета). Во всех группах обработки наблюдали увеличение массы тела в течение времени, которое каждая группа находилась в исследовании (Фиг. 10).

[0509] Пример 3: Модуляция клеточной и поверхностной экспрессии PD-L1 в различных моделях линий раковых клеток комбинацией соединения А и FUdR

[0510] Обзор эксперимента. Лиганд белка программируемой гибели клеток 1 (PD-L1) представляет собой трансмембранный белок типа 1, который играет основную роль в подавлении врожденного и адаптивного ответвлений иммунной системы. Путь PD-1/PD-L1 представляет механизм адаптивной иммунной резистентности, демонстрируемый опухолевыми клетками в ответ на эндогенную противоопухолевую активность, и является общепризнанной терапевтической мишенью в противораковой терапии. Раковые клетки обрабатывали контрольным носителем (ДМСО), одним фторпиримидином FUdR (также известным как флоксуридин), одним соединением А или комбинацией соединения А и FUdR и измеряли уровень экспрессии белка иммунных контрольных точек PD-L1 методами вестерн-блоттинга и проточной цитометрии и сравнивали с контролем. Линии клеток, которые оценивали в отношении общей экспрессии белка PD-L1 методом вестерн-блоттинга, включали клетки рака поджелудочной железы PANC-1; клетки немелкоклеточного рака легкого H460; клетки колоректального рака HCT116; клетки рака молочной железы MCF-7; клетки меланомы MeWo. Две

линии клеток дополнительно анализировали в отношении PD-L1 клеточной поверхности методом проточной цитометрии, MCF-7 и PANC-1.

[0511] Вестерн-блоттинг. Клетки культивировали в присутствии указанных концентраций соединения А, 5-фтордезоксисуридина (FUdR) или комбинации их
 5 обоих в клеточных культуральных планшетах Р100 в течение 12 или 24 часов. В конце указанных моментов времени клетки соскребали в ФСБ, содержащий NaF и Na_3VO_4 , осаждали путем центрифугирования, промывали ФСБ и снова осаждали. Затем клеточный осадок моментально замораживали в жидком азоте и хранили при -80°C , если они были предназначены для обработки позже. Клеточный
 10 осадок размораживали и лизировали буфером RIPA, содержащим ингибиторы протеазы и фосфатазы (HALT™), на льду в течение 40 минут. Затем клетки физически лизировали, используя иглу 21 калибра и шприц с последующим центрифугированием (13200 об/мин). Концентрацию выделенного супернатанта определяли с помощью анализа BCA на микропланшетном ридере CLARIOstar и
 15 денатурировали необходимый объем цельноклеточного лизата путем добавления буфера для образца, концентрата Laemmli 2× с последующим кипячением при 95°C в течение 5 мин. Каждый образец загружали вместе с предварительно окрашенным белковым лэддером PageRuler™ в изготовленный вручную 10 % акриламидный гель или готовый 10 % белковый гель Mini-
 20 PROTEAN® TGX Stain-Free™ с последующим ДСН-ПААГ при 30 А на гель в Трис-глицериновом подвижном буфере ДСН. Проводили электроперенос белков на ПВДФ мембраны (0,45 мкм), используя систему для переноса Trans-blot® Turbo™ или мини-систему для влажного переноса Trans-Blot®, при 100 вольтах в течение 70 минут в Трис-глицериновом буфере для переноса. ПВДФ блокировали в 5 %
 25 молоке (приготовленном в ФСБ – 0,1 % ТВИН®-20). Иммуноблоты инкубировали сначала с антителом к PD-L1, а потом с β -актином в качестве загрузочного контроля. После первичной инкубации иммуноблоты промывали в ФСБ – 0,1 % ТВИН®-20 в течение 3 x 10 минут и инкубировали со вторичным HRP-конъюгированным антителом при комнатной температуре в течение 2 часов.
 30 После инкубации иммуноблоты промывали, как и до этого, и добавляли 2 мл субстрата HRP к каждому иммуноблоту перед визуализацией на GBOX Chemi XX6. Изображения анализировали в ImageJ, чтобы получить значения относительной плотности PD-L1, которые нормализовали к относительной плотности загрузочного контроля. После завершения первичного получения
 35 изображений готовые гели и соответствующие иммуноблоты дополнительно визуализировали в отношении общего белка в качестве показателя контроля

качества после УФ-индуцированной 1-минутной реакции с испусканием флуоресценции. Приготовленные вручную иммуноблоты окрашивали раствором Ронсеау S и визуализировали для оценки общего белка.

[0512] Клеточная поверхностная проточная цитометрия. Клетки высевали в

6-луночные планшеты и оставляли для прикрепления на ночь. Среду удаляли и замещали средой, содержащей указанные концентрации соединения A, FUdR или комбинации их обоих, клетки положительного контроля обрабатывали IFN γ . Затем клетки инкубировали в течение 24 часов. В конце указанных моментов времени клетки промывали ФСБ и удаляли из планшетов, используя трипсин-ЭДТА. Клетки подсчитывали, промывали 300000 клеток в буфере для окрашивания и инкубировали с PD-L1 или антителом IgG на льду в течение 40 минут. Затем клетки дважды промывали в буфере для окрашивания, ресуспендировали в 300 мкл буфера для окрашивания и переносили в круглодонную пробирку BD Falcon™. Точечный график для FSC v SSC использовали для гейтинга популяции клеток и исключали двойные повторы на гистограмме FL-4 высоты от площади/ширины. Окрашенный изотипическим контрольным IgG образец использовали для идентификации положительно окрашенной популяции. Значения процентной доли положительной популяции и медианной интенсивности флуоресценции экспортировали и анализировали в Microsoft Excel и GraphPad Prism 6. Статистический анализ состоял из однофакторного ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки.

[0513] Результаты

[0514] Панель гетерогенных линий раковых клеток обрабатывали контрольным носителем (ДМСО), соединением A, FUdR и комбинацией соединения A и FUdR и анализировали экспрессию белка PD-L1 методом вестерн-блоттинга в отношении общей экспрессии PD-L1 и после этого — методом проточной цитометрии в отношении клеточной поверхностной экспрессии PD-L1. После обработки контрольным носителем или соединением A экспрессия PD-L1 оставалась неизменной во всех линиях клеток. Обработка 1 мкМ FUdR приводила к значительному повышению экспрессии PD-L1 в линиях клеток HCT116 (рак толстой кишки), MCF-7 (рак молочной железы), PANC-1 (рак поджелудочной железы) и Mewo (меланома) через 12 и 24 часа. Когда эти линии клеток обрабатывали 12,5 мкМ соединения A в комбинации с 1 мкМ FUdR, экспрессия PD-L1 была значительно снижена по сравнению с контролем и была значительно меньше наблюдаемой при обработке только 1 мкМ FUdR (Фиг. 11). При применении в комбинации с FUdR соединение A неожиданно проявляло

способность блокировать FdR-индуцированное повышение экспрессии PD-L1 в линиях клеток HCT116, PANC-1, MeWo и MCF-7 в дополнение к снижению экспрессии PD-L1 относительно исходных уровней в линии клеток H460, где уровень PD-L1 был высоким на исходном уровне, и обработка FdR не индуцировала его.

[0515] На основании наблюдаемого результата, когда было определено значительное повышение экспрессии PD-L1 с FdR и значительное снижение PD-L1 с комбинацией соединения A и FdR, две линии клеток, PANC-1 и MCF-7, были отобраны для дополнительного анализа. PD-L1 проявляет свой первичный иммуносупрессивный эффект при экспрессии на клеточной поверхности. Проводили проточную цитометрию для интактных клеток, чтобы определить клеточную поверхностную экспрессию PD-L1 после обработки контрольным носителем (DMCO), 12,5 мкМ соединения A, 1 мкМ FdR и комбинацией 12,5 мкМ соединения A и 1 мкМ FdR. Интерферона гамма (IFN- γ) использовали в качестве положительного контроля, который, как известно, стимулирует клеточную поверхностную экспрессию PD-L1 в клетках PANC-1. В клетках PANC-1, обработанных соединением A, экспрессия PD-L1 была такой же, как и в клетках, обработанных контрольным носителем. IFN- γ приводил к 7-кратному повышению клеточной поверхностной экспрессии PD-L1 по сравнению с контрольными клетками. Аналогично, обработка FdR приводила к приблизительно 10-кратному повышению клеточной поверхностной экспрессии PD-L1. Однако комбинация соединения A и FdR значительно не отличалась от контроля (Фиг. 12). Клеточная поверхностная экспрессия PD-L1 при обработке FdR в сравнении с соединением A + FdR характеризовалась высокой статистической значимостью ($p < 0,001$, однофакторный ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки). В клетках MCF-7 IFN- γ индуцировал небольшое повышение клеточной поверхностной экспрессии PD-L1 по сравнению с контрольными клетками, которое не было статистически значимым. После обработки соединением A не наблюдали значимой разницы в клеточной поверхностной экспрессии PD-L1. Обработка 1 мкМ FdR приводила к статистически значимому 4,7-кратному повышению клеточной поверхностной экспрессии PD-L1 по сравнению с контролем. Когда клетки обрабатывали комбинацией соединения A и FdR, наблюдали значительное снижение клеточной поверхностной экспрессии PD-L1 до не выявляемых уровней ниже контрольных клеток ($p < 0,001$, однофакторный ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки: $p < 0,001$, когда обработку FdR напрямую

сравнивали с обработкой соединением А + FUdR; Фиг. 12). При использовании с ингибитором биосинтеза тимидилата (например, FUdR) ингибитор дУТФазы (например, соединением А) неожиданно проявлял способность блокировать FUdR-индуцированное повышение клеточной поверхностной экспрессии PD-L1 в линиях раковых клеток HCT116 и PANC-1, поддерживая ее на уровнях, аналогичных, или снижая ее до ниже уровней обработанных носителем контрольных клеток.

[0516] Пример 4: Индукция пассивного высвобождения HMGB1 комбинацией соединения А и FUdR

[0517] **Обзор эксперимента.** Бокс высокомолекулярной группы 1 (HMGB1) представляет собой ядерный негистонный хроматин-связывающий белок. Высвобождение HMGB1 иммунными клетками или серьезно поврежденными раковыми клетками действует как иммуностимулирующий хемокин и представляет собой хорошо известный ассоциированный с повреждением молекулярный паттерн (DAMP). Высвобождение HMGB1 во время клеточной гибели является характерным для иммуногенной клеточной гибели, подкласса клеточной гибели, которая приводит к сильной стимуляции врожденного и после этого стимуляции адаптивных иммунных ответов. HMGB1 действует как подобный провоспалительному цитокину фактор и может образовывать гетерокомплексы с другими иммунными регуляторами. HMGB1 связывается с TLR, RAGE и CXCR4 на иммунных клетках, стимулируя хемотаксис и секрецию провоспалительных факторов. Клетки карциномы толстой кишки HCT116 и мезотелиомы JU77 обрабатывали контрольным носителем (ДМСО), 12,5 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR или комбинацией 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR в течение 24 часов и измеряли высвобождение HMGB1 во внеклеточную культуральную среду методом ELISA.

[0518] **Отбор и получение модели линии клеток.** Линия раковых клеток HCT116 была приобретена у ATCC. Линия клеток JU77 была любезным подарком от Dr Dan Longley, QUB. Клетки культивировали и размножали в увлажненных инкубаторах при 5 % CO₂ до момента, когда становилось доступным достаточное количество клеток.

[0519] **Получение лекарственного препарата и обработка.** Все препараты/соединения готовили в клеточной культуральной среде из 50 мМ замороженных исходных растворов непосредственно перед обработкой. Клетки высевали в 6-луночные культуральные планшеты и оставляли для прикрепления на ночь перед обработкой соединением А, FUdR или соединением А в

комбинации с FUDR. Дополнительные лунки обрабатывали доксорубицином, чтобы они служили в качестве положительного индуктора HMGB1. Через двадцать четыре часа после обработки среду аспирировали и центрифугировали (2500 об/мин, 5 мин при 4 °C) для удаления какого-либо клеточного дебриса.

- 5 Супернатант собирали для немедленной обработки или хранили при -80 °C для анализа позже.

[0520] Выявление высвобождения HMGB1. HMGB1 количественно

оценивали, используя набор HMGB1 ELISA (ST51011, IBL International).

Ферментный конъюгат (HMGB1, конъюгированный с пероксидазой) и стандарт

- 10 восстанавливали в 12 мл разбавителя для ферментного конъюгата и 1 мл

буфера для разведения, соответственно, и замораживали аликвоты при -80 °C до необходимости. Все реагенты и образцы доводили до комнатной температуры

непосредственно перед использованием. Получали стандартную кривую для

- 15 высокочувствительного диапазона выявления (0,313–10 нг/мл). В каждую лунку

микротитровального планшета пипетировали 50 мкл буфера для разведения. В

соответствующие лунки, определяемые устройством планшета, пипетировали 50

мкл стандарта, образца, положительного контроля или отрицательного контроля

- 20 (буфер для разведения) в двух повторах. Планшет покрывали адгезивной

фольгой и инкубировали при 37 °C в течение 20–24 часов на орбитальном

- 25 шейкере (450 об/мин). По истечению периода инкубации инкубационный раствор

сливали и промывали планшет (5 x 300 мкл на лунку). Избыток промывочного

буфера удаляли посредством переворачивания на бумажное полотенце. В

- каждую лунку добавляли 100 мкл ферментного конъюгата, планшет покрывали

адгезивной фольгой и инкубировали при 25 °C в течение 2 часов на орбитальном

- 30 шейкере (450 об/мин). После инкубации раствор сливали и промывали планшет,

как и до этого. Свежий цветной раствор готовили непосредственно перед

использованием и добавляли в каждую лунку по 100 мкл, используя

- 35 многоканальную пипетку. Затем планшет инкубировали в течение 30 минут при

комнатной температуре. Цветную реакцию останавливали путем пипетирования

100 мкл стоп-реагента в каждую лунку, используя многоканальную пипетку.

Планшет аккуратно встряхивали для смешивания, а задние стенки лунок

очищали, используя безворсовую ткань. Концентрацию HMGB1 определяли на

микропланшетном ридере CLARIOstar путем измерения поглощения на 450 нм,

используя референтное считывание на 640 нм. Данные экспортировали в

Microsoft Excel для обработки, а статистический анализ состоял из

однофакторного ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки, проводимым в GraphPad Prism 6.

[0521] Результаты

[0522] Когда клетки HCT116 обрабатывали только соединением А или FUdR, значимая разница в количестве внеклеточного HMGB1, выявленного в клеточной культуральной среде, отсутствовала. Когда клетки обрабатывали комбинацией 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR, концентрация HMGB1 в клеточной культуральной среде была повышена на 245 % по сравнению с контролем ($p < 0,01$) (Фиг. 13). Повышение HMGB1, наблюдаемое по сравнению с контролем для комбинации соединения А и FUdR, было схожим с доксорубицином, который повышал внеклеточный HMGB1 по сравнению с контролем на 213 % ($p < 0,01$). Соединение А неожиданно стимулировало внеклеточное высвобождение HMGB1 в комбинации с FUdR в линии клеток рака толстой кишки HCT116. Когда клетки JU77 обрабатывали только соединением А или FUdR, значимая разница в количестве внеклеточного HMGB1, выявленного в клеточной культуральной среде, отсутствовала. Когда клетки обрабатывали комбинацией 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR, концентрация HMGB1 в клеточной культуральной среде была повышена на 493 % по сравнению с контролем ($p < 0,01$) (Фиг. 14). В клетках JU77 доксорубицин не вызывал какого-либо значительного повышения HMGB1. Соединение А неожиданно стимулировало внеклеточное высвобождение HMGB1 в комбинации с FUdR в линии раковых клеток мезотелиомы JU77. Соответственно, было продемонстрировано, что комбинация ингибитора дУТФазы и ингибитора биосинтеза тимидилата неожиданно индуцирует высвобождение DAMP из раковой клетки.

[0523] Пример 5: Индукция клеточной поверхностной экспрессии кальретикулина комбинацией соединения А и FUdR

[0524] Обзор эксперимента. Опухолевые клетки, подвергающиеся иммуногенной клеточной гибели (ИКГ) испускают ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны (DAMP). ИКГ представляет собой подкласс клеточной гибели, которая приводит к сильной стимуляции врожденной иммунной системы и после этого — стимуляции адаптивных иммунных ответов. Клеточная поверхностная экспрессия кальретикулина во время гибели клеток является одной из нескольких общепризнанных характеристик DAMP иммуногенной клеточной гибели. Кальретикулин перемещается из эндоплазматического ретикула в клеточную мембрану, где он функционирует как мощный сигнал «съешь меня» для макрофагов и обуславливает перенос

опухолевых антигенов и, следовательно, иммуногенности гибели раковых клеток. Клетки карциномы поджелудочной железы PANC1 обрабатывали контрольным носителем (ДМСО), 6,25 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR или комбинацией 6,25 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR в течение 4 часов и определяли концентрацию

5 клеточного поверхностного кальретикулина методом проточной цитометрии.

[0525] Отбор и получение модели линии клеток. Линия клеток рака поджелудочной железы PANC1 была приобретена у ATCC. Клетки культивировали и размножали в увлажненных инкубаторах при 5 % CO₂ до момента, когда становилось доступным достаточное количество клеток.

10 **[0526] Получение лекарственного препарата и обработка.** Все препараты/соединения готовили в клеточной культуральной среде из 50 мМ замороженных исходных растворов непосредственно перед обработкой. Клетки высевали в 6-луночные планшеты и оставляли для прикрепления на ночь. Среду удаляли и заменяли средой, содержащей 6,25 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR

15 или комбинацию 6,25 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR. клетки положительного контроля обрабатывали 500 нмоль/л доксорубина. Затем клетки инкубировали в содержащей препарат среде течение 4 часов. В конце указанных моментов времени инкубации с препаратом клетки немедленно обрабатывали для выявления клеточного поверхностного кальретикулина методом проточной

20 цитометрии.

[0527] Выявление клеточного поверхностного кальретикулина. Количественное определение клеточного поверхностного кальретикулина проводили методом проточной цитометрии. В конце указанных моментов времени инкубации с препаратом клетки промывали ФСБ и удаляли из

25 планшетов, используя трипсин-ЭДТА. Клетки подсчитывали, промывали 300000 клеток в буфере для окрашивания и инкубировали с конъюгированным с Alexa Fluor 488 антителом к кальретикулину (D3E6) XP (Cell Signaling) или антителом IgG (антитело отрицательного контроля) на льду в течение 40 минут. Затем клетки дважды промывали в буфере для окрашивания, ресуспендировали в 300

30 мкл буфера для окрашивания и переносили в круглодонную пробирку BD Falcon™. Точечный график для FSC v SSC использовали для гейтинга популяции клеток и исключали двойные повторы на гистограмме FL-4 высоты от площади/ширины. Окрашенный изотипическим контрольным IgG образец использовали для корректной идентификации положительно окрашенной

35 популяции, в которой определяли медианную интенсивность флуоресценции. Значения медианной интенсивности флуоресценции экспортировали и

анализировали в Microsoft Excel и GraphPad Prism 6. Статистический анализ состоял из однофакторного ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки.

[0528] Результаты

5 **[0529]** Когда клетки PANC1 обрабатывали только соединением А или FUdR, значимая разница в количестве кальретикулина, выявленного на клеточной поверхности, отсутствовала. Когда клетки обрабатывали комбинацией 6,25 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR, клеточная поверхностная экспрессия кальретикулина была повышена на 700 % по сравнению с контролем ($p < 0,01$)

10 (Фиг. 15). Повышение количества клеточного поверхностного кальретикулина, наблюдаемое по сравнению с контролем для комбинации соединения А и FUdR, было большим, чем для доксорубина, который повышал количество клеточного поверхностного кальретикулина по сравнению с контролем на 450 % ($p < 0,05$, Фиг. 15). Соединение А неожиданно стимулировало клеточную поверхностную

15 экспрессию кальретикулина в комбинации с FUdR в линии клеток рака поджелудочной железы PANC1. Соответственно, было продемонстрировано, что комбинация ингибитора дУТФазы и ингибитора биосинтеза тимидилата неожиданно индуцирует высвобождение DAMP из раковой клетки.

[0530] Пример 6: Индукция высвобождения ядерной собственной ДНК в

20 цитоплазму комбинацией соединения А и FUdR.

[0531] Обзор эксперимента. Аберрантный метаболизм хозяйской ДНК в результате неудачного деления клеток или генотоксического стресса приводит к высвобождению ядерной ДНК в цитоплазму и является общепризнанным ассоциированным с повреждением молекулярным паттерном. Последующее

25 выявление цитоплазматической двухцепочечной ДНК (дцДНК) паттерн-распознающими рецепторами инициирует ряд сигналов врожденного иммунитета и биологических ответов. Линии клеток рака толстой кишки HCT116 и поджелудочной железы PANC-1 высевали на покровные стекла и обрабатывали контрольным носителем (ДМСО), 12,5 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR или

30 комбинацией 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR в течение 24 часов. Через 24 часа после обработки клетки фиксировали и окрашивали анти-дцДНК (двухцепочечная ДНК) антителом и ядерным красителем ДАФИ. Проводили выявление флуоресценции и получали изображения с помощью флуоресцентной микроскопии для количественной оценки уровней дцДНК в цитоплазме.

35 **[0532] Линии клеток, обработка препаратами и флуоресцентная микроскопия.** Клетки рака толстой кишки HCT116 и карциномы поджелудочной

железы PANC-1 (5×10^4) высевали на стеклянные покровные стекла в 24-луночных планшетах в релевантную среду. На следующий день среду для посева удаляли, заменяли содержащей препарат средой и инкубировали в течение 24 часов. Через 24 и 48 часов после обработки клетки фиксировали и обрабатывали.

5 Вкратце, клеточные мембраны пермеабилizировали, инкубировали с ФИТЦ-конъюгированным антителом к маркеру дцДНК (HYB331-01) от Santa Cruz Biotechnology, sc-58749 (разведение 1:500) и наносили на слайды с агентом от выгорания флуоресценции ProLong Gold с ДАФИ (Invitrogen P36931). Изображения получали на флуоресцентном микроскопе Nikon. Время экспозиции
10 было выбрано для ФИТЦ с использованием отрицательного и положительного контролей и поддерживалось постоянным на протяжении времени получения изображений. Изображения анализировали, используя программное обеспечение ImageJ. Ядра клеток идентифицировали, используя окрашивание ДАФИ. Интенсивность цитоплазматической дцДНК устанавливали путем количественной
15 оценки интенсивности окрашивания в области, непосредственно окружающей ядро. Программные настройки: Промежутки до кольца = 3 и размер кольца = 25 (Фиг. 16).

[0533] Результаты

[0534] Линию клеток рака толстой кишки HCT116 и линию клеток рака
20 поджелудочной железы PANC-1 обрабатывали контрольным носителем (ДМСО), 12,5 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR и комбинацией 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR в течение 24 часов и определяли наличие двухцепочечной ядерной собственной ДНК в цитоплазме с помощью иммунофлуоресцентной микроскопии. После обработки соединением А отсутствовала статистически значимая разница
25 в среднем относительном количестве цитоплазматической ДНК в клетках рака толстой кишки HCT116, обработанных 12,5 мкМ соединения А или 1 мкМ FUdR, по сравнению с обработанными контрольным носителем клетками. В отличие от этого, комбинация 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR приводила к статистически значимому 67 % повышению среднего количества
30 цитоплазматической ДНК по сравнению с обработанным носителем контролем ($p < 0,001$, однофакторный ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки; Фиг. 17). Комбинация 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR также характеризовалась высокой статистической значимостью по сравнению с 12,5 мкМ только соединения А или 1 мкМ только FUdR, ($p < 0,001$, однофакторный
35 ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки для обоих вариантов обработки; Фиг. 17). Репрезентативные изображения, иллюстрирующие 3

отдельных клетки для каждой группы обработки (контрольный носитель, 12,5 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR и комбинация 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR), приведены на Фиг. 18 и иллюстрируют повышение цитоплазматической интенсивности флуоресценции, отображаемой яркой замутненностью и белыми пятнами в цитоплазме за пределами центрального ядра. Белые пятна, в частности, представляют микроядра ДНК, которые действуют как мощные источники иммуностимулирующей внеядерной ДНК (Фиг. 18).

[0535] В клетках рака поджелудочной железы PANC-1 обработка соединением А приводила к статистически значимому повышению среднего относительного количества цитоплазматической ДНК на 74 % по сравнению с обработанным носителем контролем ($p < 0,001$, однофакторный ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки). Аналогично, 1 мкМ FUdR приводил к 56 % повышению среднего относительного количества цитоплазматической ДНК по сравнению с обработанными контрольным носителем клетками ($p < 0,001$, однофакторный ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки). При этом комбинация 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR приводила к статистически значимому повышению на 266 % среднего количества цитоплазматической ДНК по сравнению с обработанным носителем контролем ($p < 0,001$, однофакторный ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки; Фиг. 19). Комбинация 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR также характеризовалась высокой статистической значимостью по сравнению с 12,5 мкМ только соединения А или 1 мкМ FUdR, $p < 0,001$, однофакторный ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки ($p < 0,001$, однофакторный ANOVA с критерием множественного сравнения Тьюки для обоих вариантов обработки; Фиг. 19). Репрезентативные изображения, иллюстрирующие 3 отдельных клетки для каждой группы обработки (контрольный носитель (ДМСО), 12,5 мкМ соединения А, 1 мкМ FUdR и комбинация 12,5 мкМ соединения А и 1 мкМ FUdR), приведены на Фиг. 20 и иллюстрируют повышение цитоплазматической интенсивности флуоресценции, отображаемой яркой замутненностью и белыми пятнами в цитоплазме за пределами центрального ядра. Белые пятна, в частности, представляют микроядра ДНК, которые действуют как исключительно сильные источники иммуностимулирующей внеядерной ДНК (Фиг. 20). Соответственно, ингибитор дУТФазы (например, соединение А) неожиданно и значительно повышал высвобождение иммуностимулирующей ядерной дцДНК в цитоплазму при использовании в комбинации с ингибитором биосинтеза

тимидилата (например, FUdR) в обеих линиях клеток и в виде единственного агента в линии клеток PANC-1.

[0536] Вариант осуществления 1. Способ повышения терапевтической эффективности иммунотерапевтического агента у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы и иммунотерапевтического агента.

[0537] Вариант осуществления 2. Способ по варианту осуществления 1, отличающийся тем, что способ дополнительно включает введение субъекту одного или более из эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата или эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0538] Вариант осуществления 3. Способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы и эффективного количества иммунотерапевтического агента.

[0539] Вариант осуществления 4. Способ по варианту осуществления 3, отличающийся тем, что способ дополнительно включает введение субъекту одного или более из эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0540] Вариант осуществления 5. Способ по варианту осуществления 3 или варианту осуществления 4, отличающийся тем, что после лечения субъект удовлетворяет критериям одной или более конечных точек, выбранных из ответа на опухоль, уменьшения размера опухоли, уменьшения опухолевой нагрузки, увеличения общей выживаемости, увеличения выживаемости без прогрессирования, ингибирования метастазирования, улучшения качества жизни, минимизации токсичности и избежания побочных эффектов.

[0541] Вариант осуществления 6. Способ по любому из вариантов осуществления 3–5, отличающийся тем, что рак выбран из раковых заболеваний: системы кровообращения, например, сердца (саркома [ангиосаркома, фибросаркома, рабдомиосаркома, липосаркома], миксома, рабдомиома, фиброма, липома и тератома), средостения и плевры, а также других органов грудной полости, сосудистых опухолей и опухолиассоциированной сосудистой ткани; дыхательных путей, например, носовой полости и среднего уха, придаточных пазух, гортани, трахеи, бронхов и легких, например, мелкоклеточный рак легкого (МРЛ), немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), бронхогенная карцинома (плоскоклеточная, недифференцированная

мелкоклеточная, недифференцированная крупноклеточная, аденокарцинома), альвеолярная (бронхиолярная) карцинома, бронхиальная аденома, саркома, лимфома, хондроматозная гамартома, мезотелиома; желудочно-кишечной системы, например, пищевода (плоскоклеточная карцинома, аденокарцинома, лейомиосаркома, лимфома), желудка (карцинома, лимфома, лейомиосаркома), желудка, поджелудочной железы (протоковая аденокарцинома, инсулинома, глюкагонома, гастринома, карциноидные опухоли, випома), тонкого кишечника (аденокарцинома, лимфома, карциноидные опухоли, саркома Капоши, лейомиома, гемангиома, липома, нейрофиброма, фиброма), толстого кишечника (аденокарцинома, тубулярная аденома, ворсинчатая аденома, гамартома, лейомиома); желудочно-кишечные стромальные опухоли и нейроэндокринные опухоли, возникающие в любом месте; мочеполового тракта, например, почки (аденокарцинома, опухоль Вильмса [нефробластома], лимфома, лейкоз), мочевого пузыря и/или уретры (плоскоклеточная карцинома, переходноклеточная карцинома, аденокарцинома), предстательной железы (аденокарцинома, саркома), яичек (семинома, тератома, эмбриональная карцинома, тератоканцинома, хориокарцинома, саркома, карцинома из интерстициальных клеток, фиброма, фиброаденома, аденоматозидные опухоли, липома); печени, например, гепатома (гепатоцеллюлярная карцинома), холангиокарцинома, гепатобластома, ангиосаркома, гепатоцеллюлярная аденома, гемангиома, эндокринные опухоли поджелудочной железы (такие как феохромоцитомы, инсулинома, опухоль из вазоактивного кишечинального пептида, опухоль из островковых клеток и глюкагонома); костей, например, остеогенная саркома (остеосаркома), фибросаркома, злокачественная фиброзная гистиоцитома, хондросаркома, саркома Юинга, злокачественная лимфома (ретикулоцеллюлярная саркома), множественная миелома, злокачественная гигантоклеточная хордома, остеохондромы (костнохрящевые экзостозы), доброкачественная хондрома, хондробластома, хондромиксофиброма, остеонидная остеомы и гигантоклеточные опухоли; нервной системы, например, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичная лимфома ЦНС, рак черепа (остеомы, гемангиомы, гранулемы, ксантомы, деформирующий остоз), мягких мозговых оболочек (менингиома, менингиосаркома, глиоматоз), головного мозга (астроцитомы, медуллобластома, глиомы, эпендимомы, герминомы [пинеаломы], мультиформная глиобластома, олигодендроглиомы, шванномы, ретинобластома, врожденные опухоли), спинного мозга (нейрофиброма, менингиома, глиомы, саркомы); репродуктивной системы, например, гинекологические, матки (карцинома

эндометрия), шейки матки (карцинома шейки матки, предопухолевая дисплазия шейки матки), яичников (карцинома яичников [серозная цистаденокарцинома, муцинозная цистаденокарцинома, неклассифицированная карцинома], опухоли из зернистых клеток, опухоли из клеток Сертоли — Лейдига, дисгерминома, злокачественная тератома), вульвы (плоскоклеточная карцинома, интраэпителиальная карцинома, аденокарцинома, фибросаркома, меланома), влагалища (светлоклеточная карцинома, плоскоклеточная карцинома, ботриоидная саркома [эмбриональная рабдомиосаркома], фаллопиевых труб (карцинома) и других участков, связанных с женскими половыми органами; плаценты, полового члена, предстательной железы, яичек и других участков, связанных с мужскими половыми органами; кроветворной системы, например, крови (миелоидный лейкоз [острый и хронический], острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, миелопролиферативные заболевания, множественная миелома, миелодистпластический синдром), болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома [злокачественная лимфома]; ротовой полости, например, губы, языка, десен, дна ротовой полости, неба и других частей рта, околоушной слюнной железы и других частей слюнных желез, миндалевидной железы, ротоглотки, носоглотки, грушевидного синуса, гортаноглотки и других участков губ, ротовой полости и глотки; кожи, например, злокачественная меланома, кожная меланома, карцинома из базальных клеток, плоскоклеточная карцинома, саркома Капоши, дисплазия родинок, липома, ангиома, дерматофиброма и келоиды; и других тканей, включая соединительную и мягкую ткани, забрюшинного пространства и брюшины, глаза, интраокулярной меланомы, и придатков, молочной железы, головы и/или шеи, анальной области, щитовидной железы, паращитовидной железы, надпочечников и других эндокринных желез и связанных с ними структур, вторичных и неуточненных злокачественных новообразований лимфатических узлов, вторичных злокачественных новообразований дыхательной и пищеварительной систем и вторичных злокачественных новообразований других участков, необязательно при этом рак представляет собой солидную опухоль или, в альтернативном варианте, рак представляет собой гемобластоз, и дополнительно необязательно рак представляет собой первичный рак или метастаз.

[0542] Вариант осуществления 7. Способ по любому из вариантов осуществления 3–5, отличающийся тем, что рак включает или состоит из карциномы, саркомы, миеломы, лейкоза или лимфомы.

[0543] Вариант осуществления 8. Способ ингибирования роста раковой клетки, включающий приведение клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы и эффективным количеством иммунотерапевтического агента.

5 **[0544]** Вариант осуществления 9. Способ по варианту осуществления 8, отличающийся тем, что способ дополнительно включает приведение клетки в контакт с одним или более из эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

10 **[0545]** Вариант осуществления 10. Способ по любому из вариантов осуществления 8–9, отличающийся тем, что приведение в контакт происходит *in vitro*.

[0546] Вариант осуществления 11. Способ по любому из вариантов осуществления 8–9, отличающийся тем, что приведение в контакт происходит *in vivo*.

[0547] Вариант осуществления 12. Способ одного или более из:

- a. стимуляции высвобождения цитоплазматической ДНК в раковой клетке;
 - b. снижения экспрессии или активности молекулы ингибирующей иммунной контрольной точки (такой как PD-L1) в раковой клетке, которая экспрессирует молекулу ингибирующей иммунной контрольной точки;
 - c. повышения экспрессии или активности молекулы стимулирующей иммунной контрольной точки в раковой клетке, которая экспрессирует молекулу стимулирующей иммунной контрольной точки;
 - d. индукции высвобождения или экспрессии белка ассоциированного с повреждением молекулярного паттерна (DAMP) из раковой клетки,
- при этом способ включает приведение раковой клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы; и одним или более из эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.

[0548] Вариант осуществления 13. Способ по варианту осуществления 12, отличающийся тем, что DAMP содержит или состоит из HMGB1 или его функционального эквивалента.

35 **[0549]** Вариант осуществления 14. Способ по варианту осуществления 12, отличающийся тем, что DAMP содержит или состоит из кальретикулина или его функционального эквивалента.

[0550] Вариант осуществления 15. Способ по любому из вариантов осуществления 8–14, отличающийся тем, что раковая клетка представляет собой клетку рака, выбранного из раковых заболеваний: системы кровообращения, например, сердца (саркома [ангиосаркома, фибросаркома, рабдомиосаркома, липосаркома], миксома, рабдомиома, фиброма, липома и тератома), средостения и плевры, а также других органов грудной полости, сосудистых опухолей и опухолеассоциированной сосудистой ткани; дыхательных путей, например, носовой полости и среднего уха, придаточных пазух, гортани, трахеи, бронхов и легких, например, мелкоклеточный рак легкого (МРЛ), немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), бронхогенная карцинома (плоскоклеточная, недифференцированная мелкоклеточная, недифференцированная крупноклеточная, аденокарцинома), альвеолярная (бронхиолярная) карцинома, бронхиальная аденома, саркома, лимфома, хондроматозная гамартома, мезотелиома; желудочно-кишечной системы, например, пищевода (плоскоклеточная карцинома, аденокарцинома, лейомиосаркома, лимфома), желудка (карцинома, лимфома, лейомиосаркома), желудка, поджелудочной железы (протоковая аденокарцинома, инсулинома, глюкагонома, гастринома, карциноидные опухоли, випома), тонкого кишечника (аденокарцинома, лимфома, карциноидные опухоли, саркома Капоши, лейомиома, гемангиома, липома, нейрофиброма, фиброма), толстого кишечника (аденокарцинома, тубулярная аденома, ворсинчатая аденома, гамартома, лейомиома); желудочно-кишечные стромальные опухоли и нейроэндокринные опухоли, возникающие в любом месте; мочеполового тракта, например, почки (аденокарцинома, опухоль Вильмса [нефробластома], лимфома, лейкоз), мочевого пузыря и/или уретры (плоскоклеточная карцинома, переходноклеточная карцинома, аденокарцинома), предстательной железы (аденокарцинома, саркома), яичек (семинома, тератома, эмбриональная карцинома, тератокарцинома, хориокарцинома, саркома, карцинома из интерстициальных клеток, фиброма, фиброаденома, аденоматоидные опухоли, липома); печени, например, гепатома (гепатоцеллюлярная карцинома), холангиокарцинома, гепатобластома, ангиосаркома, гепатоцеллюлярная аденома, гемангиома, эндокринные опухоли поджелудочной железы (такие как феохромоцитомы, инсулинома, опухоль из вазоактивного интестинального пептида, опухоль из островковых клеток и глюкагонома); костей, например, остеогенная саркома (остеосаркома), фибросаркома, злокачественная фиброзная гистиоцитома, хондросаркома, саркома Юинга, злокачественная лимфома (ретикулоклеточная саркома),

множественная миелома, злокачественная гигантоклеточная хордома, остеохондрома (костнохрящевые экзостозы), доброкачественная хондрома, хондробластома, хондромиксофиброма, остеонидная остеомы и гигантоклеточные опухоли; нервной системы, например, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичная лимфома ЦНС, рак черепа (остеомы, гемангиомы, гранулемы, ксантомы, деформирующий остоз), мягких мозговых оболочек (менингиомы, менингиосаркомы, глиоматоз), головного мозга (астроцитомы, медуллобластома, глиомы, эпендимомы, герминомы [пинеаломы], мультиформная глиобластома, олигодендроглиомы, шванномы, ретинобластома, врожденные опухоли), спинного мозга (нейрофиброма, менингиомы, глиомы, саркомы); репродуктивной системы, например, гинекологические, матки (карциномы эндометрия), шейки матки (карциномы шейки матки, предопухолевая дисплазия шейки матки), яичников (карциномы яичников [серозная цистаденокарцинома, муцинозная цистаденокарцинома, неклассифицированная карцинома], опухоли из зернистых клеток, опухоли из клеток Сертоли — Лейдига, дисгерминомы, злокачественная тератома), вульвы (плоскоклеточная карцинома, интраэпителиальная карцинома, аденокарцинома, фибросаркома, меланома), влагалища (светлоклеточная карцинома, плоскоклеточная карцинома, ботриоидная саркома [эмбриональная рабдомиосаркома], фаллопиевых труб (карциномы) и других участков, связанных с женскими половыми органами; плаценты, полового члена, предстательной железы, яичек и других участков, связанных с мужскими половыми органами; кроветворной системы, например, крови (миелоидный лейкоз [острый и хронический], острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, миелопролиферативные заболевания, множественная миелома, миелодистпластический синдром), болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома [злокачественная лимфома]; ротовой полости, например, губы, языка, десен, дна ротовой полости, неба и других частей рта, околоушной слюнной железы и других частей слюнных желез, миндалевидной железы, ротоглотки, носоглотки, грушевидного синуса, гортаноглотки и других участков губ, ротовой полости и глотки; кожи, например, злокачественная меланома, кожная меланома, карцинома из базальных клеток, плоскоклеточная карцинома, саркома Капоши, дисплазия родинок, липома, ангиома, дерматофиброма и келоиды; и других тканей, включая соединительную и мягкую ткани, забрюшинного пространства и брюшины, глаза, интраокулярной меланомы, и придатков, молочной железы, головы и/или шеи, анальной области, щитовидной железы, паращитовидной железы, надпочечников и других

эндокринных желез и связанных с ними структур, вторичных и неуточненных злокачественных новообразований лимфатических узлов, вторичных злокачественных новообразований дыхательной и пищеварительной систем и вторичных злокачественных новообразований других участков, необязательно при этом рак представляет собой солидную опухоль или, в альтернативном варианте, рак представляет собой гемобластоз, и дополнительно необязательно рак представляет собой первичный рак или метастаз.

[0551] Вариант осуществления 16. Способ по любому из вариантов осуществления 8–14, отличающийся тем, что раковая клетка получена из карциномы, саркомы, миеломы, лейкоза или лимфомы.

[0552] Вариант осуществления 17. Способ по любому из вариантов осуществления 2, 4, 9 или 12, отличающийся тем, что ингибитор биосинтеза тимидилата включает или состоит из 5-фторурацила, пеметрекседа, ралтитрекседа, нолатрекседа, плевитрекседа, GS7904L, капецитабина, метотрексата, пралатрексата, CT-900, NUC-3373 или комбинации двух или более из них.

[0553] Вариант осуществления 18. Способ по любому из вариантов осуществления 2, 4, 9 или 12, отличающийся тем, что ингибитор биосинтеза тимидилата включает или состоит из FOLFOX, FOLFOX4, FOLFIRI, MOF, дефлексифола, или комбинации 5-FU с одним или более из облучения, метил-CCNU, лейковорина, оксалиплатина (такого как цисплатин), иринотекана, митомицина, цитарабина и левамизола.

[0554] Вариант осуществления 19. Способ по любому из вариантов осуществления 2, 4, 9 или 12, отличающийся тем, что ингибитор биосинтеза тимидилата включает или состоит из S-1, комбинации S-1 и фолиновой кислоты, FOLFOX, FOLFOX4, FOLFIRI, MOF, дефлексифола, или комбинации 5-FU с одним или более из облучения, метил-CCNU, лейковорина, арфолитиксорина, оксалиплатина (такого как цисплатин), иринотекана, митомицина, цитарабина и левамизола.

[0555] Вариант осуществления 20. Способ по любому из вариантов осуществления 2, 4, 9 или 12, отличающийся тем, что ингибитор биосинтеза тимидилата представляет собой ингибитор фолат-опосредованного одноуглеродного метаболизма.

[0556] Вариант осуществления 21. Способ по любому из вариантов осуществления 2, 4, 9 или 12, отличающийся тем, что антрациклин или другой ингибитор топоизомеразы II включает или состоит из даунорубина,

доксорубицина, эпирубицина, идарубицина, валрубицина, митоксантрона, этопозиды или тенипозиды.

[0557] Вариант осуществления 22. Способ по любому из вариантов осуществления 1–11, отличающийся тем, что иммунотерапевтический агент включает или состоит из одного или более из моноклональных антител, необязательно выбранных из моноспецифических антител, биспецифических антител, мультиспецифических антител и привлекающего иммунные клетки биспецифического активатора, конъюгатов антител – лекарственный препарат, терапии CAR, необязательно выбранной из терапии CAR NK-клетками, терапии CAR T-клетками, терапии цитотоксическими CAR T-клетками, терапии CAR гамма-дельта T-клетками, терапии CAR NK-клетками, клеточной терапии, ингибиторов или антагонистов ингибирующих иммунных контрольных точек, активаторов или агонистов стимулирующих иммунных контрольных точек, необязательно выбранных из активирующего лиганда, иммунных регуляторов, противораковых вакцин и векторов для доставки каждого из них субъекту, необязательно в рамках онколитической вирусной терапии.

[0558] Вариант осуществления 23. Способ по варианту осуществления 22, отличающийся тем, что моноклональные антитела выбраны из ритуксимаба, блинатумомаба, алектумаба, ибритумаба тиуксетана, бевацизумаба, бевацизумаба-awwb, цетуксимаба, панитумумаба, офатумумаба, деносумаба, пертузумаба, обинтузумаба, элутумаба, рамуциумаба, динутуксимаба, даратумумаба, трастузумаба, трастузумаба-dkst, ниволумаба, пембролизумаба, цемиплаумаба, спарталиумаба, камрелиумаба, синтилиумаба, тислиумаба, торипалиумаба, AMF 514 (MEDI0680), балтилиумаба, авелумаба, дурвалумаба, атезолизумаба, ипилимумаба, тремелиумаба, залифрелиумаба и AGEN1181.

[0559] Вариант осуществления 24. Способ по варианту осуществления 22, отличающийся тем, что конъюгаты антител – лекарственный препарат выбраны из моксетумаба пасудотокса-tdfk, брентуксимаба ведотина, трастузумаба эмтанзина, инотумаба озогамидина, гемтумаба озогамидина, таграксифуса-erzs, полатумаба ведотина-piiq, энфортумаба ведотина-ejfv, трастузумаба деруктекана и сацитумаба говитекана-hziy.

[0560] Вариант осуществления 25. Способ по варианту осуществления 22, отличающийся тем, что терапия CAR T-клетками выбрана из тисагенлеклейсела и аксикабтагена цилолейсела.

[0561] Вариант осуществления 26. Способ по варианту осуществления 22, отличающийся тем, что иммунные регуляторы выбраны из интерлейкинов,

альдеслейкина, интерферона альфа-2а/2b, пексидартиниба, эритропозтина, гранулоцитарно-моноцитарного колониестимулирующего фактора (GM-CSF), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), талидомида, леналидомида, помалидомида и имиквимода.

5 **[0562]** Вариант осуществления 27. Способ по варианту осуществления 22, отличающийся тем, что противораковые вакцины выбраны из живой БЦЖ (ТЕРАЦИС®) или сипулейцела-Т (ПРОВЕНЖ®).

[0563] Вариант осуществления 28. Способ по варианту осуществления 22, отличающийся тем, что онколитическая вирусная терапия выбрана из онкорина
10 (H101) и талимогена лагерпарепвека (ИМЛИГИК®).

[0564] Вариант осуществления 29. Способ по любому из вариантов осуществления 1–11, отличающийся тем, что иммунотерапевтический агент включает или состоит из одного или более из моноклональных антител, биспецифических антител и фрагментов антител.

15 **[0565]** Вариант осуществления 30. Способ по любому из вариантов осуществления 1–11, отличающийся тем, что иммунотерапевтический агент включает или состоит из ингибитора контрольных точек.

[0566] Вариант осуществления 31. Способ по варианту осуществления 30, отличающийся тем, что ингибитор контрольных точек включает или состоит из
20 GS4224, AMP-224, CA-327, CA-170, BMS-1001, BMS-1166, пептида-57, M7824, MGD013, CX-072, UNP-12, NP-12 или комбинации двух или более из них.

[0567] Вариант осуществления 32. Способ по варианту осуществления 30, отличающийся тем, что ингибитор контрольных точек включает или состоит из одного или более из анти-PD-1 агента, анти-PD-L1 агента, анти-CTLA-4 агента,
25 анти-LAG-3 агента, анти-TIM-3 агента, анти-TIGIT агента, анти-VISTA агента, анти-B7-H3 агента, анти-BTLA агента, анти-ICOS агента, анти-GITR агента, анти-4-1BB агента, анти-OX40 агента, анти-CD27 агента, анти-CD28 агента, анти-CD40 агента и анти-Siglec-15 агента.

[0568] Вариант осуществления 33. Способ по варианту осуществления 30, отличающийся тем, что ингибитор контрольных точек включает или состоит из
30 анти-PD1 агента или анти-PD-L1 агента.

[0569] Вариант осуществления 34. Способ по варианту осуществления 33, отличающийся тем, что анти-PD1 агент включает или состоит из анти-PD1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

35 **[0570]** Вариант осуществления 35. Способ по варианту осуществления 34, отличающийся тем, что анти-PD1 антитело включает или состоит из ниволумаба,

пембролизумаба, цемиплимаба, спартализумаба, камрелизумаба, синтилимаба, тислелизумаба, торипалимаба, AMF 514 или комбинации двух или более из них.

[0571] Вариант осуществления 36. Способ по варианту осуществления 33, отличающийся тем, что анти-PD-L1 агент включает или состоит из анти-PD-L1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

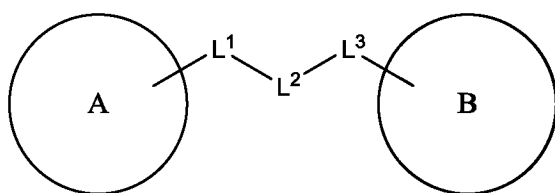
[0572] Вариант осуществления 37. Способ по варианту осуществления 36, отличающийся тем, что анти-PD-L1 антитело включает или состоит из авелумаба, дурвалумаба, атезолизумаба, энвафолимаба или комбинации двух или более из них.

[0573] Вариант осуществления 38. Способ по варианту осуществления 30, отличающийся тем, что ингибитор контрольных точек включает или состоит из анти-CTLA-4 агента.

[0574] Вариант осуществления 39. Способ по варианту осуществления 38, отличающийся тем, что анти-CTLA-4 агент включает или состоит из анти-CTLA-4 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0575] Вариант осуществления 40. Способ по варианту осуществления 39, отличающийся тем, что анти-CTLA-4 антитело включает или состоит из ипилимумаба, тремелимумаба, залифрелимаба или AGEN1181 или их комбинации.

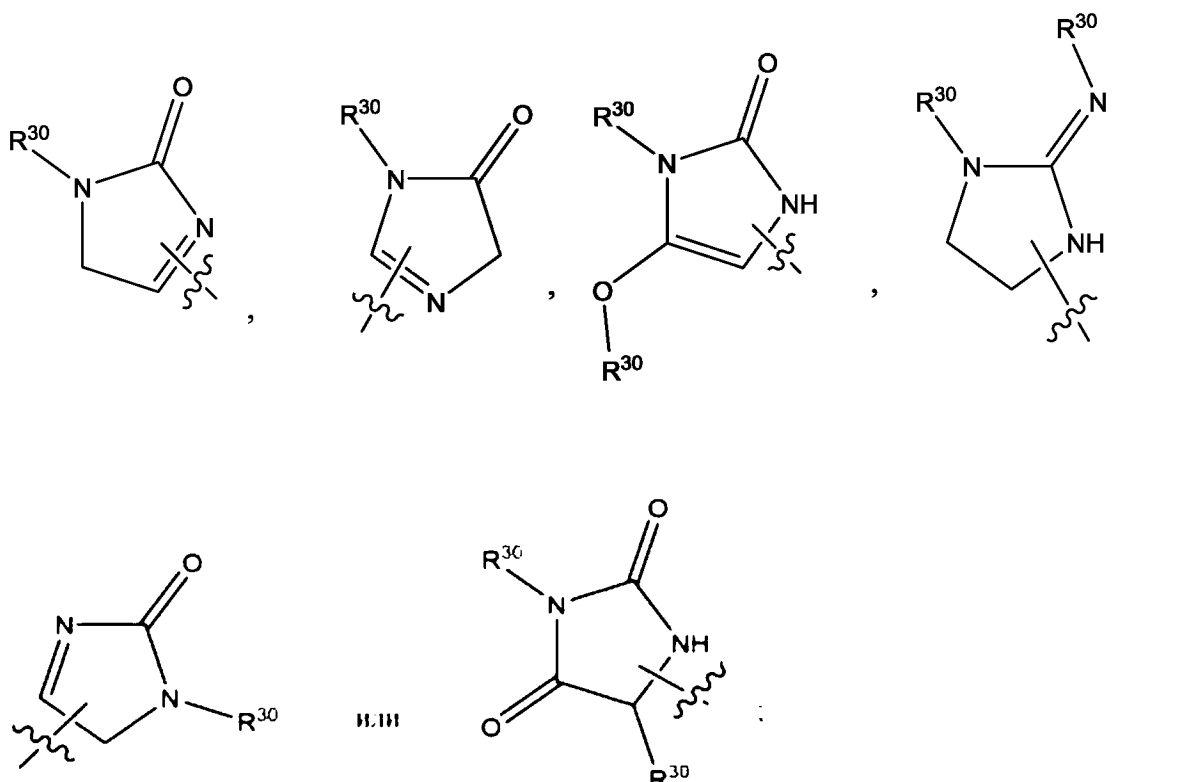
[0576] Вариант осуществления 41. Способ по любому из вариантов осуществления 1–40, отличающийся тем, что ингибитор дУТФазы представляет собой соединение формулы (I):



(I)

где

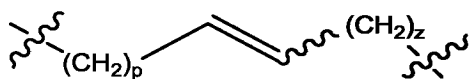
A представляет собой



каждый R^{30} независимо представляет собой водород; необязательно замещенный C_1 - C_{10} алкокси; необязательно замещенный амино, такой как $-NH_2$ или его одно- или двухзамещенная форма; необязательно замещенный C_1 - C_{10} алкил; необязательно замещенный гидроксиль; или Z;

L^1 представляет собой:

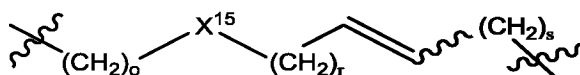
$-(CH_2)_q-$, где один или более атомов водорода необязательно замещены C_1 - C_3 алкилом и/или по меньшей мере два или более геминальных атомов водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены необязательно замещенным 3-5-членным гетероциклом или необязательно замещенным 3-5-членным циклоалкилом, предпочтительно необязательно замещенный 3-5-членный циклоалкил представляет собой необязательно замещенный циклопропано, необязательно замещенный циклобутано, необязательно замещенный циклопентано или необязательно замещенный тетрагидрофурано; и где q равно 3, 4, 5, 6, 7 или 8;



необязательно замещены C_1 - C_3 алкилом и/или по меньшей мере два или более геминальных атомов водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены необязательно замещенным 3-5-членным гетероциклом или необязательно замещенным 3-5-членным

циклоалкилом, предпочтительно необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил представляет собой необязательно замещенный циклопропано, необязательно замещенный циклобутано, необязательно замещенный циклопентано или необязательно замещенный тетрагидрофурано; и где p равно 0, 1, 2, 3, 4 или 5 и z равно 0, 1, 2, 3, 4 или 5;

$-(CH_2)_m-X^{15}-(CH_2)_n-$, где один или более атомов водорода необязательно замещены C_1 - C_3 алкилом и/или по меньшей мере два или более геминальных атомов водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены необязательно замещенным 3–5-членным гетероциклилом или необязательно замещенным 3–5-членным циклоалкилом, предпочтительно необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил представляет собой необязательно замещенный циклопропано, необязательно замещенный циклобутано, необязательно замещенный циклопентано или необязательно замещенный тетрагидрофурано; и где m равно 0, 1, 2 или 3 и n равно 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7; или



, где один или более атомов водорода необязательно замещены C_1 - C_3 алкилом и/или по меньшей мере два или более геминальных атомов водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены необязательно замещенным 3–5-членным гетероциклилом или необязательно замещенным 3–5-членным циклоалкилом, предпочтительно необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил представляет собой необязательно замещенный циклопропано, необязательно замещенный циклобутано, необязательно замещенный циклопентано или необязательно замещенный тетрагидрофурано; и где o равно 0, 1, 2 или 3; r равно 1, 2 или 3; и s равно 0, 1, 2, 3 или 4; и

где X^{15} представляет собой NR^{40} , O или S, где R^{40} представляет собой H или C_1 - C_{10} алкил; или

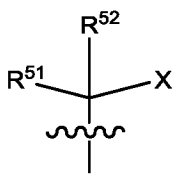
L^1 представляет собой $-L^{11}-L^{12}-L^{13}-$, где L^{11} присоединен к A и L^{11} представляет собой O, S, NR, C_1 - C_2 алкилен, C_2 алкенилен, C_2 гетероалкилен, C_3 гетероалкенилен, L^{12} представляет собой арилен или гетероарилен, L^{13} представляет собой связь или необязательно замещенный C_1 - C_5 алкилен, а R представляет собой H или C_1 - C_3 алкил;

L^2 представляет собой $-SO_2NR^{50}-$, где атом серы присоединен к L^1 ; $-NR^{50}SO_2-$, где атом азота присоединен к L^1 ; $-C(O)NR^{50}-$, где атом углерода

присоединен к L^1 ; $-NR^{50}C(O)-$, где атом азота присоединен к L^1 ; $-NR^{50}SO_2NR^{50}-$; или $-NR^{50}CONR^{50}-$;

каждый R^{50} независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный C_2-C_6 гетероалкил, необязательно замещенный C_2-C_6 алкенил, необязательно замещенный C_3-C_6 гетероалкенил, необязательно замещенный C_2-C_6 алкинил, необязательно замещенный C_3-C_6 гетероалкинил или Z;

Z представляет собой



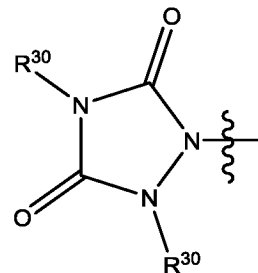
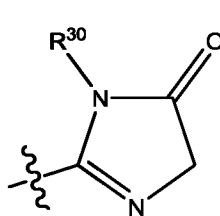
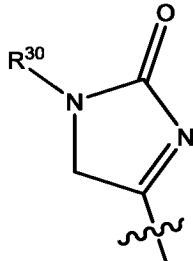
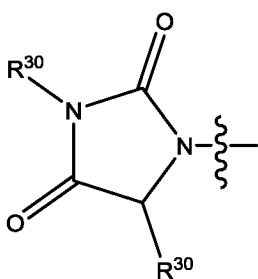
каждый R^{51} и R^{52} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_{10} алкил;

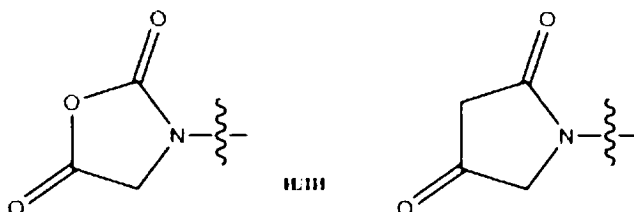
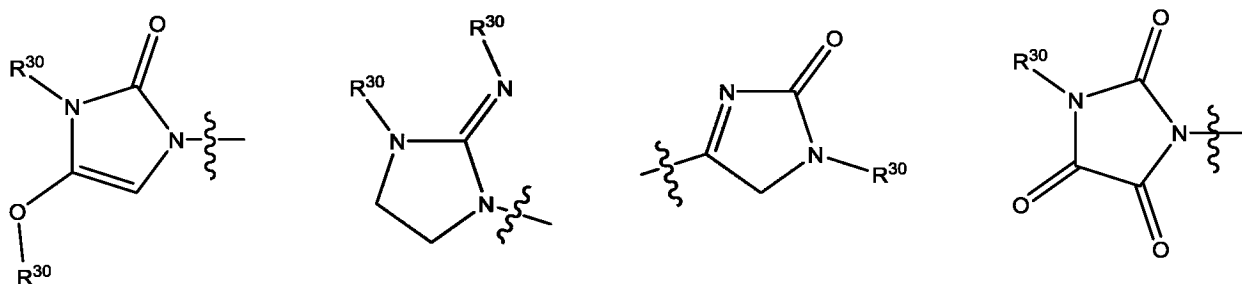
X представляет собой необязательно замещенную гидроксигруппу, необязательно замещенную группу NH_2 или необязательно замещенную SH;

L^3 представляет собой связь, необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен, необязательно замещенный C_2-C_6 гетероалкилен, необязательно замещенный C_2-C_6 алкенилен, необязательно замещенный C_3-C_6 гетероалкенилен, необязательно замещенный C_2-C_6 алкинилен или необязательно замещенный C_3-C_6 гетероалкинилен; и

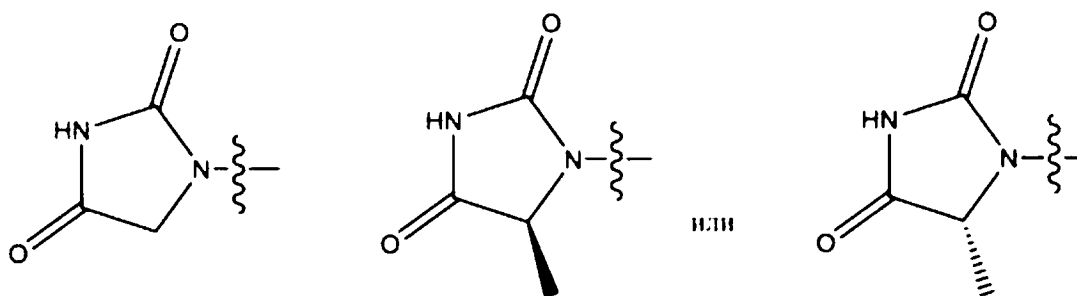
V представляет собой необязательно замещенный 6–10-членный арил; необязательно замещенный 5–15-членный гетероарил; необязательно замещенный 4–15-членный гетероциклил; или необязательно замещенный 3–15-членный циклоалкил, если циклоалкил, то предпочтительно 4-членный или более предпочтительно 5–10-членный циклоалкил.

[0577] Вариант осуществления 42. Способ по варианту осуществления 41, отличающийся тем, что A представляет собой:



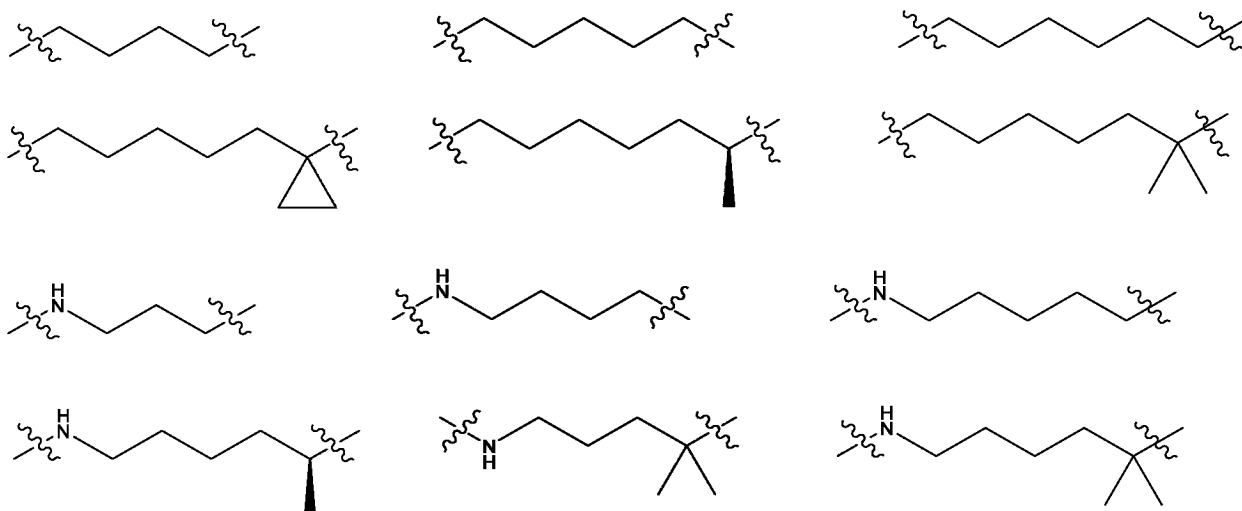


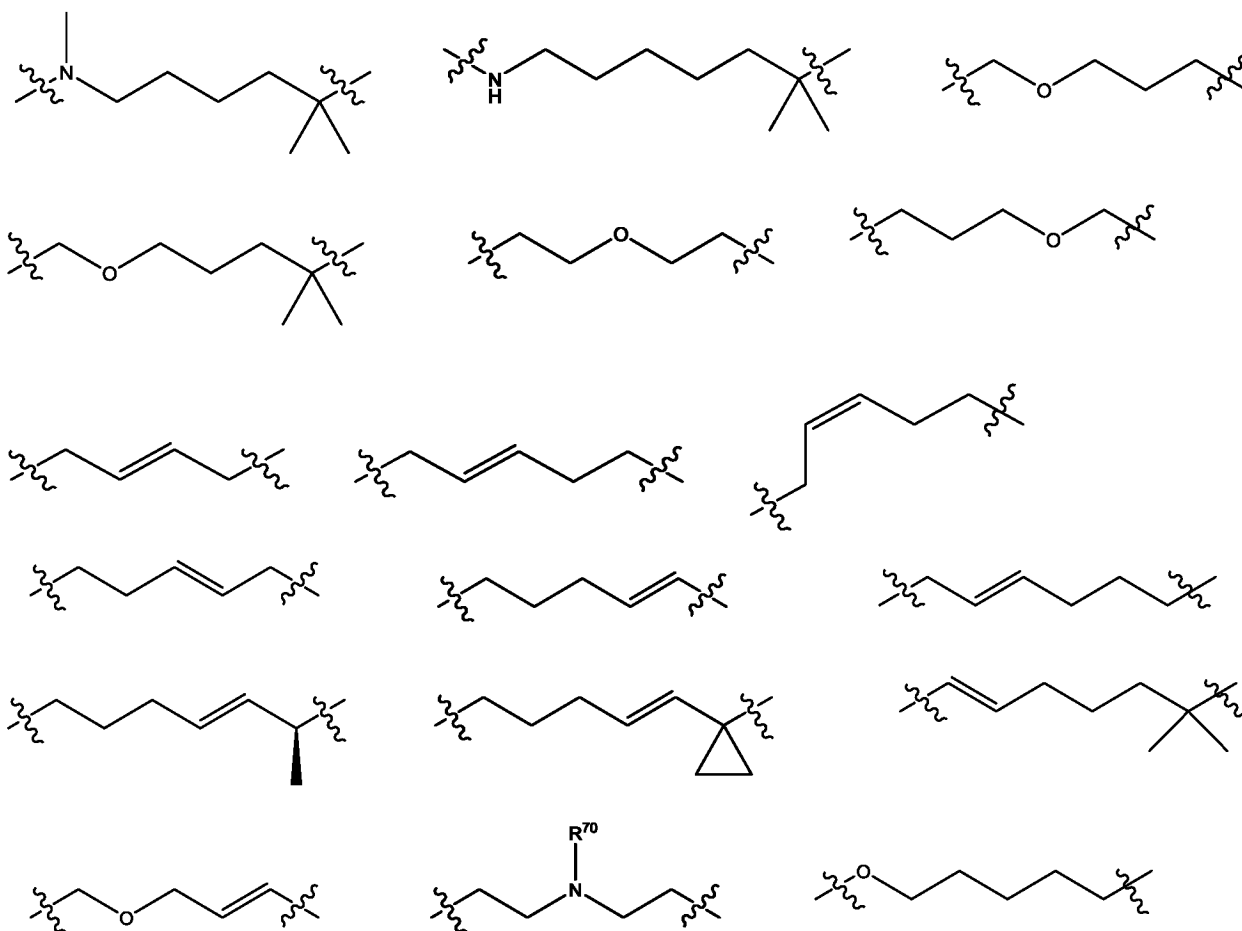
- 5 [0578] Вариант осуществления 43. Способ по варианту осуществления 41 или варианту осуществления 42, отличающийся тем, что А представляет собой:



[0579] Вариант осуществления 44. Способ по любому из вариантов осуществления 41–43, отличающийся тем, что L^1 выбран из группы, состоящей

10 из:



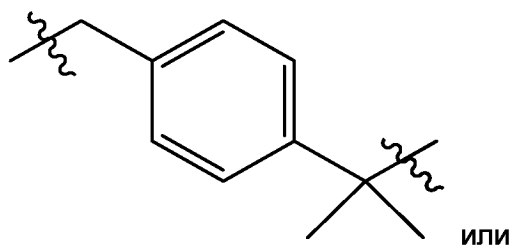


5

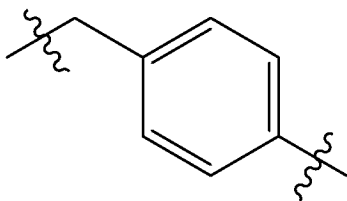
и их необязательно замещенных версий, при этом 1–5, предпочтительно 1–3 атома водорода необязательно замещены, при этом предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1 – C_6 алкокси; необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор, где левые стороны фрагментов присоединены к А и где R^{70} представляет собой необязательно замещенный C_1 – C_{10} алкил.

10

[0580] Вариант осуществления 45. Способ по любому из вариантов осуществления 41–43, отличающийся тем, что L^1 представляет собой:



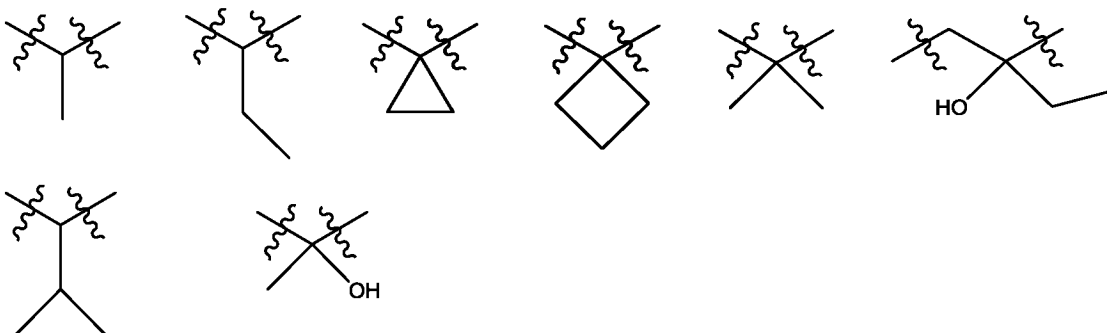
15



или необязательно замещенную версию каждого из них, где 1–5, предпочтительно 1–3 атомов водорода необязательно замещены, при этом предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1-C_6 алкокси; необязательно замещенный C_1-C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор, где левые стороны фрагментов присоединены к А.

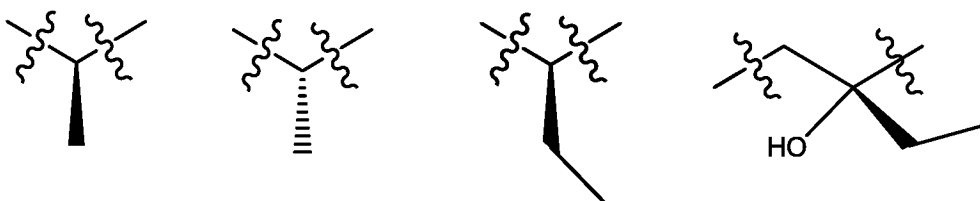
[0581] Вариант осуществления 46. Способ по любому из вариантов осуществления 41–45, отличающийся тем, что L^2 представляет собой $-S(O)_2NR^{50}$, где атом серы присоединен к L^1 .

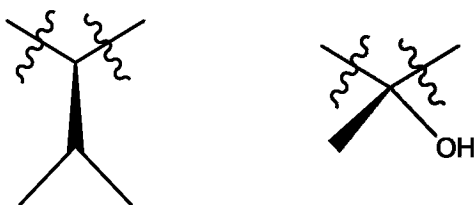
[0582] Вариант осуществления 47. Способ по любому из вариантов осуществления 41–46, отличающийся тем, что L^3 выбран из группы, состоящей из:



и их необязательно замещенных версий, где 1–5, предпочтительно 1–3 атомов водорода необязательно замещены, при этом предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1-C_6 алкокси; необязательно замещенный C_1-C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор, где левые стороны фрагментов присоединены к L^2 .

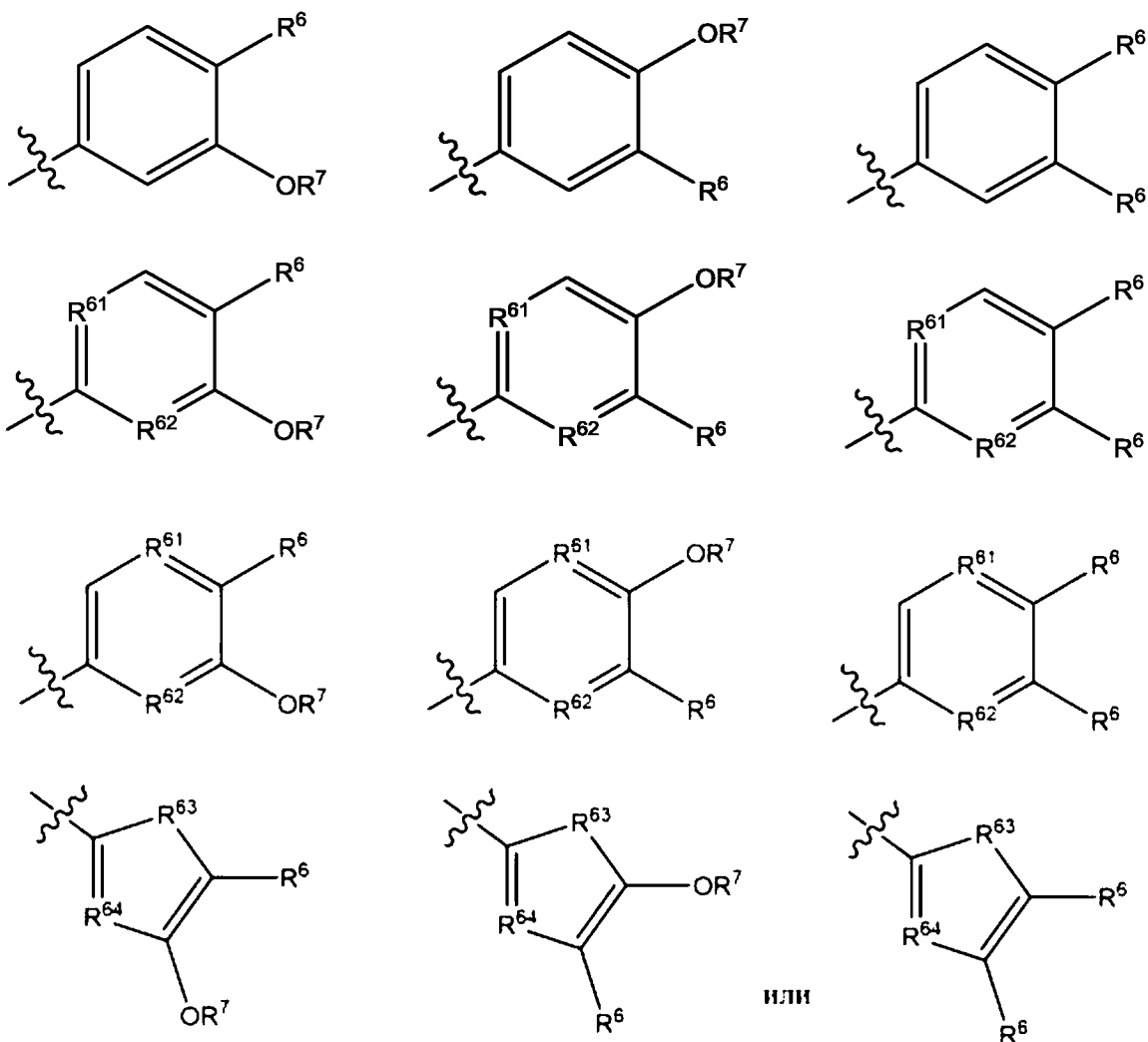
[0583] Вариант осуществления 48. Способ по любому из вариантов осуществления 41–46, отличающийся тем, что L^3 выбран из группы, состоящей из:





и их необязательно замещенных версий, где 1–5, предпочтительно 1–3 атомов водорода необязательно замещены, при этом предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1 – C_6 алкокси; необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор, где левые стороны фрагментов присоединены к L^2 .

[0584] Вариант осуществления 49. Способ по любому из вариантов осуществления 41–48, отличающийся тем, что В представляет собой:



где

каждый R^6 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси или галоген;

каждый R^7 независимо представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный C_2-C_6 алкенил, необязательно замещенный C_2-C_6 алкинил, необязательно замещенный C_3-C_8 циклоалкил, необязательно замещенный C_3-C_{10} гетероарил, необязательно замещенный C_3-C_{10} гетероциклил или необязательно замещенный C_6-C_{10} арил, такой как необязательно замещенный фенил; или

R^6 и R^7 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо; или 2 группы R^6 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо;

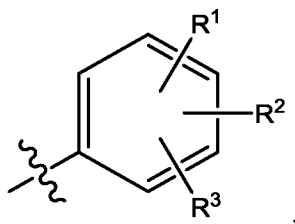
каждый R^{61} и R^{62} независимо представляет собой N или CH при условии, что по меньшей мере один из R^{61} и R^{62} представляет собой N,

каждый R^{63} независимо представляет собой NR^{90} , S или O;

каждый R^{64} независимо представляет собой N или CH; и

каждый R^{90} независимо представляет собой водород или R^7 .

[0585] Вариант осуществления 50. Способ по любому из вариантов осуществления 41–48, отличающийся тем, что В представляет собой:

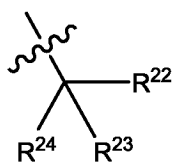


где

каждый R^1-R^3 независимо представляет собой H, галоген, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный 4–15-членный гетероциклил или $-OR^{20}$ или, если два из R^1-R^3 находятся на смежных атомах углерода, то два таких заместителя вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют необязательно замещенное 5–7-членное кольцо;

R^{20} представляет собой $(CH_2)_w-R^{21}$, необязательно замещенный C_3-C_6 циклоалкил или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил;

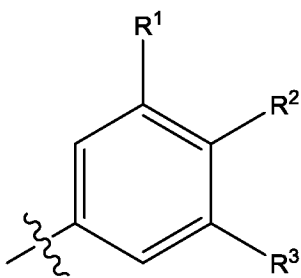
R^{21} представляет собой необязательно замещенный C_3-C_6 циклоалкил, необязательно замещенный C_6-C_{10} арил, необязательно замещенный 5–15-членный гетероарил, необязательно замещенный 4–15-членный гетероциклил, необязательно замещенный C_1-C_{10} алкил, необязательно замещенный C_2-C_{10} алкенил, необязательно замещенный C_2-C_{10} алкинил, необязательно замещенный 4–15-членный гетероциклил или



где каждый $R^{22}-R^{24}$ независимо представляет собой необязательно замещенный C_1-C_3 алкил или гидроксильный или два из $R^{22}-R^{24}$ вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 3–7-членное кольцо; и

5 w равно 1, 2, 3, 4 или 5.

[0586] Вариант осуществления 51. Способ по варианту осуществления 50, отличающийся тем, что В представляет собой:



[0587] Вариант осуществления 52. Способ по варианту осуществления 51, отличающийся тем, что R^1 представляет собой H.

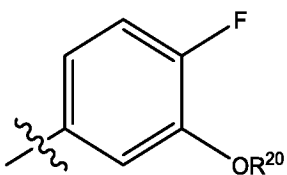
10

[0588] Вариант осуществления 53. Способ по варианту осуществления 51, отличающийся тем, что R^3 представляет собой H или $-OR^{20}$.

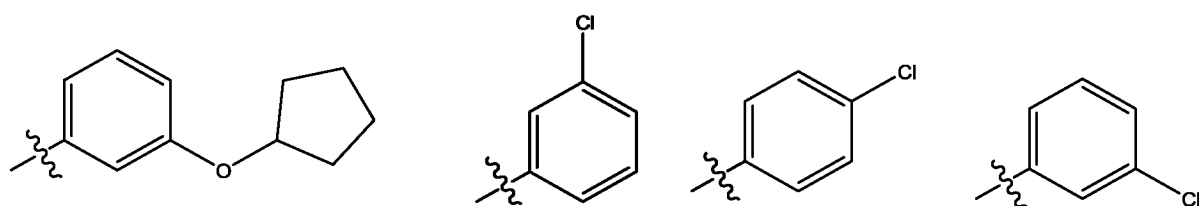
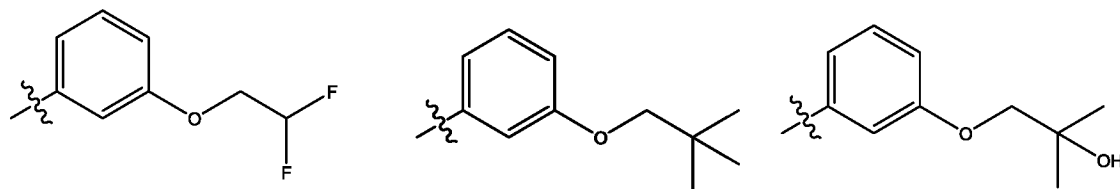
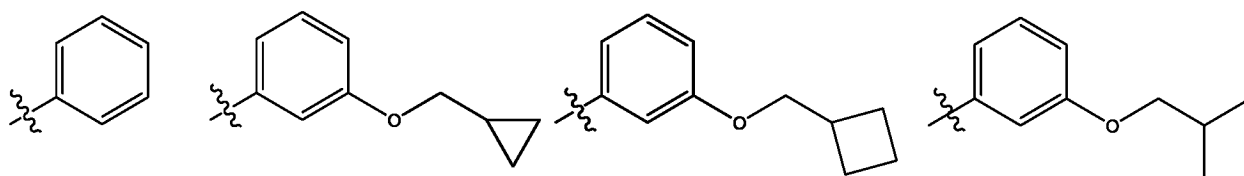
[0589] Вариант осуществления 54. Способ по варианту осуществления 51, отличающийся тем, что R^2 представляет собой F или H.

15

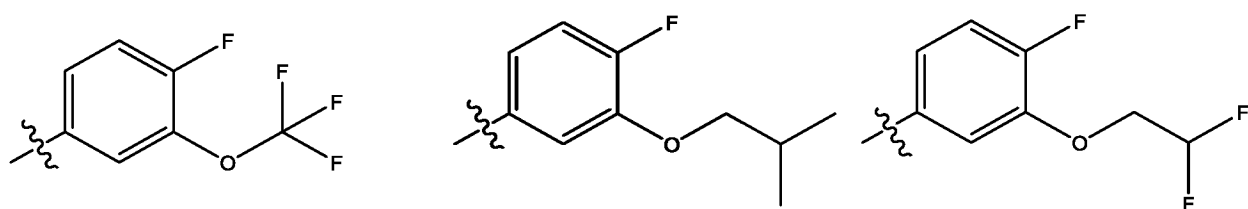
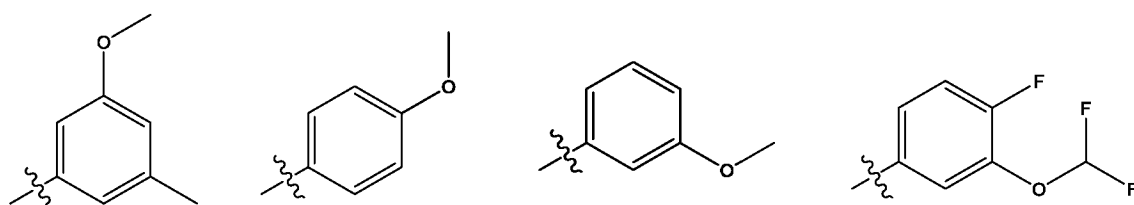
[0590] Вариант осуществления 55. Способ по варианту осуществления 51, отличающийся тем, что В представляет собой



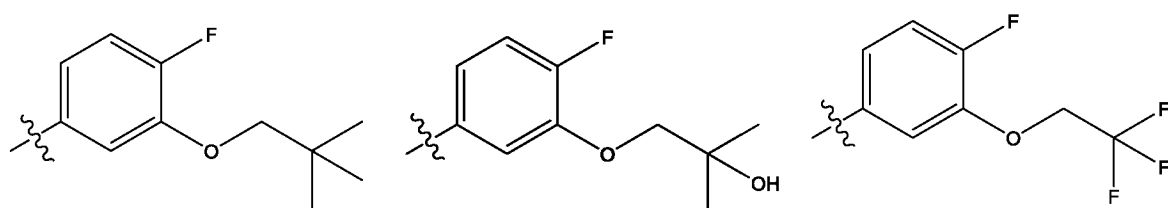
[0591] Вариант осуществления 56. Способ по любому из вариантов осуществления 41–48, отличающийся тем, что В выбран из группы, состоящей из:

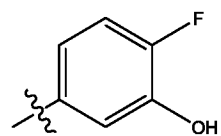
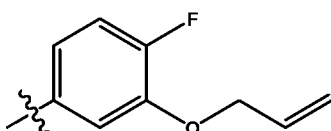
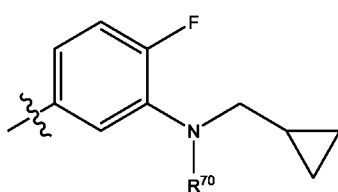
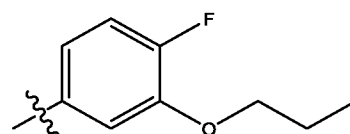
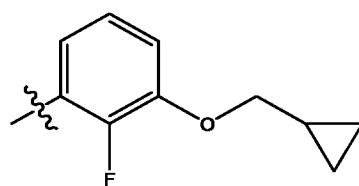
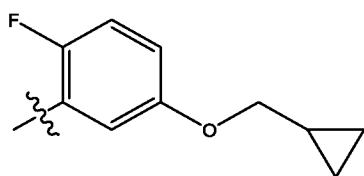
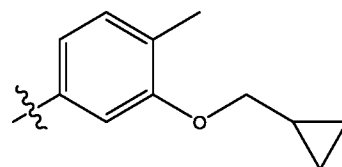
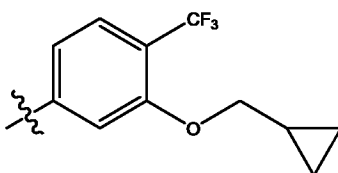
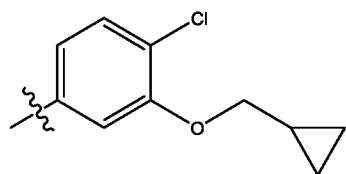
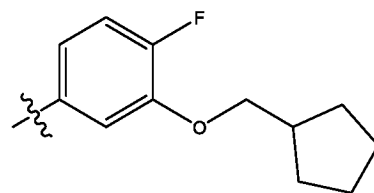
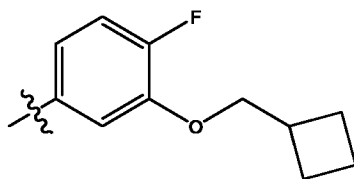
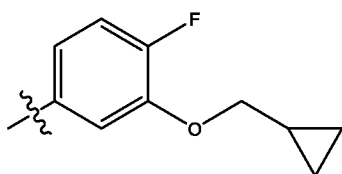


5

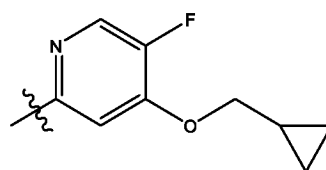
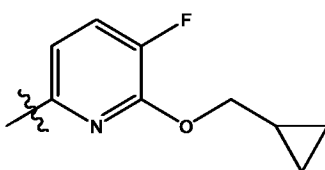
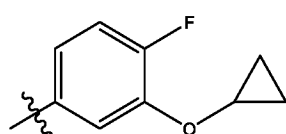
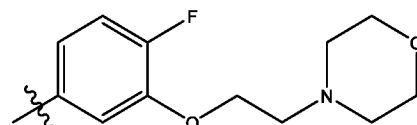
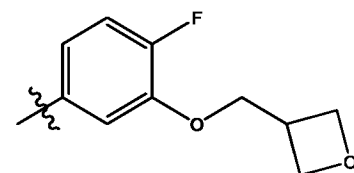
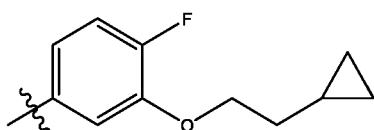


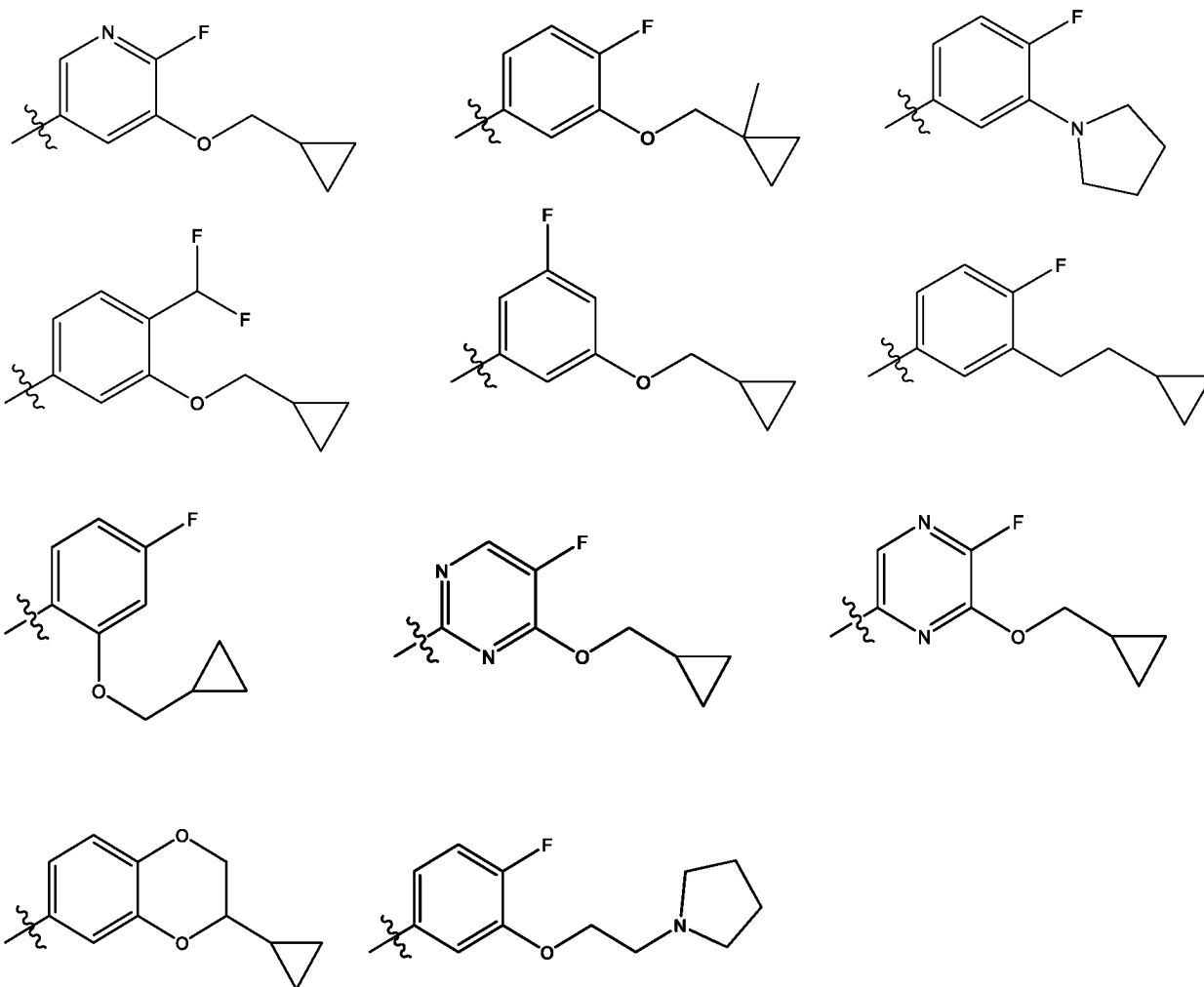
10





5





где

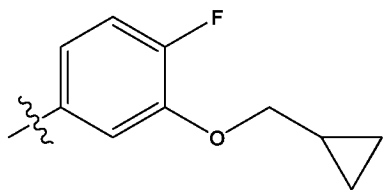
алкокси-группа дополнительно необязательно замещена, причем 1–5, предпочтительно 1–3 атомов водорода замещены, при этом предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1 – C_6 алкокси; необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор;

кольцевой фрагмент, такой как циклопропильная группа, дополнительно необязательно замещен 1–3 галогенами, предпочтительно 1–2 галогенами;

метиленовая группа между атомом кислорода и кольцевым фрагментом, таким как циклопропильная группа, необязательно замещен 1–2 C_1 – C_6 алкилами, предпочтительно метильными, этильными или пропильными группами; и

R^{70} представляет собой необязательно замещенный C_1 – C_{10} алкил.

[0592] Вариант осуществления 57. Способ по варианту осуществления 56, отличающийся тем, что В представляет собой



[0593] Вариант осуществления 58. Способ по любому из вариантов осуществления 1–41, отличающийся тем, что ингибитор дУТФазы представляет собой соединение, выбранное из таблиц 1–9.

- 5 **[0594]** Следует понимать, что хотя настоящее изобретение было конкретно описано с помощью определенных аспектов, вариантов осуществления и необязательных признаков, специалисты в данной области могут прибегнуть к модификации, усовершенствованию и вариации таких аспектов, вариантов осуществления и необязательных признаков, и что такие модификации, усовершенствования и вариации входят в объем этого изобретения.

- 10 **[0595]** В данном документе изобретение было описано в широком и общем смысле. Каждый из более узких видовых признаков и групп подвидовых признаков, подпадающих под общее описание, также формирует часть изобретения. Кроме того, если признаки или аспекты изобретения описаны в терминах групп Маркуша, специалистам в данной области техники будет понятно, что данное также описано в терминах любого отдельного члена или любой
- 15 отдельной подгруппы членов группы Маркуша.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ повышения терапевтической эффективности
иммунотерапевтического агента у нуждающегося в этом субъекта, включающий
5 введение субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы и
иммунотерапевтического агента.
2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что способ дополнительно включает
введение субъекту одного или более из эффективного количества ингибитора
биосинтеза тимидилата или эффективного количества антрациклина или другого
10 ингибитора топоизомеразы II.
3. Способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий
введение субъекту эффективного количества ингибитора дУТФазы и эффективного
количества иммунотерапевтического агента.
4. Способ по п. 3, отличающийся тем, что способ дополнительно включает
15 введение субъекту одного или более из эффективного количества ингибитора
биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого
ингибитора топоизомеразы II.
5. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что после лечения субъект
удовлетворяет критериям одной или более конечных точек, выбранных из ответа на
20 опухоль, уменьшения размера опухоли, уменьшения опухолевой нагрузки,
увеличения общей выживаемости, увеличения выживаемости без
прогрессирования, ингибирования метастазирования, улучшения качества жизни,
минимизации токсичности и избежания побочных эффектов.
6. Способ по любому из пп. 3–5, отличающийся тем, что рак выбран из раковых
25 заболеваний: системы кровообращения; дыхательных путей; желудочно-кишечной
системы, мочеполового тракта; печени; костей; нервной системы; репродуктивной
системы; кроветворной системы; ротовой полости; кожи и других тканей, включая
соединительную и мягкую ткани, забрюшинного пространства и брюшины, глаза,
интраокулярной меланомы, и придатков, молочной железы, головы и/или шеи,
30 анальной области, щитовидной железы, паращитовидной железы, надпочечников и
других эндокринных желез и связанных с ними структур, и лимфатических узлов,
необязательно при этом рак представляет собой солидную опухоль или, в
альтернативном варианте, рак представляет собой гемобластоз, и дополнительно
необязательно рак представляет собой первичный рак или метастаз.
7. Способ по любому из пп. 3–5, отличающийся тем, что рак включает
35 карциному, саркому, миелому, лейкоз или лимфому.

8. Способ ингибирования роста раковой клетки, включающий приведение клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы и эффективным количеством иммунотерапевтического агента.
9. Способ по п. 8, отличающийся тем, что способ дополнительно включает
- 5 приведение клетки в контакт с одним или более из эффективного количества ингибитора биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.
10. Способ по любому из пп. 8–9, отличающийся тем, что приведение в контакт происходит *in vitro*.
- 10 11. Способ по любому из пп. 8–9, отличающийся тем, что приведение в контакт происходит *in vivo*.
12. Способ одного или более из:
 - а. стимуляции высвобождения цитоплазматической ДНК в раковой
 - клетке;
 - 15 б. снижения экспрессии или активности молекулы ингибирующей иммунной контрольной точки (такой как PD-L1) в раковой клетке, которая экспрессирует молекулу ингибирующей иммунной контрольной точки;
 - в. повышения экспрессии или активности молекулы стимулирующей иммунной контрольной точки в раковой клетке, которая экспрессирует
 - 20 молекулу стимулирующей иммунной контрольной точки;
 - д. индукции высвобождения или экспрессии белка ассоциированного с повреждением молекулярного паттерна (DAMP) из раковой клетки,
 при этом способ включает приведение раковой клетки в контакт с эффективным количеством ингибитора дУТФазы; и одним или более из эффективного количества
- 25 ингибитора биосинтеза тимидилата и эффективного количества антрациклина или другого ингибитора топоизомеразы II.
13. Способ по п. 12, отличающийся тем, что DAMP включает HMGB1 или его функциональный эквивалент.
14. Способ по п. 12, отличающийся тем, что DAMP включает кальретикулин или
- 30 его функциональный эквивалент.
15. Способ по любому из пп. 8–14, отличающийся тем, что раковая клетка представляет собой клетку рака, выбранного из раковых заболеваний: системы кровообращения; дыхательных путей; желудочно-кишечной системы, мочеполового тракта; печени; костей; нервной системы; репродуктивной системы; кроветворной
- 35 системы; ротовой полости; кожи и других тканей, включая соединительную и мягкую ткани, забрюшинного пространства и брюшины, глаза, интраокулярной меланомы, и

придатков, молочной железы, головы и/или шеи, анальной области, щитовидной железы, паращитовидной железы, надпочечников и других эндокринных желез и связанных с ними структур, и лимфатических узлов, необязательно при этом рак представляет собой солидную опухоль или, в альтернативном варианте, рак представляет собой гемобластоз, и дополнительно необязательно рак представляет собой первичный рак или метастаз.

16. Способ по любому из пп. 8–14, отличающийся тем, что раковая клетка получена из карциномы, саркомы, миеломы, лейкоза или лимфомы.

17. Способ по любому из п. 2, 4, 9 или 12, отличающийся тем, что ингибитор биосинтеза тимидилата включает 5-фторурацил, пеметрексед, ралтитрексед, нолатрексед, плевитрексед, GS7904L, капецитабин, метотрексат, пралатрексед, CT-900, NUC-3373 или комбинацию двух или более из них.

18. Способ по любому из п. 2, 4, 9 или 12, отличающийся тем, что ингибитор биосинтеза тимидилата включает S-1, комбинацию S-1 и фолиновой кислоты, FOLFOX, FOLFOX4, FOLFIRI, MOF, дефлексифола, арфолитиксорина, или комбинацию 5-FU с одним или более из облучения, метил-CCNU, лейковорина, оксалиплатина (такого как цисплатин), иринотекана, митомицина, цитарабина и левамизола.

19. Способ по любому из п. 2, 4, 9 или 12, отличающийся тем, что ингибитор биосинтеза тимидилата представляет собой ингибитор фолат-опосредованного одноуглеродного метаболизма.

20. Способ по любому из п. 2, 4, 9 или 12, отличающийся тем, что антрациклин или другой ингибитор топоизомеразы II включает даунорубицин, доксорубицин, эпирубицин, идарубицин, валрубицин, митоксантрон, этопозид или тенипозид.

21. Способ по любому из пп. 1–11, отличающийся тем, что иммунотерапевтический агент включает одно или более из моноклональных антител, необязательно выбранных из моноспецифических антител, биспецифических антител, мультиспецифических антител и привлекающего иммунные клетки биспецифического активатора, конъюгатов антител — лекарственный препарат, терапии CAR, необязательно выбранной из терапии CAR NK-клетками, терапии CAR T-клетками, терапии цитотоксическими CAR T-клетками, терапии CAR гамма-дельта T-клетками, терапии CAR NK-клетками, клеточной терапии, ингибиторов или антагонистов ингибирующих иммунных контрольных точек, активаторов или агонистов стимулирующих иммунных контрольных точек, необязательно выбранных из активирующего лиганда, иммунных регуляторов,

противораковых вакцин и векторов для доставки каждого из них субъекту, необязательно в рамках онколитической вирусной терапии.

22. Способ по п. 21, отличающийся тем, что моноклональные антитела выбраны из ритуксимаба, блинатумомаба, алемтузумаба, ибритутомаба тиуксетана, бевацизумаба, бевацизумаба-awwb, цетуксимаба, панитумумаба, офатумумаба, деносумаба, пертузумаба, обинутузумаба, элотузумаба, рамуцирумаба, динутуксимаба, даратумумаба, трастузумаба, трастузумаба-dkst, ниволумаба, пембролизумаба, цемиплимаба, спартализумаба, камрелизумаба, синтилимаба, тислелизумаба, торипалимаба, AMF 514 (MEDI0680), балстилимаба, авелумаба, дурвалумаба, атезолизумаба, ипилимумаба, тремелимумаба, залифрелимаба и AGEN1181.

23. Способ по п. 21, отличающийся тем, что конъюгаты антител — лекарственный препарат выбраны из моксетумомаба пасудотокса-tdfk, брентуксимаба ведотина, трастузумаба эмтанзина, инотузумаба озогамидина, гемтузумаба озогамидина, таграксифуспа-erzs, полатузумаба ведотина-piiq, энфортумаба ведотина-ejfv, трастузумаба дерукстекана и сацитузумаба говитекана-hziy.

24. Способ по п. 21, отличающийся тем, что терапия CAR T-клетками выбрана из тисагенлеклейсела и аксикабтагена цилолейсела.

25. Способ по п. 21, отличающийся тем, что иммунные регуляторы выбраны из интерлейкинов, альдеслейкина, интерферона альфа-2a/2b, пексидартиниба, эритропоэтина, гранулоцитарно-моноцитарного колониестимулирующего фактора (GM-CSF), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), талидомида, леналидомида, помалидомида и имиквимода.

26. Способ по п. 21, отличающийся тем, что противораковые вакцины выбраны из живой БЦЖ (ТЕРАЦИС®) или сипулейцела-T (ПРОВЕНЖ®).

27. Способ по п. 21, отличающийся тем, что онколитическая вирусная терапия выбрана из онкорина (H101) и талимогена лагерпарепвека (ИМЛИГИК®).

28. Способ по любому из пп. 1–11, отличающийся тем, что иммунотерапевтический агент включает одно или более из моноклональных антител, биспецифических антител и фрагментов антител.

29. Способ по любому из пп. 1–11, отличающийся тем, что иммунотерапевтический агент включает ингибитор контрольных точек.

30. Способ по п. 29, отличающийся тем, что ингибитор контрольных точек включает GS4224, AMP-224, CA-327, CA-170, BMS-1001, BMS-1166, пептид-57, M7824, MGD013, CX-072, UNP-12, NP-12 или комбинацию двух или более из них.

31. Способ по п. 29, отличающийся тем, что ингибитор контрольных точек включает одно или более из анти-PD-1 агента, анти-PD-L1 агента, анти-CTLA-4 агента, анти-LAG-3 агента, анти-TIM-3 агента, анти-TIGIT агента, анти-VISTA агента, анти-B7-H3 агента, анти-BTLA агента, анти-ICOS агента, анти-GITR агента, анти-4-1BB агента, анти-OX40 агента, анти-CD27 агента, анти-CD28 агента, анти-CD40 агента и анти-Siglec-15 агента.

32. Способ по п. 29, отличающийся тем, что ингибитор контрольных точек включает анти-PD1 агент или анти-PD-L1 агент.

33. Способ по п. 32, отличающийся тем, что анти-PD1 агент включает анти-PD1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

34. Способ по п. 33, отличающийся тем, что анти-PD1 антитело включает ниволумаб, пембролизумаб, цемиплимаб, спартализумаб, камрелизумаб, синтилимаб, тислелизумаб, торипалимаб, AMF 514 или комбинацию двух или более из них.

35. Способ по п. 32, отличающийся тем, что анти-PD-L1 агент включает анти-PD-L1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

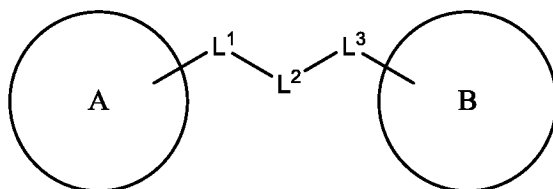
36. Способ по п. 35, отличающийся тем, что анти-PD-L1 антитело включает авелумаб, дурвалумаб, атезолизумаб, энвафолимаб или комбинацию двух или более из них.

37. Способ по п. 29, отличающийся тем, что ингибитор контрольных точек включает анти-CTLA-4 агент.

38. Способ по п. 37, отличающийся тем, что анти-CTLA-4 агент включает анти-CTLA-4 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

39. Способ по п. 38, отличающийся тем, что анти-CTLA-4 антитело включает ипилимумаб, тремелимумаб, залифрелимаб или AGEN1181 или их комбинацию.

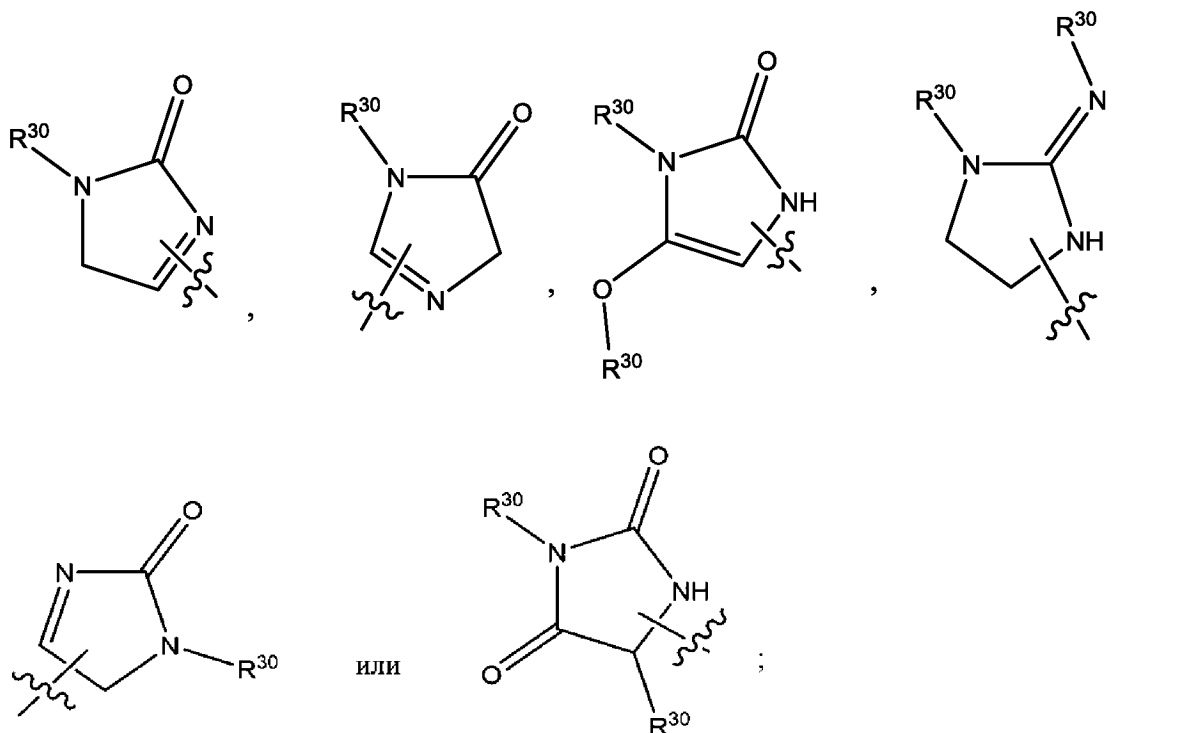
40. Способ по любому из пп. 1–39, отличающийся тем, что ингибитор дУТФазы представляет собой соединение формулы (I):



(I)

где

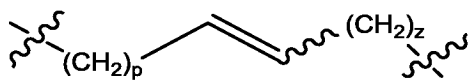
A представляет собой



каждый R³⁰ независимо представляет собой водород; optionally замещенный C₁-C₁₀ алкокси; optionally замещенный амина, такой как -NH₂ или его одно- или двухзамещенная форма; optionally замещенный C₁-C₁₀ алкил; optionally замещенный гидроксид; или Z;

L¹ представляет собой:

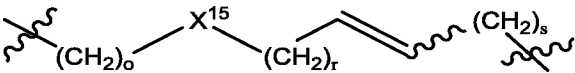
-(CH₂)_q-, где один или более атомов водорода optionally замещены C₁-C₃ алкилом и/или по меньшей мере два или более гомеональных атомов водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, optionally замещены optionally замещенным 3-5-членным гетероциклом или optionally замещенным 3-5-членным циклоалкилом, предпочтительно optionally замещенный 3-5-членный циклоалкил представляет собой optionally замещенный циклопропан, optionally замещенный циклобутан, optionally замещенный циклопентан или optionally замещенный тетрагидрофуран; и где q равно 3, 4, 5, 6, 7 или 8;



, где один или более атомов водорода optionally замещены C₁-C₃ алкилом и/или по меньшей мере два или более гомеональных атомов водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, optionally замещены optionally замещенным 3-5-членным гетероциклом или optionally замещенным 3-5-членным циклоалкилом, предпочтительно optionally замещенный 3-5-членный циклоалкил

представляет собой необязательно замещенный циклопропано, необязательно замещенный циклобутано, необязательно замещенный циклопентано или необязательно замещенный тетрагидрофурано; и где p равно 0, 1, 2, 3, 4 или 5 и z равно 0, 1, 2, 3, 4 или 5;

- 5 $-(CH_2)_m-X^{15}-(CH_2)_n-$, где один или более атомов водорода необязательно замещены C_1 - C_3 алкилом и/или по меньшей мере два или более геминальных атомов водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены необязательно замещенным 3–5-членным гетероциклилом или необязательно замещенным 3–5-членным циклоалкилом, 10 предпочтительно необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил представляет собой необязательно замещенный циклопропано, необязательно замещенный циклобутано, необязательно замещенный циклопентано или необязательно замещенный тетрагидрофурано; и где m равно 0, 1, 2 или 3 и n равно 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7; или

- 15  , где один или более атомов водорода необязательно замещены C_1 - C_3 алкилом и/или по меньшей мере два или более геминальных атомов водорода вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, необязательно замещены необязательно замещенным 3–5-членным гетероциклилом или необязательно замещенным 3–5-членным циклоалкилом, 20 предпочтительно необязательно замещенный 3–5-членный циклоалкил представляет собой необязательно замещенный циклопропано, необязательно замещенный циклобутано, необязательно замещенный циклопентано или необязательно замещенный тетрагидрофурано; и где o равно 0, 1, 2 или 3; r равно 1, 2 или 3; и s равно 0, 1, 2, 3 или 4; и

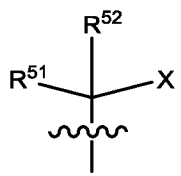
- 25 где X^{15} представляет собой NR^{40} , O или S, где R^{40} представляет собой H или C_1 - C_{10} алкил; или

- L^1 представляет собой $-L^{11}-L^{12}-L^{13}-$, где L^{11} присоединен к A и L^{11} представляет собой O, S, NR, C_1 - C_2 алкилен, C_2 алкенилен, C_2 гетероалкилен, C_3 гетероалкенилен, L^{12} представляет собой арилен или гетероарилен, L^{13} 30 представляет собой связь или необязательно замещенный C_1 - C_5 алкилен, а R представляет собой H или C_1 - C_3 алкил;

L^2 представляет собой $-SO_2NR^{50}-$, где атом серы присоединен к L^1 ; $-NR^{50}SO_2-$, где атом азота присоединен к L^1 ; $-C(O)NR^{50}-$, где атом углерода присоединен к L^1 ; $-NR^{50}C(O)-$, где атом азота присоединен к L^1 ; $-NR^{50}SO_2NR^{50}-$; или $-NR^{50}CONR^{50}-$;

каждый R^{50} независимо представляет собой водород, optionally замещенный C_1-C_6 алкил, optionally замещенный C_2-C_6 гетероалкил, optionally замещенный C_2-C_6 алкенил, optionally замещенный C_3-C_6 гетероалкенил, optionally замещенный C_2-C_6 алкинил, optionally замещенный C_3-C_6 гетероалкинил или Z;

Z представляет собой



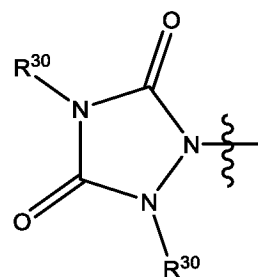
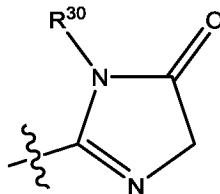
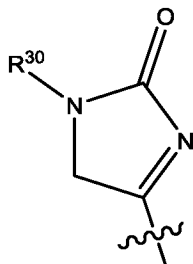
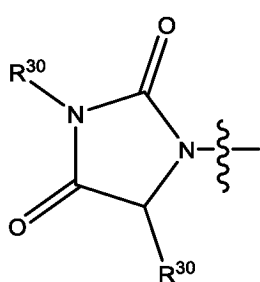
каждый R^{51} и R^{52} независимо представляет собой водород или optionally замещенный C_1-C_{10} алкил;

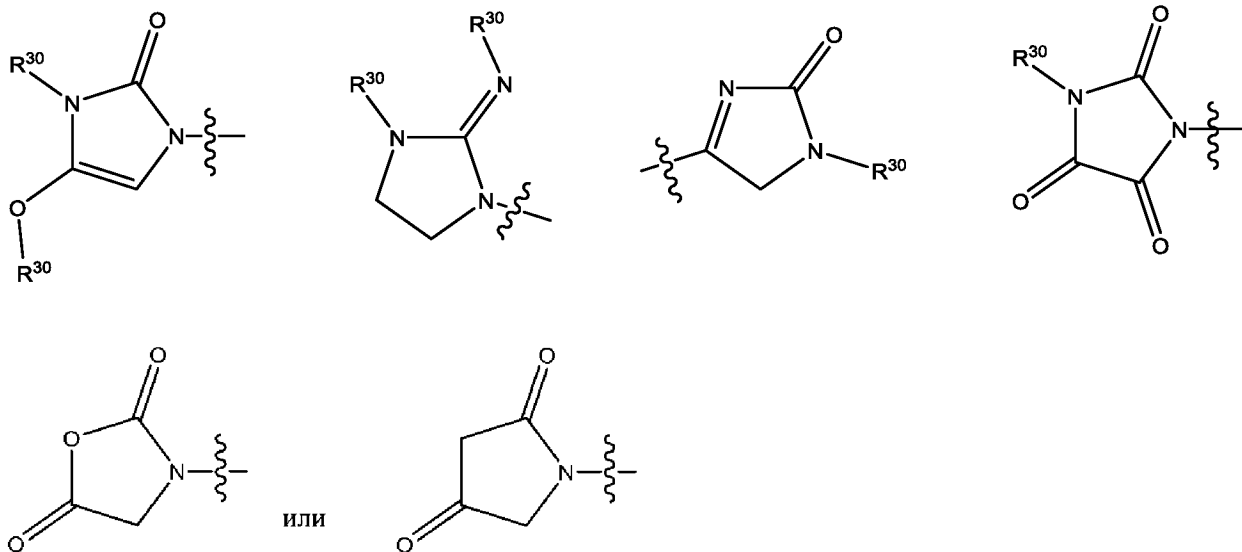
X представляет собой optionally замещенную гидроксигруппу, optionally замещенную группу NH_2 или optionally замещенную SH ;

L^3 представляет собой связь, optionally замещенный C_1-C_6 алкилен, optionally замещенный C_2-C_6 гетероалкилен, optionally замещенный C_2-C_6 алкенилен, optionally замещенный C_3-C_6 гетероалкенилен, optionally замещенный C_2-C_6 алкинилен или optionally замещенный C_3-C_6 гетероалкинилен; и

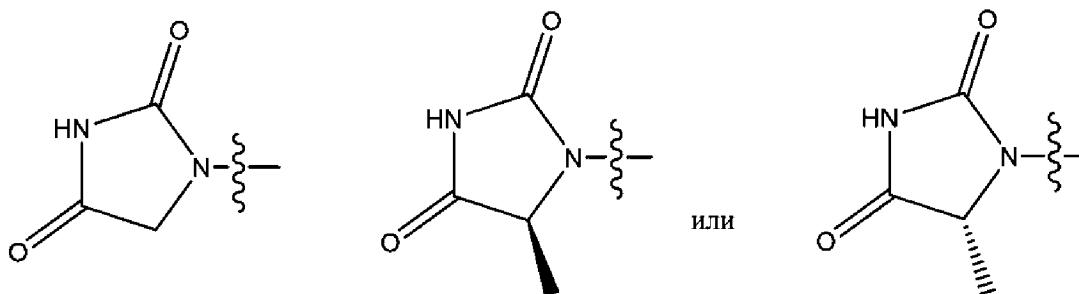
B представляет собой optionally замещенный 6–10-членный арил; optionally замещенный 5–15-членный гетероарил; optionally замещенный 4–15-членный гетероцикл; или optionally замещенный 3–15-членный циклоалкил, если циклоалкил, то предпочтительно 4-членный или более предпочтительно 5–10-членный циклоалкил.

41. Способ по п. 40, отличающийся тем, что A представляет собой:



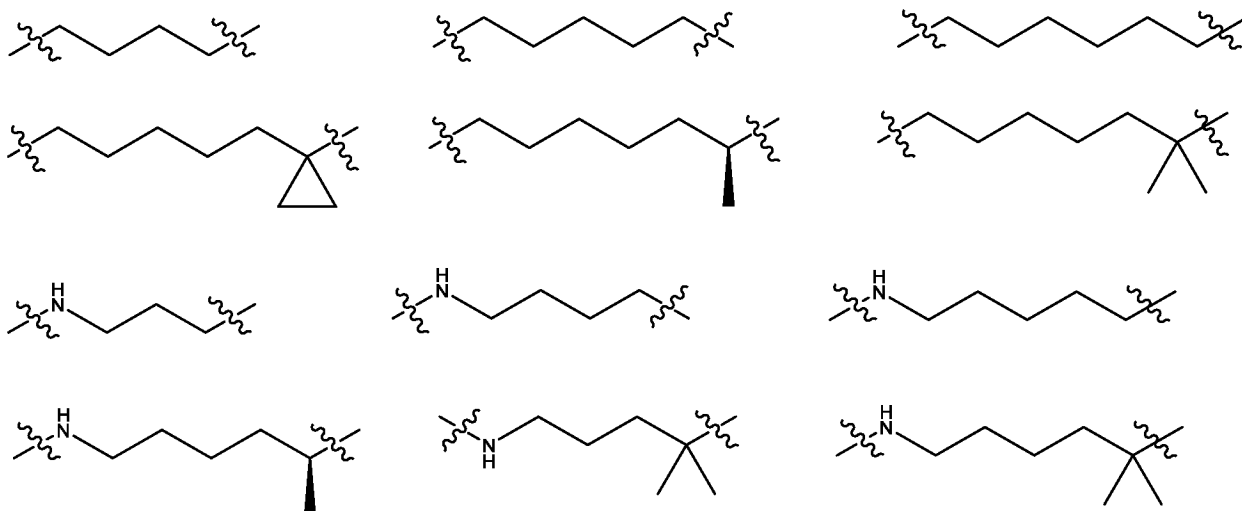


42. Способ по п. 40 или 41, отличающийся тем, что А представляет собой:

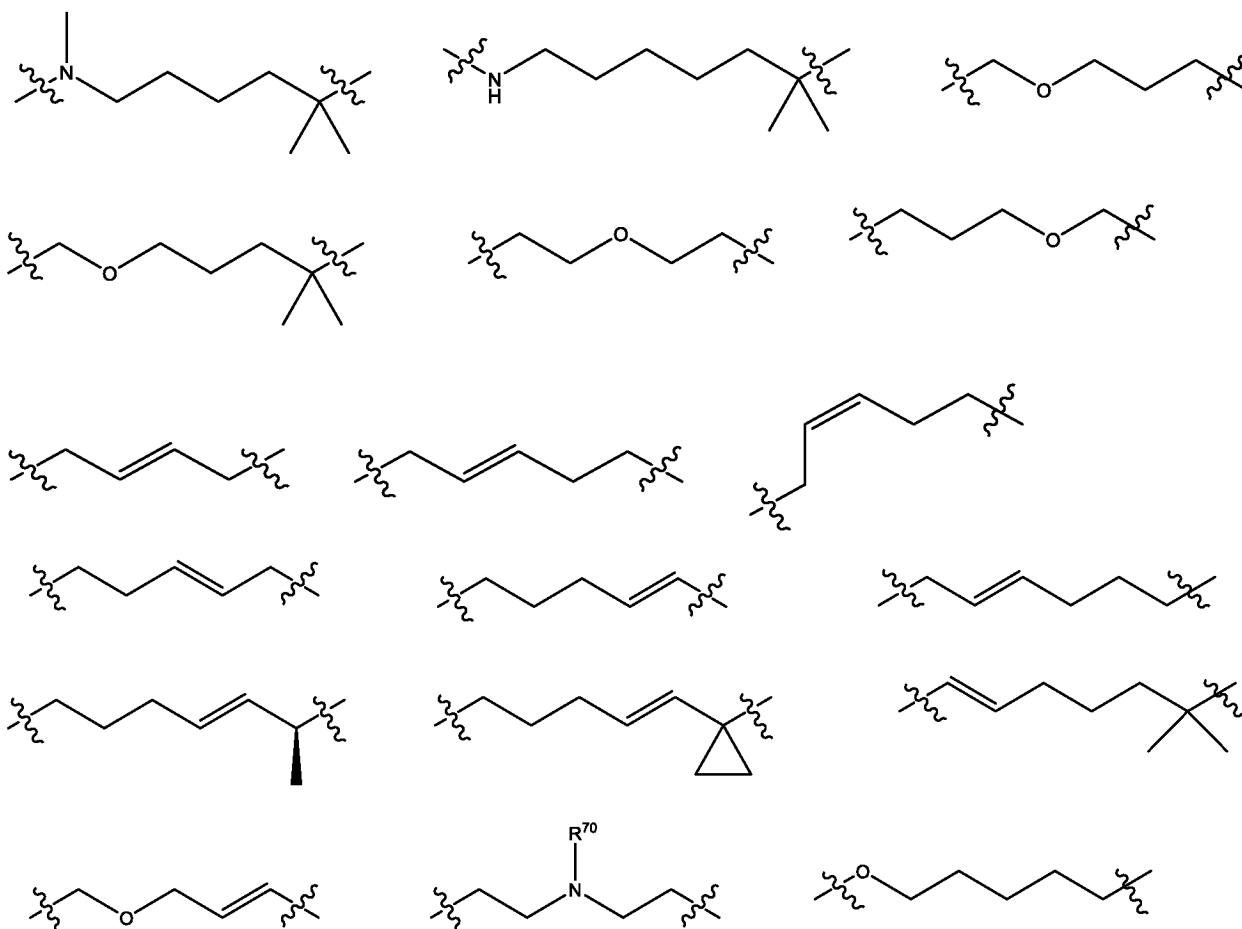


5

43. Способ по любому из пп. 40–42, отличающийся тем, что L^1 выбран из группы, состоящей из:



10

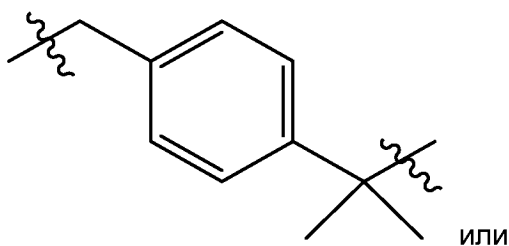


5

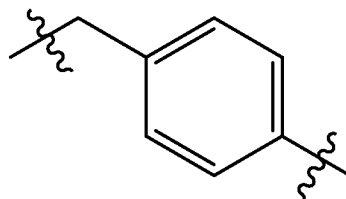
и их необязательно замещенных версий, при этом 1–5, предпочтительно 1–3 атома водорода необязательно замещены, при этом предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1 – C_6 алкокси; необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор, где левые стороны фрагментов присоединены к А и где R^{70} представляет собой необязательно замещенный C_1 – C_{10} алкил.

10

44. Способ по любому из пп. 40–42, отличающийся тем, что L^1 представляет собой:



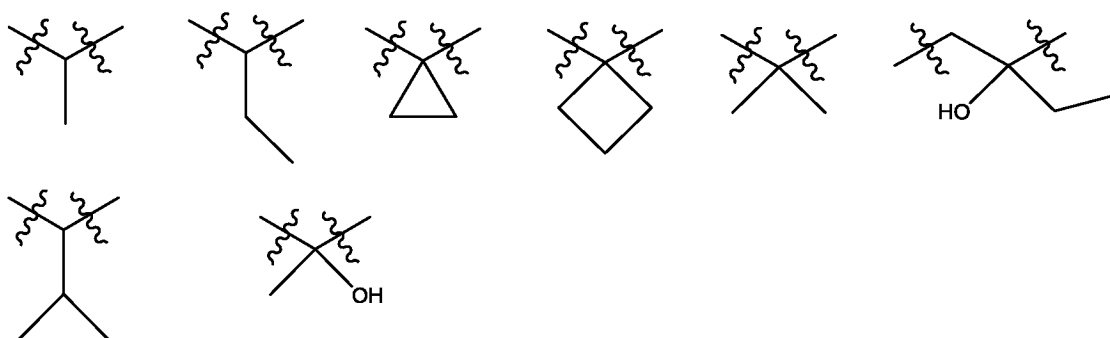
15



или необязательно замещенную версию каждого из них, где 1–5, предпочтительно 1–3 атомов водорода необязательно замещены, при этом предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1 – C_6 алкокси; необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор, где левые стороны фрагментов присоединены к A.

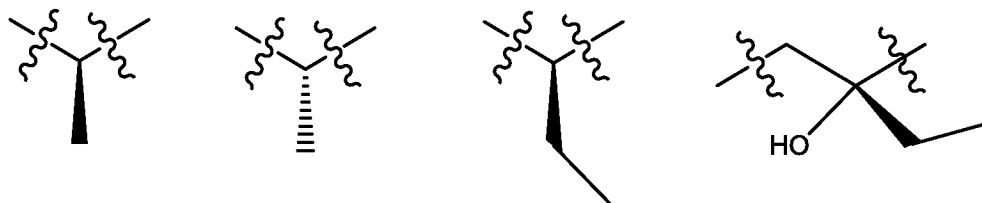
45. Способ по любому из пп. 40–44, отличающийся тем, что L^2 представляет собой $-S(O)_2NR^{50}-$, где атом серы присоединен к L^1 .

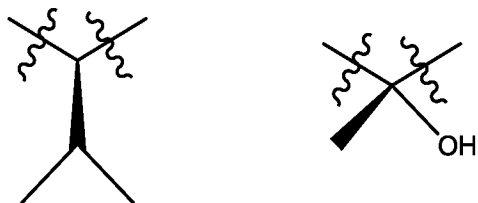
46. Способ по любому из пп. 40–45, отличающийся тем, что L^3 выбран из группы, состоящей из:



и их необязательно замещенных версий, где 1–5, предпочтительно 1–3 атомов водорода необязательно замещены, при этом предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1 – C_6 алкокси; необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор, где левые стороны фрагментов присоединены к L^2 .

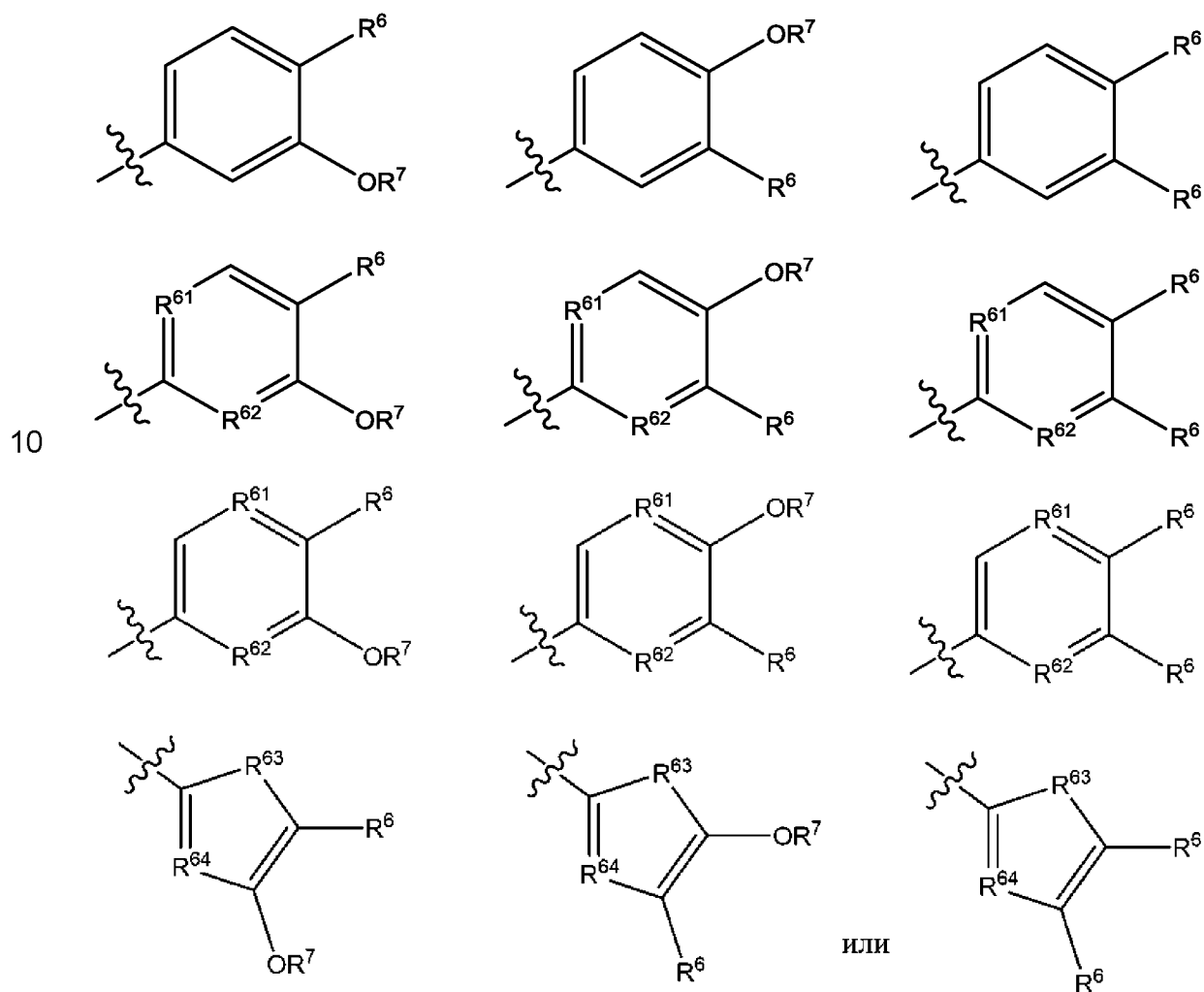
47. Способ по любому из пп. 40–45, отличающийся тем, что L^3 выбран из группы, состоящей из:





и их необязательно замещенных версий, где 1–5, предпочтительно 1–3 атомов водорода необязательно замещены, при этом предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1 – C_6 алкокси; необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор, где левые стороны фрагментов присоединены к L^2 .

48. Способ по любому из пп. 40–47, отличающийся тем, что В представляет собой:



где

каждый R^6 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1 – C_6 алкокси или галоген;

каждый R^7 независимо представляет собой optionally замещенный C_1 - C_6 алкил, optionally замещенный C_2 - C_6 алкенил, optionally замещенный C_2 - C_6 алкинил, optionally замещенный C_3 - C_8 циклоалкил, optionally замещенный C_3 - C_{10} гетероарил, optionally замещенный C_3 - C_{10} гетероциклил
 5 или optionally замещенный C_6 - C_{10} арил, такой как optionally замещенный фенил; или

R^6 и R^7 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют optionally замещенное 5–7-членное кольцо; или 2 группы R^6 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют optionally замещенное 5–7-членное
 10 кольцо;

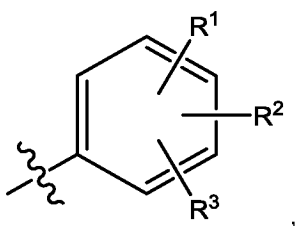
каждый R^{61} и R^{62} независимо представляет собой N или CH при условии, что по меньшей мере один из R^{61} и R^{62} представляет собой N,

каждый R^{63} независимо представляет собой NR^{90} , S или O;

каждый R^{64} независимо представляет собой N или CH; и

каждый R^{90} независимо представляет собой водород или R^7 .

49. Способ по любому из пп. 40–47, отличающийся тем, что В представляет собой:

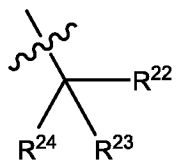


где

каждый R^1 – R^3 независимо представляет собой H, галоген, optionally замещенный C_1 - C_6 алкил, optionally замещенный 4–15-членный гетероциклил или $-OR^{20}$ или, если два из R^1 – R^3 находятся на смежных атомах углерода, то два таких заместителя вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют optionally замещенное 5–7-членное кольцо;

25 R^{20} представляет собой $(CH_2)_w-R^{21}$, optionally замещенный C_3 - C_6 циклоалкил или optionally замещенный C_1 - C_6 алкил;

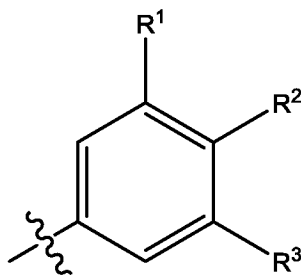
R^{21} представляет собой optionally замещенный C_3 - C_6 циклоалкил, optionally замещенный C_6 - C_{10} арил, optionally замещенный 5–15-членный гетероарил, optionally замещенный 4–15-членный гетероциклил,
 30 optionally замещенный C_1 - C_{10} алкил, optionally замещенный C_2 - C_{10} алкенил, optionally замещенный C_2 - C_{10} алкинил, optionally замещенный 4–15-членный гетероциклил или



где каждый $R^{22}-R^{24}$ независимо представляет собой необязательно замещенный C_1-C_3 алкил или гидроксипропили или два из $R^{22}-R^{24}$ вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 3–7-членное кольцо; и

5 w равно 1, 2, 3, 4 или 5.

50. Способ по п. 49, отличающийся тем, что В представляет собой:

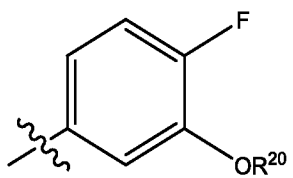


51. Способ по п. 50, отличающийся тем, что R^1 представляет собой H.

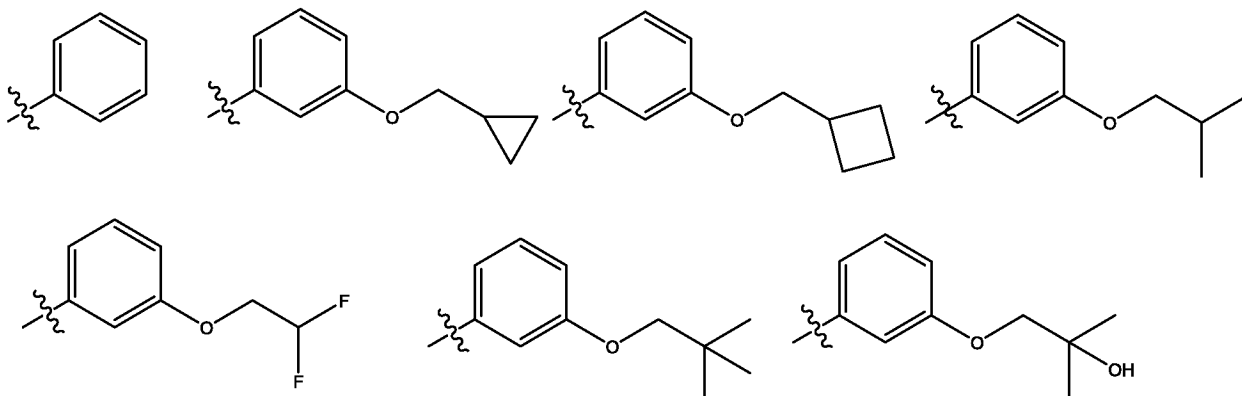
52. Способ по п. 50, отличающийся тем, что R^3 представляет собой H или $-OR^{20}$.

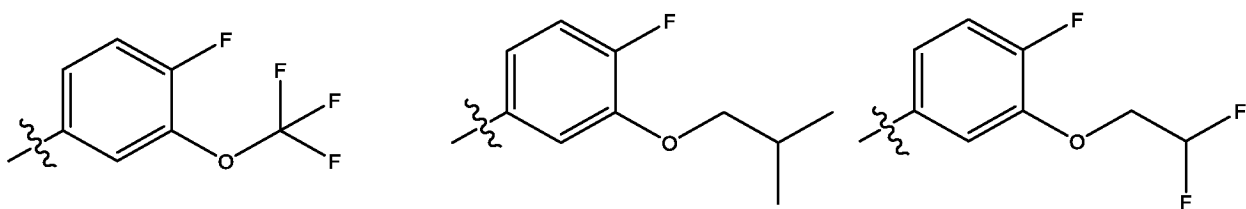
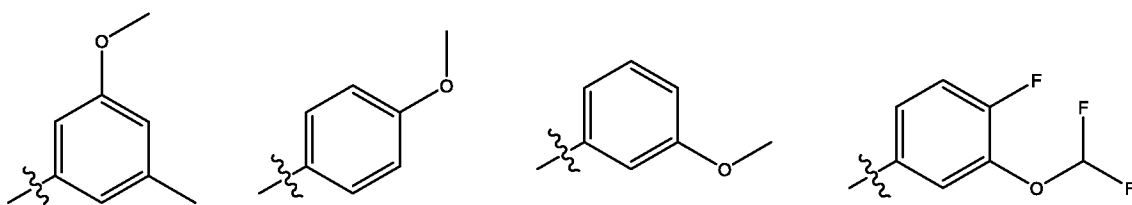
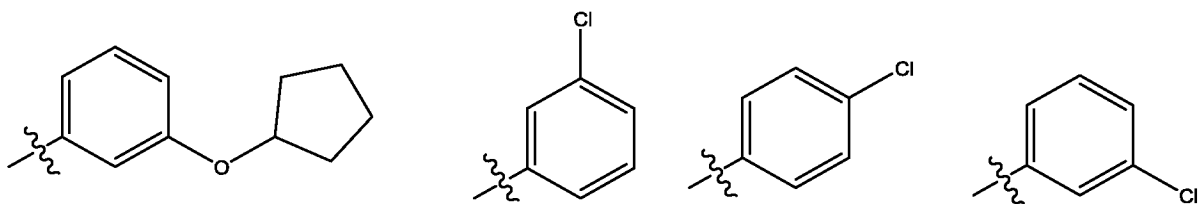
10 53. Способ по п. 50, отличающийся тем, что R^2 представляет собой F или H.

54. Способ по п. 50, отличающийся тем, что В представляет собой

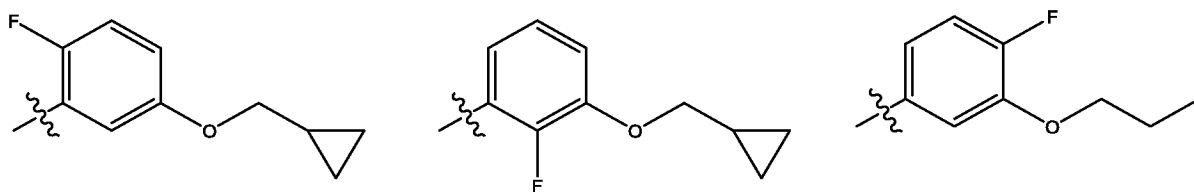
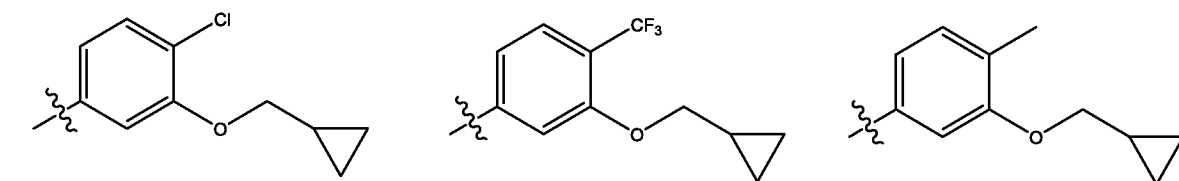
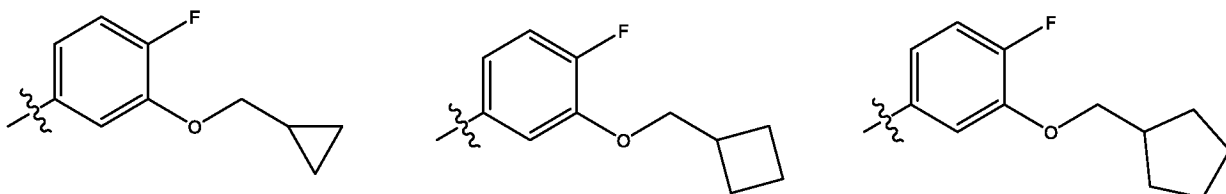
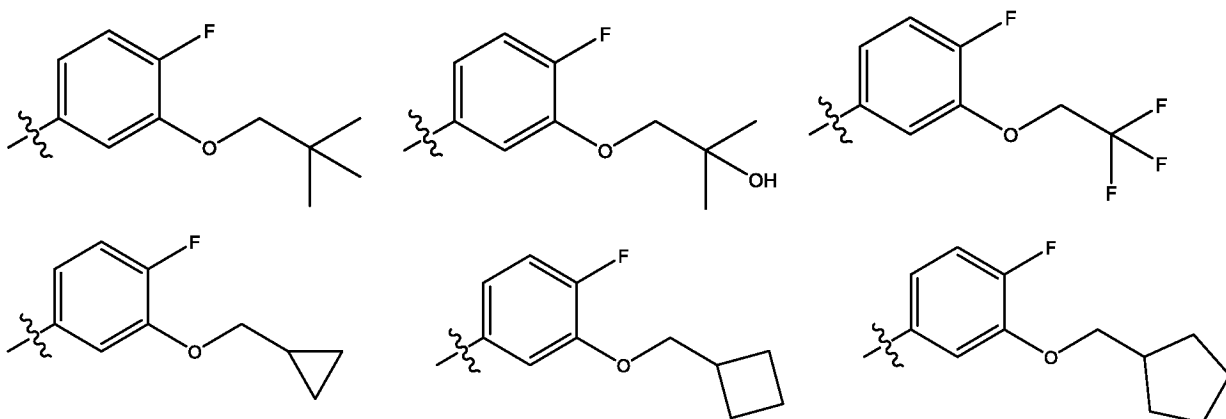


55. Способ по любому из пп. 40–47, отличающийся тем, что В выбран из группы, состоящей из:

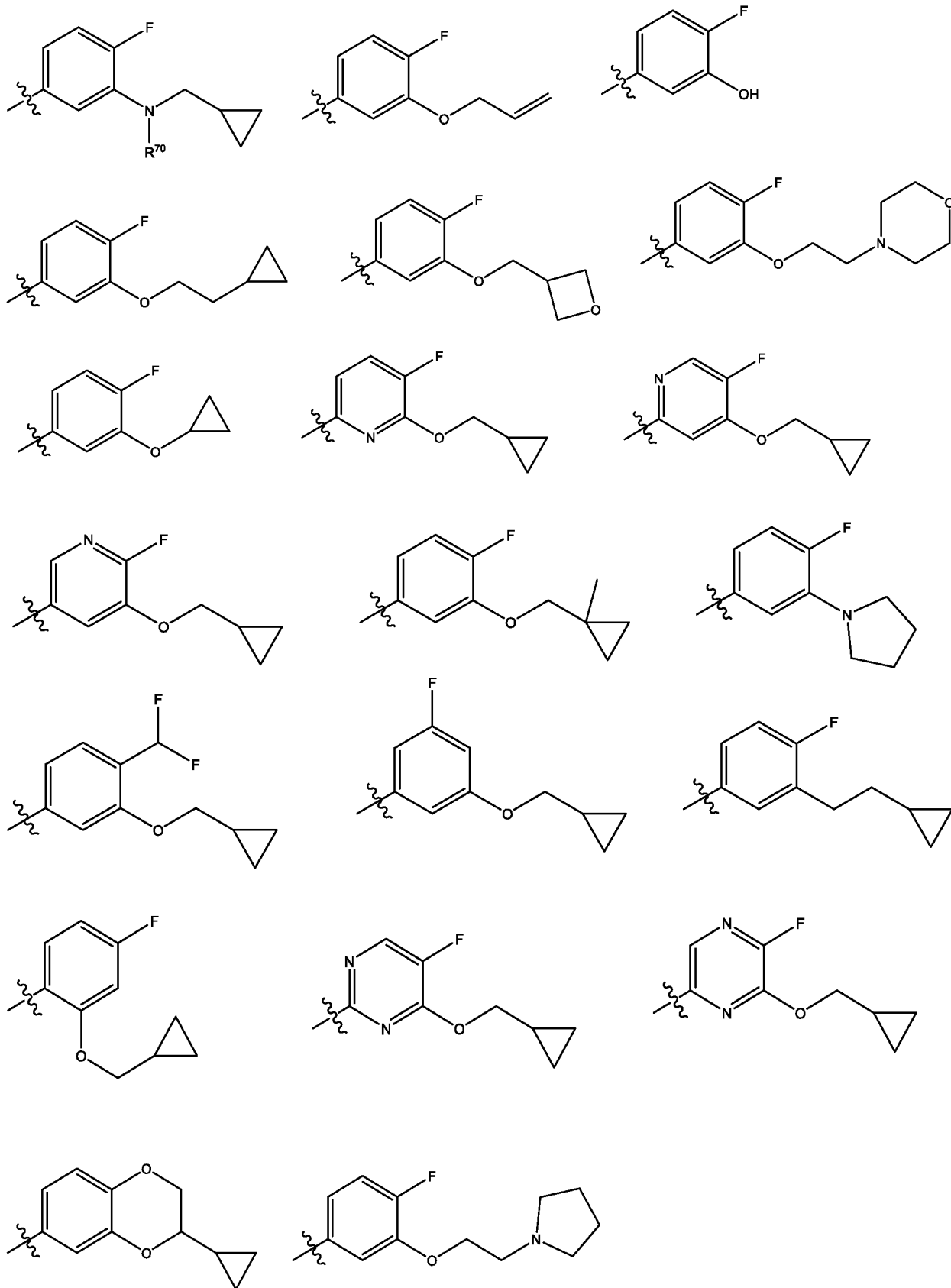




5



10



5

10 где

алкокси-группа дополнительно необязательно замещена, причем 1–5, предпочтительно 1–3 атомов водорода замещены, при этом предпочтительные заместители включают без ограничений, C_1 – C_6 алкил, необязательно замещенный 1–3 галогенами, такими как фтор, и/или C_1 – C_6 алкокси; необязательно замещенный

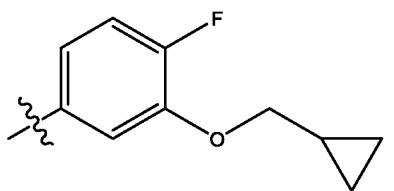
5 C_1 – C_6 алкокси; и галоген, предпочтительно фтор;

кольцевой фрагмент, такой как циклопропильная группа, дополнительно необязательно замещен 1–3 галогенами, предпочтительно 1–2 галогенами;

метиленовая группа между атомом кислорода и кольцевым фрагментом, таким как циклопропильная группа, необязательно замещен 1–2 C_1 – C_6 алкилами, предпочтительно метильными, этильными или пропиловыми группами; и

R^{70} представляет собой необязательно замещенный C_1 – C_{10} алкил.

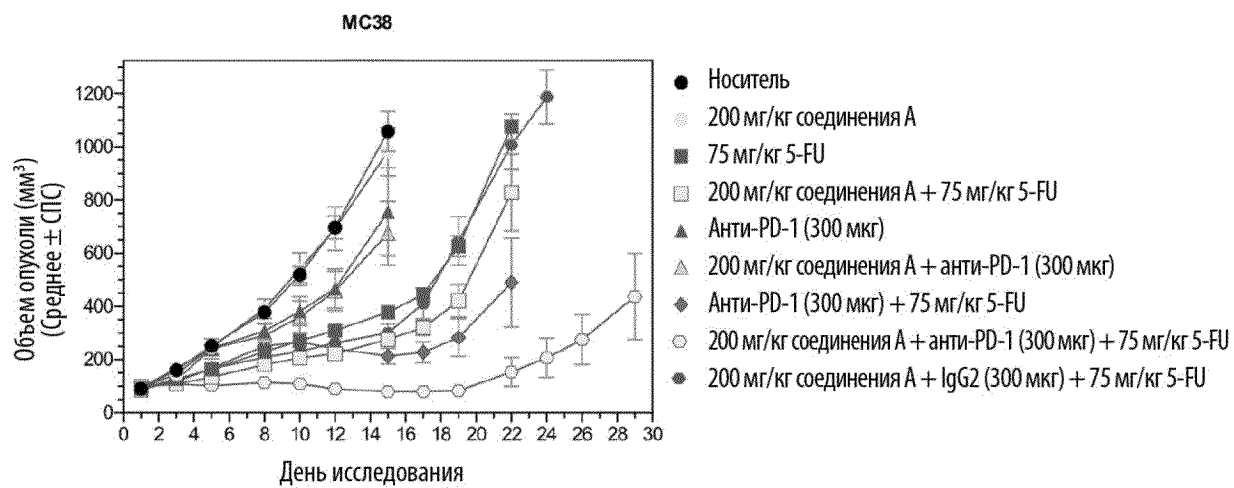
56. Способ по п. 55, отличающийся тем, что В представляет собой



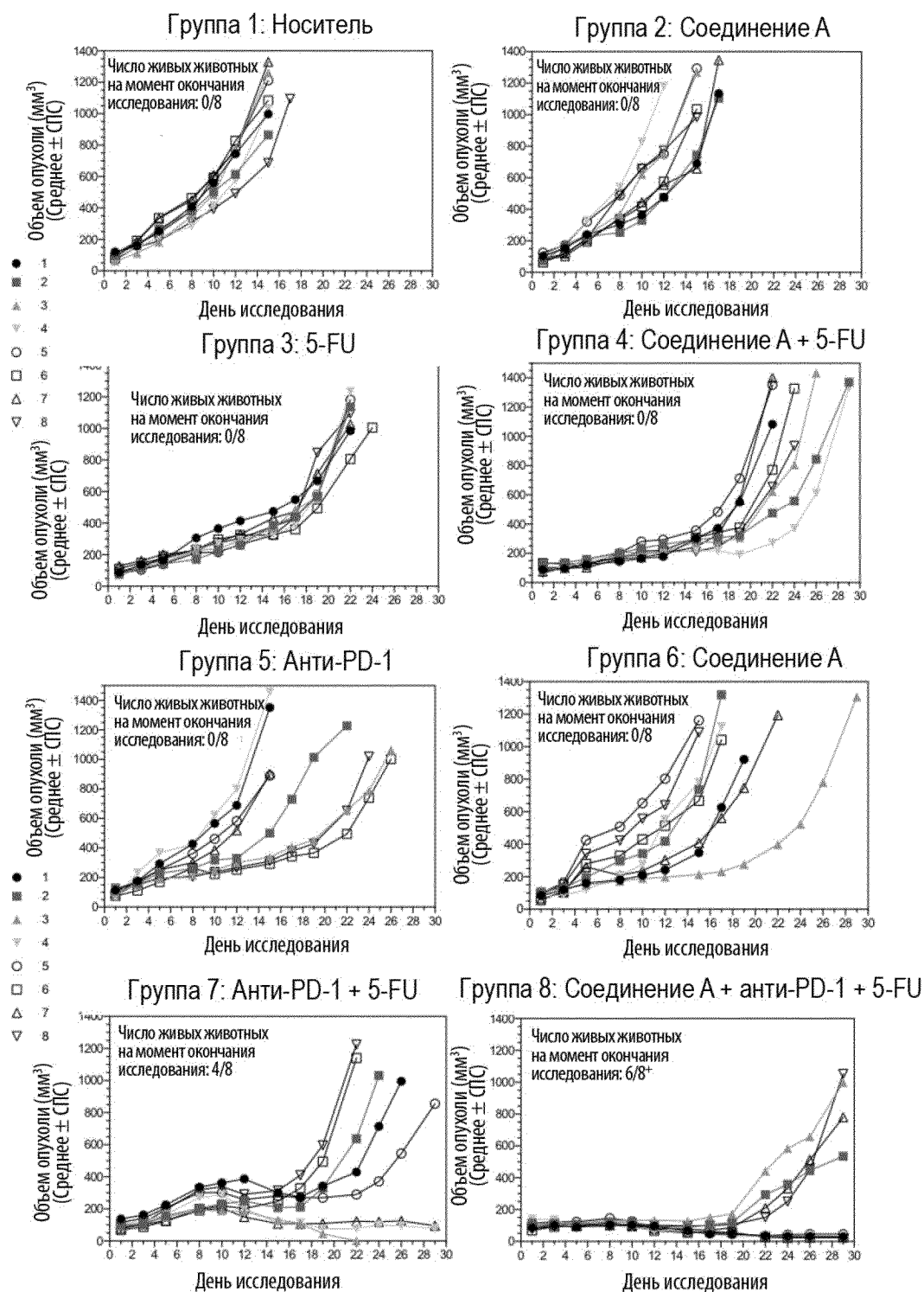
57. Способ по любому из пп. 1–39, отличающийся тем, что ингибитор дУТФазы

15 представляет собой соединение, выбранное из таблиц 1–9.

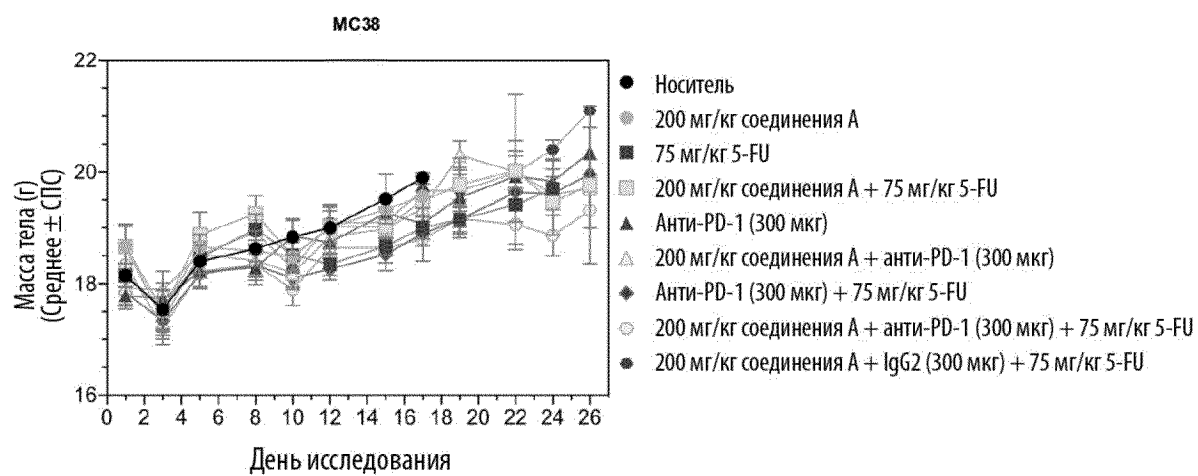
Фиг. 1



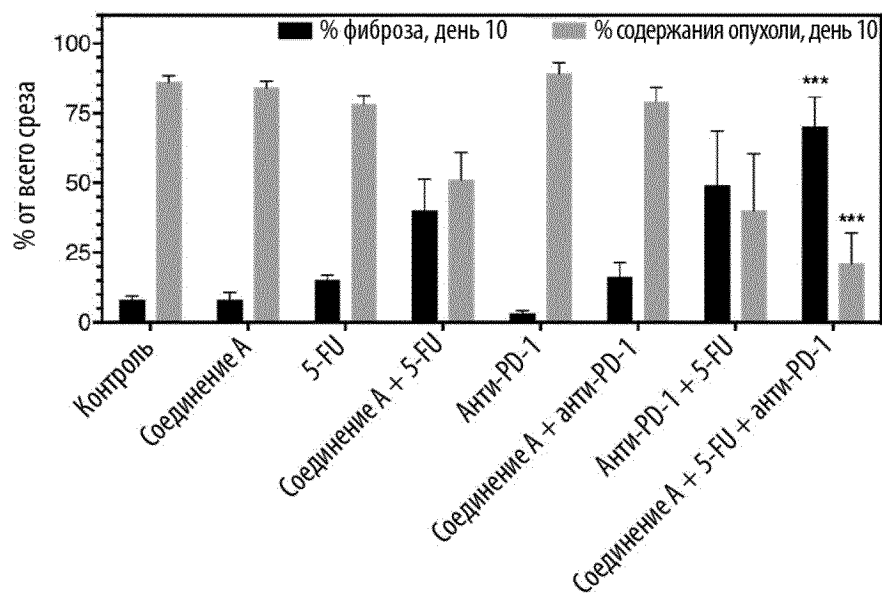
Фиг. 2



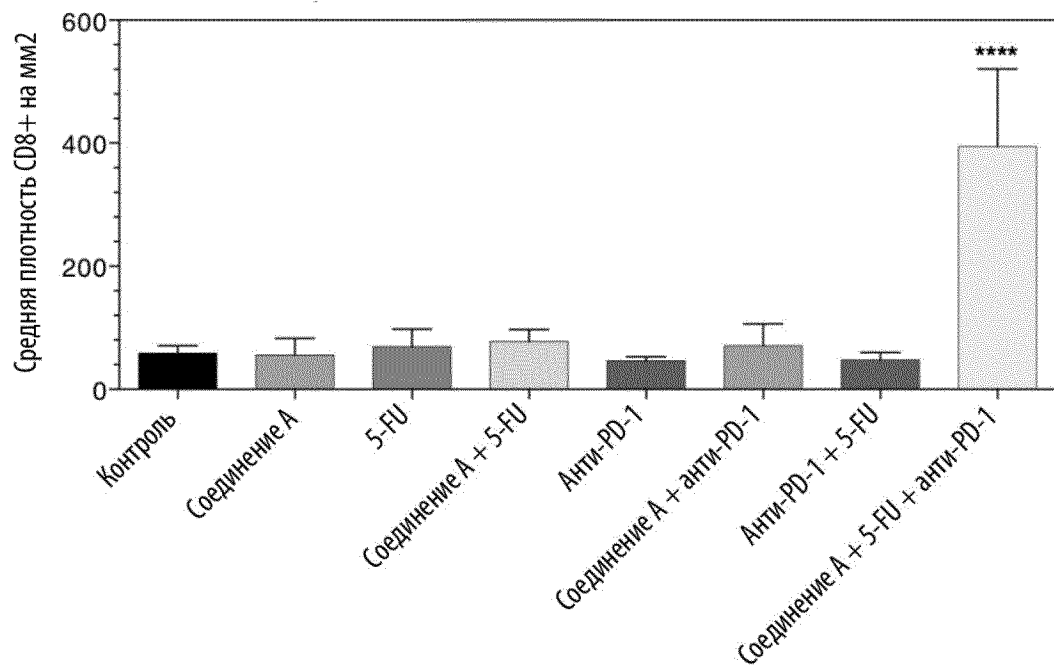
Фиг. 3



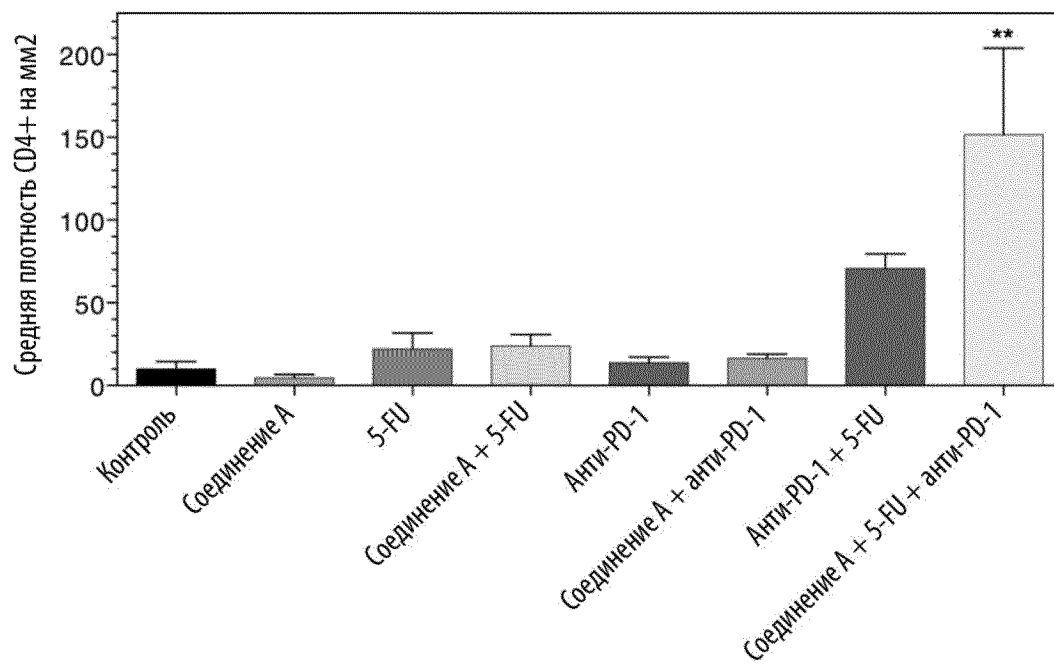
Фиг. 4



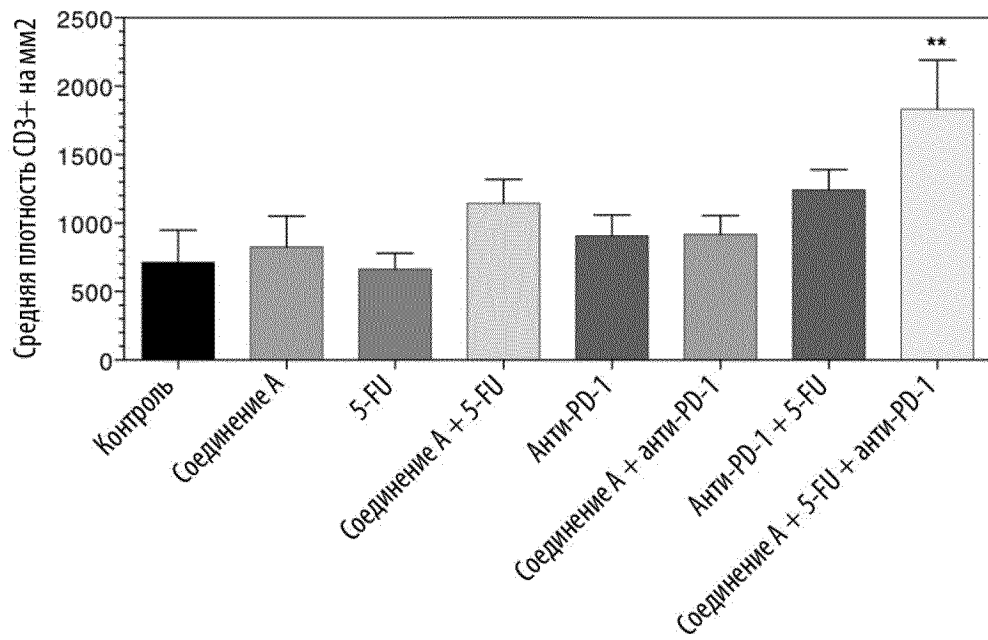
Фиг. 5



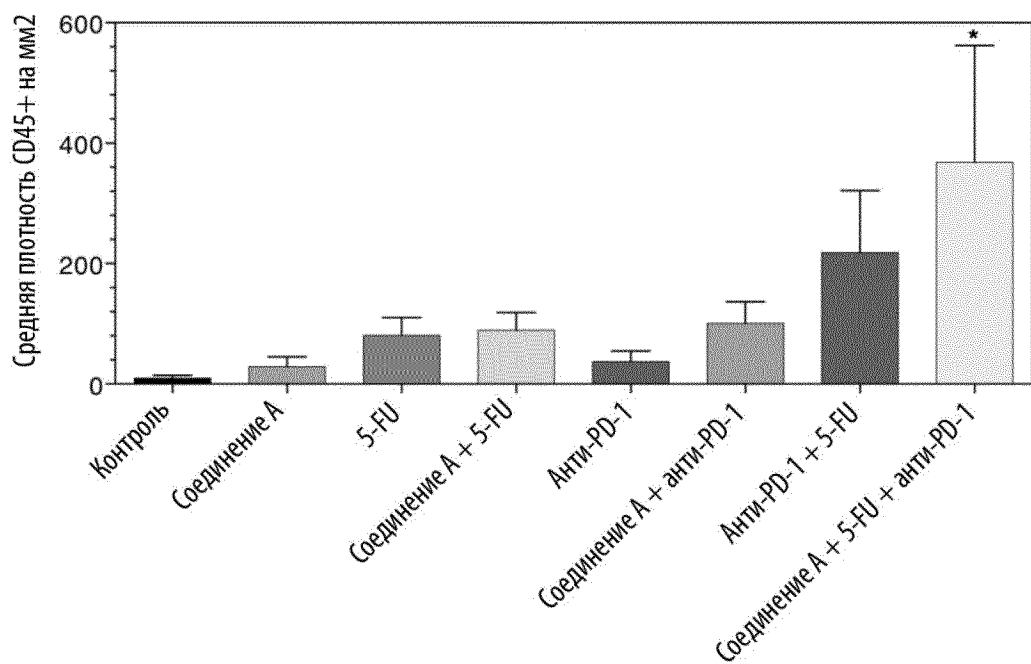
Фиг. 6



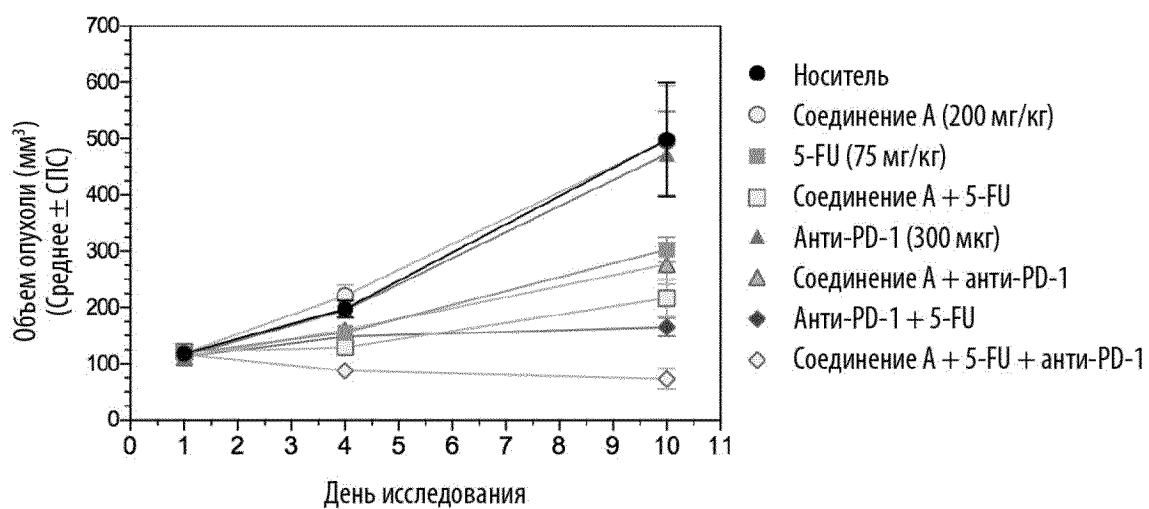
Фиг. 7



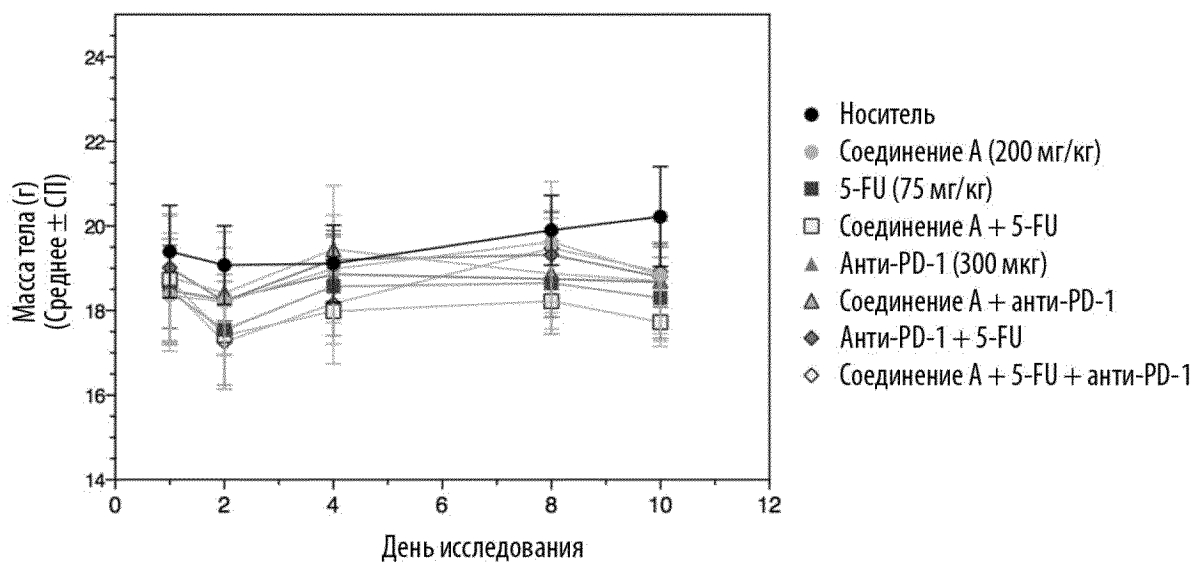
Фиг. 8



Фиг. 9

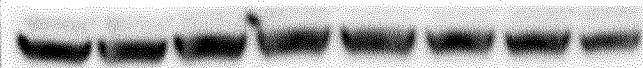


Фиг. 10

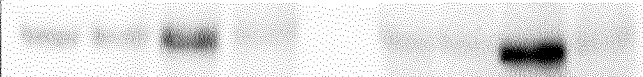
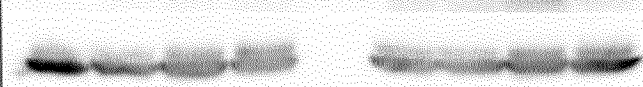


Фиг. 11

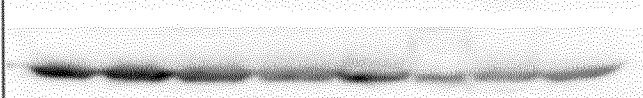
MeWo – меланома

12H				24H				MeWo
-	+	-	+	-	+	-	+	12,5 мкМ соединения А
-	-	+	+	-	-	+	+	1 мкМ FUdR
								PD-L1 50-55 кДа
								β-актин 42 кДа

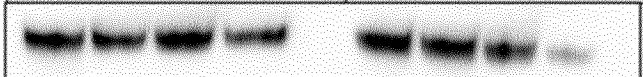
MCF-7 – рак молочной железы

12H				24H				MCF-7
-	+	-	+	-	+	-	+	12,5 мкМ соединения А
-	-	+	+	-	-	+	+	1 мкМ FUdR
								PD-L1 50-55 кДа
								β-актин 42 кДа

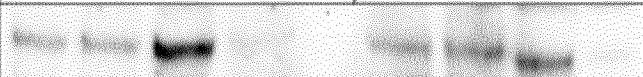
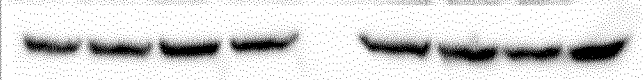
HCT116 – рак толстой кишки

12H				24H				HCT116
-	+	-	+	-	+	-	+	12,5 мкМ соединения А
-	-	+	+	-	-	+	+	1 мкМ FUdR
								PD-L1 50-55 кДа
								β-актин 42 кДа

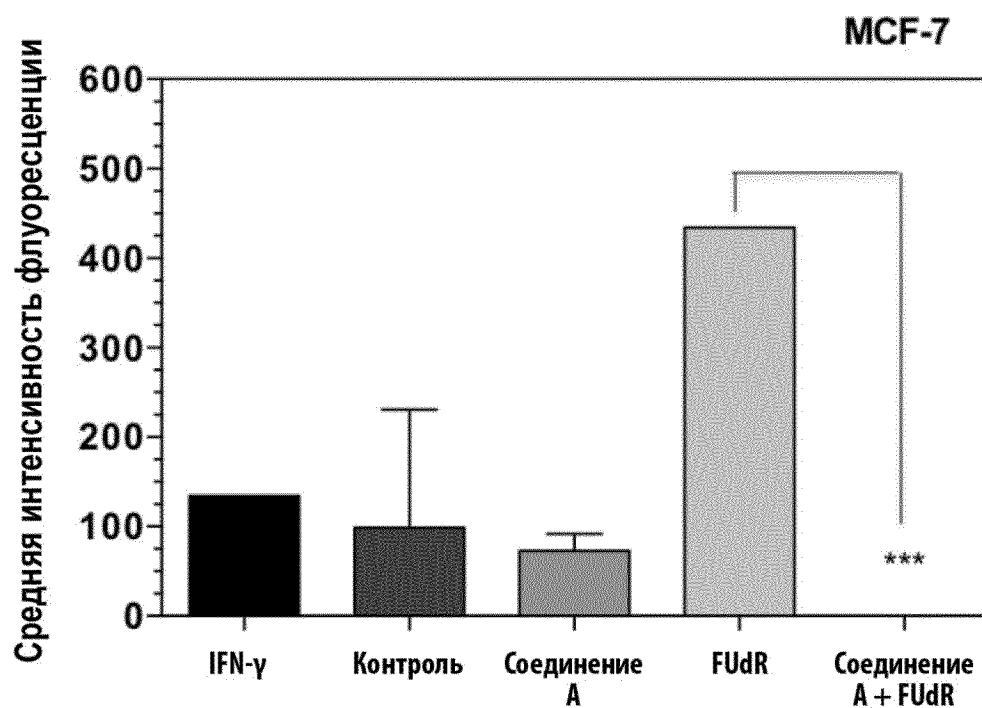
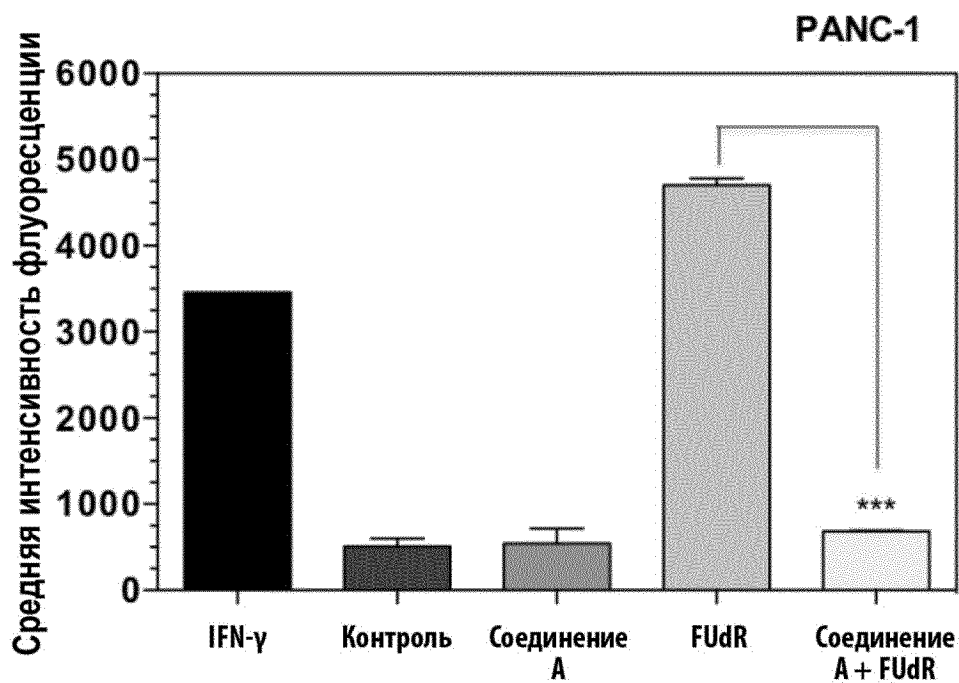
H460 – НМРЛ

12H				24H				H460
-	+	-	+	-	+	-	+	12,5 мкМ соединения А
-	-	+	+	-	-	+	+	1 мкМ FUdR
								PD-L1 50-55 кДа
								β-актин 42 кДа

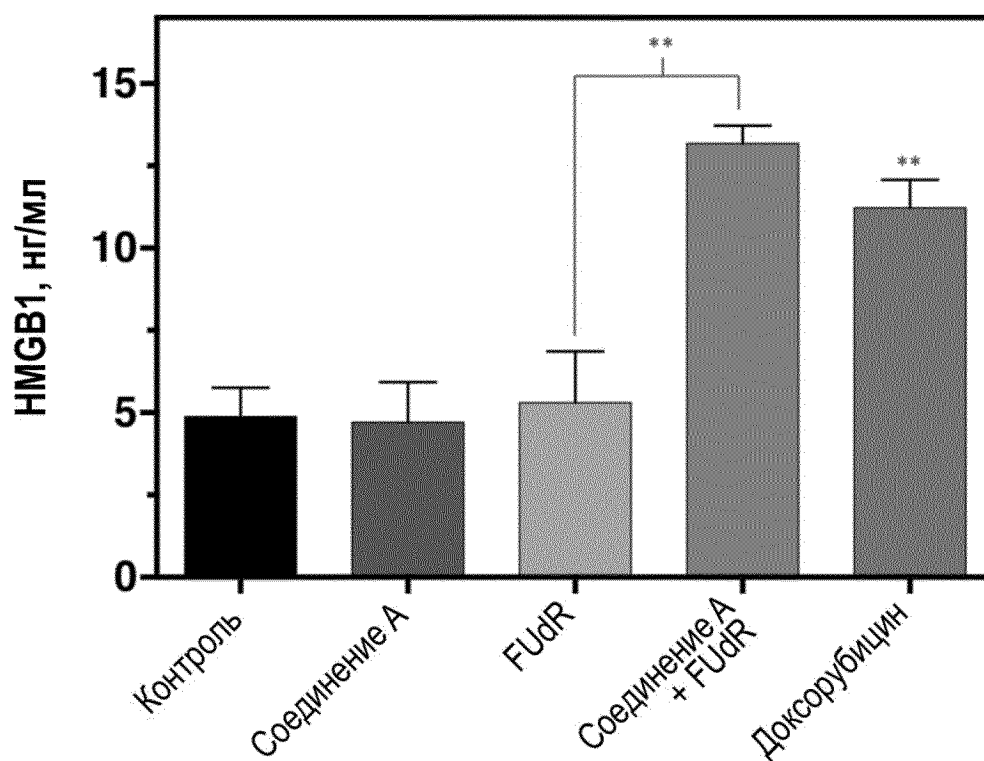
PANC-1 – рак поджелудочной железы

12H				24H				PANC-1
-	+	-	+	-	+	-	+	12,5 мкМ соединения А
-	-	+	+	-	-	+	+	1 мкМ FUdR
								PD-L1 50-55 кДа
								β-актин 42 кДа

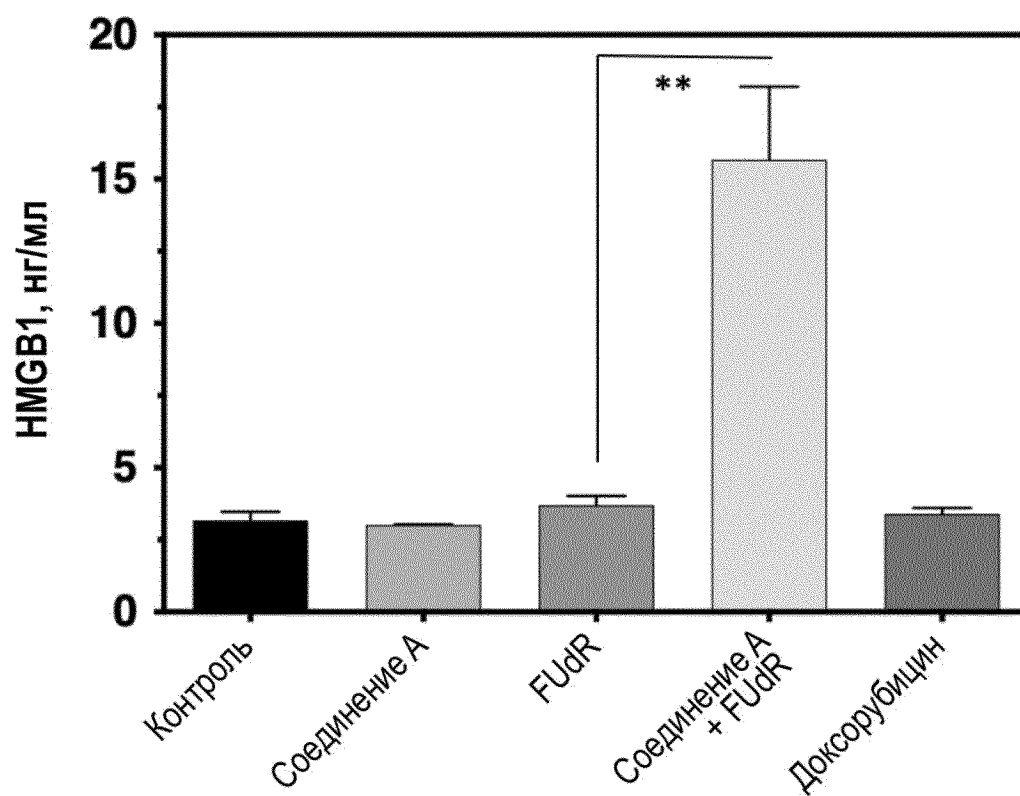
Фиг. 12



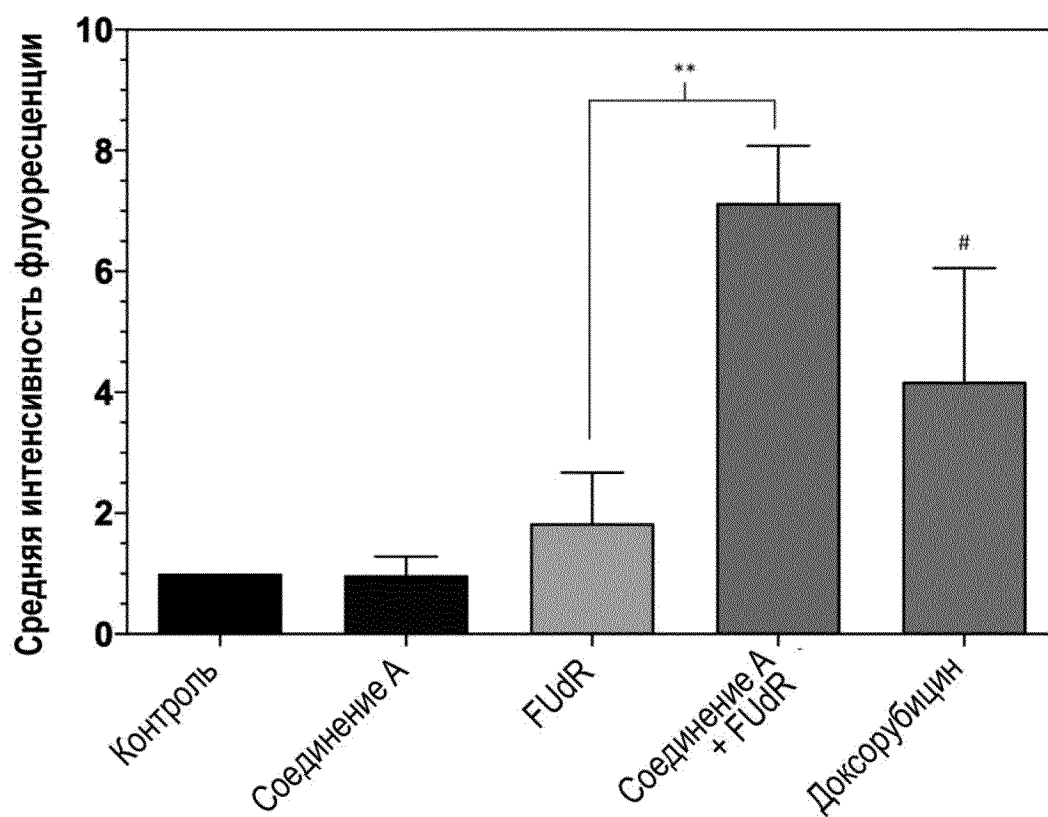
Фиг. 13



Фиг. 14



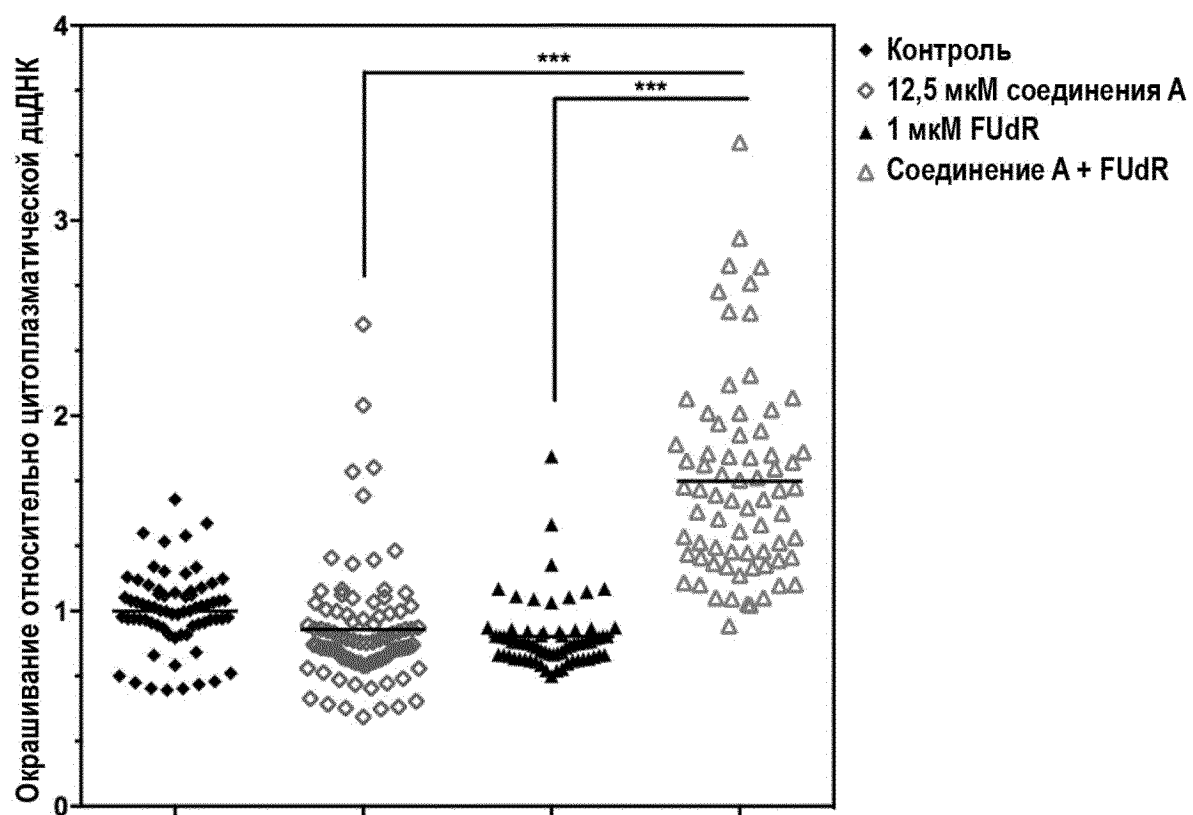
Фиг. 15



Фиг. 16

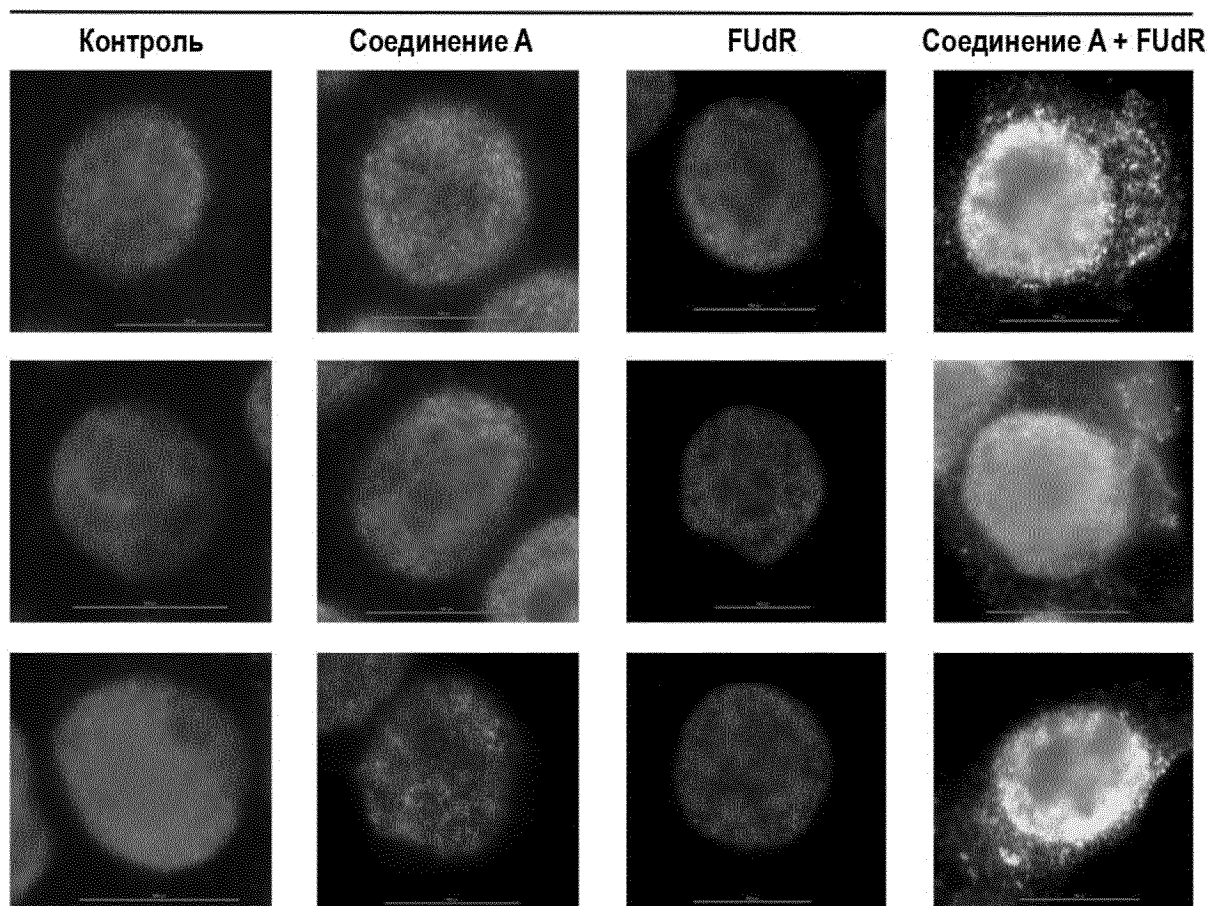


Фиг. 17

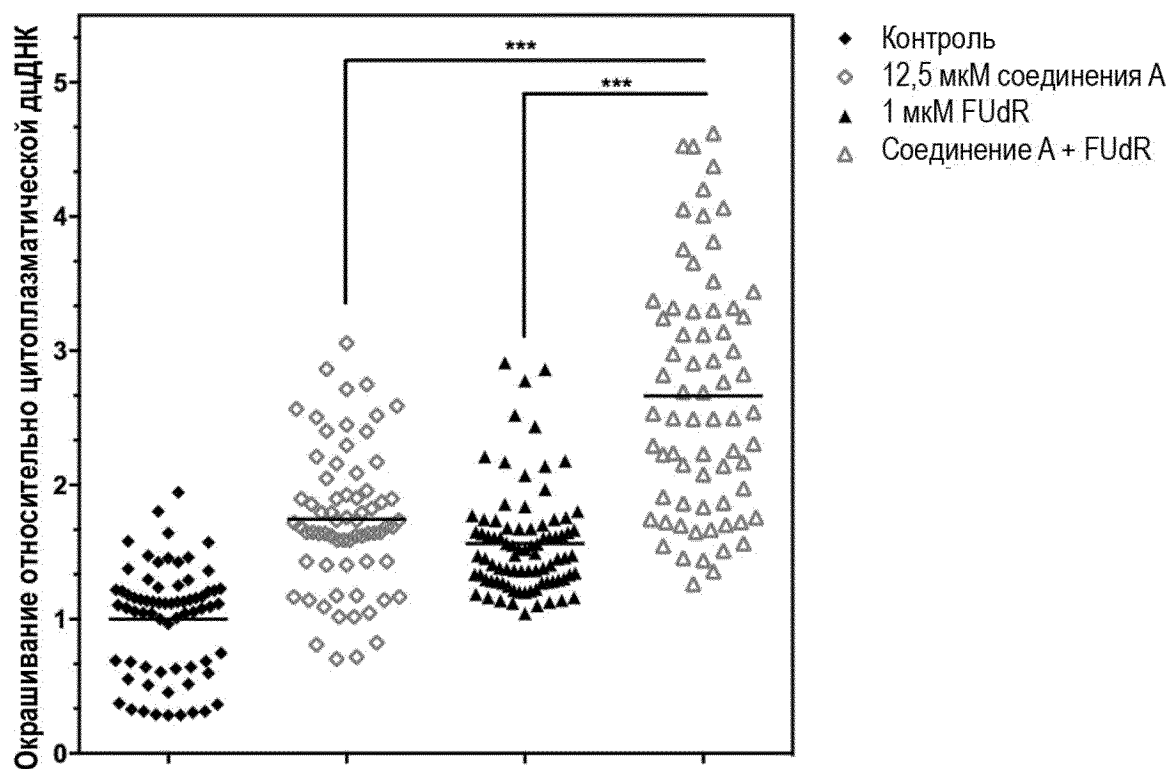


Фиг. 18

HCT116 24h



Фиг. 19



PANC1 24h

