

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 046871

(13) B1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
2024.04.27

(21) Номер заявки  
202193228

(22) Дата подачи заявки  
2020.05.22

(51) Int. Cl. A61K 39/00 (2006.01)  
A61K 39/12 (2006.01)  
A61K 39/145 (2006.01)

## (54) АДЬЮВАНТЫ ВАКЦИН НА ОСНОВЕ ЛИГАНДОВ РЕЦЕПТОРОВ TLR

(31) 62/851,941; 62/975,054

(32) 2019.05.23; 2020.02.11

(33) US

(43) 2022.03.05

(86) PCT/US2020/034258

(87) WO 2020/237164 2020.11.26

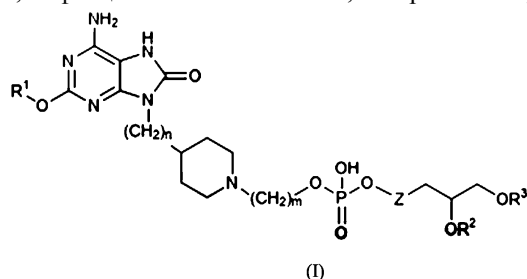
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
ДЗЕ ЮНИВЕРСИТИ ОФ МОНТАНА  
(US)

(72) Изобретатель:  
Базин-Ли Хелен, Буркхарт Дэвид,  
Эванс Джей (US)

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

(56) US-B2-9044481  
HUTANU et al.: "Recent Applications of Polyethylene Glycols (PEGs) and PEG Derivatives", Mod Chem appl. 2014. Vol. 2(2): 1000132, 6 pages, entire document, especially: pg 1, col 1, para 1; pg 1, col 2, para 1.  
US-B2-8067413  
WO-A1-2011017611  
KOLTE et al.: "PEG - A versatile conjugating ligand for drugs and drug delivery systems", Applied Polymer Science. 2009. Vol. 111(1), pp 444-451, entire document.

(57) Липидированные оксоаденины формулы (I) представляют собой лиганды рецепторов TLR7/8, применимые для модулирования иммунных ответов. Соединения могут иметь терапевтическое применение в лечении рака, инфекционных заболеваний, аллергии или аутоиммунных нарушений.



046871  
B1

046871  
B1

### Родственные заявки

Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/851941, поданной 23 мая 2019 г., и предварительной заявке на патент США № 62/975054, поданной 11 февраля 2020 г., полное содержание которых включено посредством ссылки.

### Заявление о заинтересованности правительства

Настоящее изобретение было создано при поддержке правительства в рамках контракта № HNSN272200900036С, заключенного Национальными институтами здравоохранения. Правительство имеет определенные права на настоящее изобретение.

### Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к липидированным соединениям-лигандам рецепторов TLR7/8 и способам их применения, например, в качестве адъювантов вакцин.

### Предпосылки изобретения

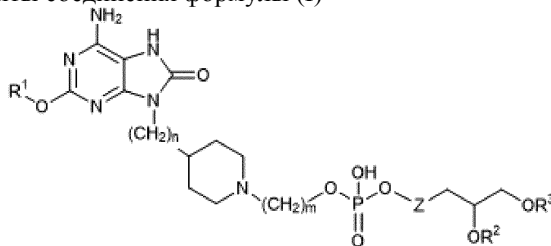
Разработка новых адъювантов вакцин и видов иммуноterapiи на основе лигандов Toll-подобных рецепторов (TLR) является быстро расширяющейся областью исследований в течение последних 10 лет с клинической эффективностью по множеству показаний и несколькими одобренными продуктами. Из 10 известных типов TLR, которые были идентифицированы у людей, пять типов связаны с распознаванием компонентов бактериальной клетки (TLR 1, 2, 4, 5, 6), а четыре других (TLR 3, 7, 8, 9), по-видимому, ограничены цитоплазматическими компартментами и участвуют в выявлении вирусной РНК (TLR 3, 7, 8) и метилированной ДНК (TLR9).

Один из наиболее перспективных классов иммунотерапевтических средств включает соединения, нацеленные на TLR7/8. Несколько различных классов малых молекул имитируют естественные лиганды TLR7/8 на основе (U- и/или G-обогащенной) вирусной ssRNA. К ним относятся оксогуанозины, которые в первую очередь взаимодействуют с TLR7 и производными аденина, которые взаимодействуют с TLR7 и/или TLR8. Одним из классов TLR-активных производных аденина являются оксоаденины, которые изначально были разработаны для преодоления определенных побочных эффектов, связанных с имидазохинолинами. Несмотря на тот факт, что класс оксоаденинов демонстрирует лучшие общие профили токсичности/биоактивности, чем имидазохинолины, введение все же может приводить к системному воспалительному ответу, ограничивающему их применение у человека в клинических условиях. В действительности большинство агонистов TLR7/8, разрабатываемых в настоящее время, имеют тенденцию проявлять токсические свойства, являются нерастворимыми или нестабильными и/или обладают несущественным иммуностимулирующим эффектом.

Следовательно, существует потребность в эффективных и безопасных соединениях-лигандах рецепторов TLR7 и/или TLR8 для вакцин и иммунотерапевтических средств.

### Краткое описание

В одном аспекте раскрыты соединения формулы (I)



(I),

или их фармацевтически приемлемая соль, где

R<sup>1</sup> представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>алкил;

R<sup>2</sup> представляет собой H, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкил, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкенил или C(O)R<sup>4</sup>;

R<sup>3</sup> представляет собой C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкил, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкенил или C(O)R<sup>4</sup>;

R<sup>4</sup> в каждом случае независимо выбран из C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкила и C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкенила;

n равняется 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

m равняется 2, 3, 4, 5 или 6;

Z представляет собой (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>алкилен-O)<sub>q</sub> и

q равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20.

В другом аспекте настоящее изобретение предусматривает фармацевтическую композицию, содержащую соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

В другом аспекте настоящее изобретение предусматривает вакцинную композицию, содержащую соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и антиген.

В другом аспекте настоящее изобретение предусматривает состав, содержащий микрочастицу или наночастицу, включающие соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте настоящее изобретение предусматривает адъювантную композицию, содержащую

соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте настоящее изобретение предусматривает способ модулирования иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции на его основе.

Другой аспект настоящего изобретения предусматривает способ лечения, предупреждения или снижения предрасположенности к раку у субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции на его основе.

Другой аспект настоящего изобретения предусматривает способ лечения, предупреждения или снижения предрасположенности к инфекционному заболеванию у субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции на его основе.

Другой аспект настоящего изобретения предусматривает способ лечения, предупреждения или снижения предрасположенности к аллергии у субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции на его основе.

Другой аспект настоящего изобретения предусматривает способ лечения, предупреждения или снижения предрасположенности к аутоиммунному состоянию у субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции на его основе.

В другом аспекте настоящее изобретение предусматривает соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль или фармацевтическую композицию на его основе для применения в способе модулирования иммунного ответа.

В другом аспекте настоящее изобретение предусматривает соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль или фармацевтическую композицию на его основе для применения в способе лечения, предупреждения или снижения предрасположенности к раку, инфекционному заболеванию, аллергии или аутоиммунному состоянию.

В другом аспекте настоящее изобретение предусматривает применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции на его основе для изготовления лекарственного препарата для модулирования иммунного ответа.

В другом аспекте настоящее изобретение предусматривает применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции на его основе для изготовления лекарственного препарата для лечения, предупреждения или снижения предрасположенности к раку, инфекционному заболеванию, аллергии или аутоиммунному состоянию.

Другие аспекты и варианты осуществления настоящего изобретения станут очевидными из следующего описания и графических материалов.

#### **Краткое описание графических материалов**

На фиг. 1 показаны структурные формулы соединений CRX-601, соединения А, соединения В и соединения С.

Фиг. 2А и фиг. 2В представляют собой графики ответов  $INF\alpha$  (фиг. 2А) и  $IL-12p70$  (фиг. 2В) в супернатантах из РВМС человека, стимулированных различными концентрациями выбранных соединений-агонистов TLR.

Фиг. 3А, 3В, 3С и 3D представляют собой графики титров антигенспецифических IgG (фиг. 3А-3В) и IgG2A (фиг. 3С-3D), наблюдаемых в исследовании с применением расщепленного вируса гриппа, проведенном на мышах с различными концентрациями липосомального состава на основе CRX-601, UM-1007 или совместно инкапсулированных CRX-601 и UM-1007. Значения регистрировали через 14 дней после однократной внутримышечной вакцинации мышей, ранее не получавших лечение (14dp1, фиг. 3А, 3С), и после введения второй бустерной дозы вакцины (14dp2, фиг. 3В, 3D).

Фиг. 4А и 4В представляют собой графики титров IgG1 (фиг. 4А) и IgG2 (фиг. 4В), наблюдаемых в исследовании с применением расщепленного вируса гриппа, проведенном на юкатанских минипигах с различными концентрациями липосомальных составов на основе CRX-601, UM-1007 или совместно инкапсулированных CRX-601 и UM-1007. Значения регистрировали через 14 дней после введения второй бустерной дозы вакцины (14dp2).

Фиг. 5А, 5В и 5С представляют собой графики ответов  $TNF\alpha$  (фиг. 5А),  $INF\alpha$  (фиг. 5В) и  $IL-12p70$  (фиг. 5С) в супернатантах из РВМС человека, стимулированных различными концентрациями агонистов TLR, CRX-601, соединения А и соединения С.

Фиг. 6А и 6В представляют собой графики, на которых показано влияние на средний объем опухоли и медианный объем опухоли у молодых самок мышей линии Balb/c после обработки с помощью 10 мкг или 50 мкг UM-1007.

### Подробное описание

В данном документе описан класс соединений, которые могут действовать как лиганды TLR 7/8, которые могут быть применимы для новых адъювантов вакцины и видов иммунотерапии. Лиганды TLR 7/8 представляют собой новые ПЭГилированные и липидированные оксоадениновые соединения. Было показано, что соединения по настоящему изобретению являются индукторами интерферона- $\alpha$  и других иммуностимулирующих цитокинов и могут обладать улучшенным профилем активность-токсичность по сравнению с другими известными лигандами TLR 7/8 на основе оксоаденина.

#### 1. Определения

Если не указано иное, то все технические и научные термины, применяемые в данном документе, имеют те же значения, которые обычно понятны специалисту средней квалификации в данной области. В случае противоречия настоящий документ, включая определения, будет иметь преимущественную силу. Предпочтительные способы и материалы описаны ниже, хотя при практическом осуществлении или тестировании можно применять способы и материалы, подобные или эквивалентные описанным в данном документе. Все публикации, заявки на патенты, патенты и другие ссылки, упомянутые в данном документе, включены посредством ссылки во всей своей полноте. Материалы, способы и примеры, раскрытые в данном документе, являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения.

Термины "содержат(содержит)", "включают(включает)", "характеризующийся", "имеет", "может", "вмещают(вмещает)" и их варианты, применяемые в данном документе, предназначены для использования как неограничивающие переходные фразы, термины или слова, которые не исключают возможность дополнительных действий или структур. Форма существительного единственного числа включают форму множественного числа, если в контексте явно не обозначено иное. Настоящее изобретение также предусматривает другие варианты осуществления "содержащие", "состоящие из" и "по сути состоящие из" вариантов осуществления или элементов, представленных в данном документе, независимо от того, изложены ли они явно или нет.

Модификатор "приблизительно", применяемый в сочетании с количеством, включает указанную величину и имеет значение, определяемое контекстом (например, он включает по меньшей мере степень ошибки, связанной с измерением конкретного количества). Модификатор "приблизительно" также следует рассматривать как раскрывающий диапазон, определяемый абсолютными значениями двух конечных точек. Например, выражение "от приблизительно 2 до приблизительно 4" также раскрывает диапазон "от 2 до 4". Термин "приблизительно" может относиться к плюс или минус 10% от указанного числа. Например, "приблизительно 10%" может определять диапазон от 9 до 11%, а "приблизительно 1" может означать от 0,9 до 1,1. Другие значения "приблизительно" могут быть очевидны из контекста, например округление, поэтому, например, "приблизительно 1" может также означать от 0,5 до 1,4.

Термин "иммунный ответ" включает любой ответ, связанный с врожденным и приобретенным иммунитетом, включая без ограничения увеличение или уменьшение экспрессии, продуцирования или секреции цитокинов (например, экспрессии, продуцирования или секреции IL-1, IL-6, IL-17, TNF $\alpha$ ), цитотоксичность, миграцию иммунных клеток, продуцирование антител и/или иммунные ответы клеток.

Фраза "модулирующий иммунный ответ" или "модулирование иммунного ответа", или "модулируют иммунный ответ" включает положительную регуляцию, потенцирование, стимулирование, усиление или увеличение иммунного ответа, как определено в данном документе.

Определения конкретных функциональных групп и химических терминов описаны более подробно ниже. Для целей настоящего изобретения химические элементы идентифицируют в соответствии с периодической таблицей элементов, версия CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75<sup>th</sup> Ed., внутренняя сторона обложки, и конкретные функциональные группы, как правило, определяют, как описано в нем. Кроме того, общие принципы органической химии, а также конкретные функциональные фрагменты и реакционная способность описаны в Organic Chemistry, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito, 1999; Smith and March March's Advanced Organic Chemistry, 5<sup>th</sup> Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, 2001; Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, Inc., New York, 1989; Carruthers, Some Modern Methods of Organic Synthesis, 3<sup>rd</sup> Edition, Cambridge University Press, Cambridge, 1987, полное содержание каждого из которых включено в данный документ посредством ссылки.

Термин "алкил", применяемый в данном документе, означает прямую или разветвленную насыщенную углеводородную цепь, содержащую от 1 до 10 атомов углерода. Термин "низший алкил" или "C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил" означает углеводород с прямой или разветвленной цепью, содержащий от 1 до 6 атомов углерода. Термин "C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил" означает углеводород с прямой или разветвленной цепью, содержащий от 1 до 3 атомов углерода. Иллюстративные примеры алкила включают без ограничения метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, неопентил, н-гексил, 3-метилгексил, 2,2-диметилпентил, 2,3-диметилпентил, 4,4-диметилпентан-2-ил, н-гептил, н-октил, н-нонил и н-децил.

Термин "алкенил", применяемый в данном документе, означает прямую или разветвленную углеводородную цепь, содержащую по меньшей мере одну двойную связь углерод-углерод и от 1 до 10 атомов углерода.

Термин "алкилен", применяемый в данном документе, относится к двухвалентной группе, полученной из углеводорода с прямой или разветвленной цепью от 1 до 10 атомов углерода, например от 2 до 5 атомов углерода. Иллюстративные примеры алкилена включают без ограничения  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$  и  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ .

В некоторых случаях количество атомов углерода в углеводородном заместителе (например, алкиле или циклоалкиле) обозначается приставкой "C<sub>x</sub>-C<sub>y</sub>", где x равняется минимальному, а y равняется максимальному количеству атомов углерода в заместителе. Таким образом, например, "C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-алкил" относится к алкильному заместителю, содержащему от 1 до 3 атомов углерода.

Термин "заместители" относится к группе, "замещенной" арильной, гетероарильной, фенильной или пиридиновой группой у любого атома этой группы. Любой атом может быть замещен.

Термин "замещенный" относится к группе, которая может быть дополнительно замещена одной или несколькими неводородными замещающими группами. Замещающие группы включают без ограничения галоген, =O (оксо), =S (тиоксо), циано, нитро, фторалкил, алкоксифторалкил, фторалкокси, алкил, алкенил, алкинил, галогеналкил, галогеналкокси, гетероалкил, циклоалкил, циклоалкенил, арил, гетероарил, гетероцикл, циклоалкилалкил, гетероарилалкил, арилалкил, гидроксид, гидроксиалкил, алкокси, алкоксиалкил, алкилен, арилокси, фенокси, бензилокси, амино, алкиламино, ациламино, аминоалкил, ариламино, сульфоамино, сульфинамино, сульфонил, алкилсульфонил, арилсульфонил, аминосульфонил, сульфинил, -COOH, кетон, амид, карбамат и ацил. Например, если группа описана как "необязательно замещенная" (такая как алкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил, циклоалкил, гетероалкил, гетероцикл или другая группа, такая как группа R), она может иметь 0, 1, 2, 3, 4 или 5 заместителей, независимо выбранных из галогена, =O (оксо), =S (тиоксо), циано, нитро, фторалкила, алкоксифторалкила, фторалкокси, алкила, алкенила, алкинила, галогеналкила, галогеналкокси, гетероалкила, циклоалкила, циклоалкенила, арила, гетероарила, гетероцикла, циклоалкилалкила, гетероарилалкила, арилалкила, гидроксид, гидроксиалкила, алкокси, алкоксиалкила, алкилена, арилокси, фенокси, бензилокси, амино, алкиламино, ациламино, аминоалкила, ариламино, сульфоамино, сульфинамино, сульфонил, алкилсульфонил, арилсульфонил, аминосульфонил, сульфинил, -COOH, кетона, амида, карбамата и ацила.

Термин  $\overset{\sim}{\sim}$  обозначает одинарную связь (—) или двойную связь (=).

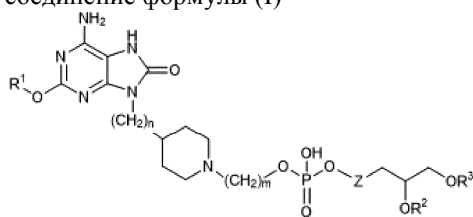
Для соединений, описанных в данном документе, группы и заместители могут быть выбраны в соответствии с допустимой валентностью атомов и заместителей таким образом, что выбор и замещения приводят к получению стабильного соединения, например, которое не подвергается самопроизвольному преобразованию, например, путем перегруппировки, циклизации, элиминирования и т.д.

Если замещающие группы указаны с помощью их общепринятых химических формул, записанных слева направо, такая формула также охватывает тот же заместитель, который получился бы при написании структуры справа налево. Например,  $-\text{CH}_2\text{NH}-$  также охватывает  $-\text{NHCH}_2-$ .

В данном документе для перечисления числовых диапазонов явно предусматривается каждое промежуточное число между ними с одинаковой степенью точности. Например, для диапазона 6-9, числа 7 и 8 предусмотрены в дополнение к 6 и 9, а для диапазона 6,0-7,0 явно предусмотрены числа 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 и 7,0.

## 2. Соединения

В одном аспекте раскрыто соединение формулы (I)



(I).

или его фармацевтически приемлемая соль, где

R<sup>1</sup> представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>алкил;

R<sup>2</sup> представляет собой H, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкил, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкенил или C(O)R<sup>4</sup>;

R<sup>3</sup> представляет собой C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкил, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкенил или C(O)R<sup>4</sup>;

R<sup>4</sup> в каждом случае независимо выбран из C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкила и C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкенила;

n равняется 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

m равняется 2, 3, 4, 5 или 6;

Z представляет собой (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>алкилен-O)<sub>q</sub> и

q равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20.

В некоторых вариантах осуществления R<sup>2</sup> представляет собой водород или C(O)R<sup>4</sup>, где R<sup>4</sup>, если присутствует, в каждом случае независимо выбран из (CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>CH<sub>3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>CH<sub>3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CH<sub>3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CH<sub>3</sub> и (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH=CH(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub>.

В некоторых вариантах осуществления R<sup>3</sup> представляет собой C(O)R<sup>4</sup>, где R<sup>4</sup> в каждом случае независимо выбран из (CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>CH<sub>3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>CH<sub>3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CH<sub>3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CH<sub>3</sub> и (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH=CH(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub>.

В некоторых вариантах осуществления  $R^4$  в каждом случае независимо выбран из  $(CH_2)_{10}CH_3$ ,  $(CH_2)_{12}CH_3$ ,  $(CH_2)_{14}CH_3$ ,  $(CH_2)_{16}CH_3$  и  $(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7CH_3$ . В некоторых вариантах осуществления  $R^4$  представляет собой  $(CH_2)_{14}CH_3$ .

В некоторых вариантах осуществления каждый из  $R^2$  и  $R^3$  представляет собой  $C(O)R^4$ , где  $R^4$  в каждом случае независимо выбран из  $(CH_2)_{10}CH_3$ ,  $(CH_2)_{12}CH_3$ ,  $(CH_2)_{14}CH_3$ ,  $(CH_2)_{16}CH_3$  и  $(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7CH_3$ . В некоторых вариантах осуществления каждый из  $R^2$  и  $R^3$  представляет собой  $C(O)R^4$ , где  $R^4$  в каждом случае представляет собой  $(CH_2)_{14}CH_3$ .

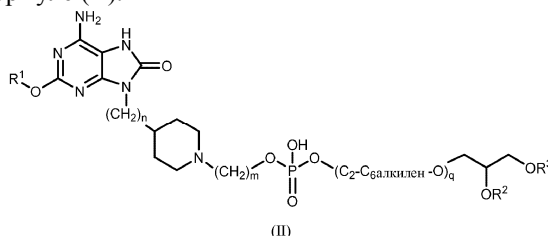
В некоторых вариантах осуществления  $R^2$  представляет собой водород, а  $R^3$  представляет собой  $C(O)R^4$ , где  $R^4$  выбран из  $(CH_2)_{10}CH_3$ ,  $(CH_2)_{12}CH_3$ ,  $(CH_2)_{14}CH_3$ ,  $(CH_2)_{16}CH_3$  и  $(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7CH_3$ .

В некоторых вариантах осуществления  $n$  равняется 1. В некоторых вариантах осуществления  $m$  равняется 2. В иллюстративных вариантах осуществления  $n$  равняется 1, а  $m$  равняется 2.

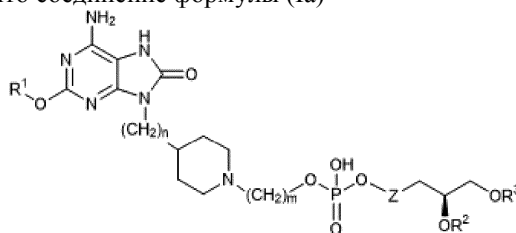
В некоторых вариантах осуществления  $Z$  представляет собой  $(C_2\text{алкилен-O})_q$ , где  $q$  равняется 3, 6, 9, 12 или 16. В иллюстративных вариантах осуществления  $q$  равняется 3.  $q$  может равняться 3, 6, 9, 12 или 16 в любом из вариантов осуществления в данном документе.

Алкилен  $Z$  может представлять собой алкилен с прямой цепью, т.е.  $n$ -алкилен. Например,  $Z$  может представлять собой  $(C_2\text{-}C_6n\text{-алкилен-O})_q$ .  $Z$  может представлять собой  $(CH_2CH_2-O)_q$ .  $Z$  может представлять собой  $(CH_2CH_2-O)_3$ .  $Z$  может представлять собой  $(CH_2CH_2-O)_6$ .  $Z$  может представлять собой  $(CH_2CH_2-O)_9$ .  $Z$  может представлять собой  $(CH_2CH_2-O)_{12}$  или  $Z$  может представлять собой  $(CH_2CH_2-O)_{16}$ .

В соединениях, раскрытых в данном документе,  $Z$  ориентирован таким образом, что концевой атом углерода  $Z$  присоединен к фосфатному фрагменту, а атом кислорода  $Z$  является частью глициринового фрагмента, как показано в формуле (II).



В другом аспекте раскрыто соединение формулы (Ia)



или его фармацевтически приемлемая соль, где

$R^1$  представляет собой  $C_1$ - $C_8$ алкил;

$R^2$  представляет собой H,  $C_6$ - $C_{20}$ алкил,  $C_6$ - $C_{20}$ алкенил или  $C(O)R^4$ ;

$R^3$  представляет собой  $C_6$ - $C_{20}$ алкил,  $C_6$ - $C_{20}$ алкенил или  $C(O)R^4$ ;

$R^4$  в каждом случае независимо выбран из  $C_6$ - $C_{20}$ алкила и  $C_6$ - $C_{20}$ алкенила;

$n$  равняется 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

$m$  равняется 2, 3, 4, 5 или 6;

$Z$  представляет собой  $(C_2\text{-}C_6\text{алкилен-O})_q$  и

$q$  равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20.

В некоторых вариантах осуществления  $R^2$  представляет собой водород или  $C(O)R^4$ , где  $R^4$ , если присутствует, в каждом случае независимо выбран из  $(CH_2)_{10}CH_3$ ,  $(CH_2)_{12}CH_3$ ,  $(CH_2)_{14}CH_3$ ,  $(CH_2)_{16}CH_3$  и  $(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7CH_3$ .

В некоторых вариантах осуществления  $R^3$  представляет собой  $C(O)R^4$ , где  $R^4$  в каждом случае независимо выбран из  $(CH_2)_{10}CH_3$ ,  $(CH_2)_{12}CH_3$ ,  $(CH_2)_{14}CH_3$ ,  $(CH_2)_{16}CH_3$  и  $(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7CH_3$ .

В некоторых вариантах осуществления  $R^4$  в каждом случае независимо выбран из  $(CH_2)_{10}CH_3$ ,  $(CH_2)_{12}CH_3$ ,  $(CH_2)_{14}CH_3$ ,  $(CH_2)_{16}CH_3$  и  $(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7CH_3$ . В некоторых вариантах осуществления  $R^4$  представляет собой  $(CH_2)_{14}CH_3$ .

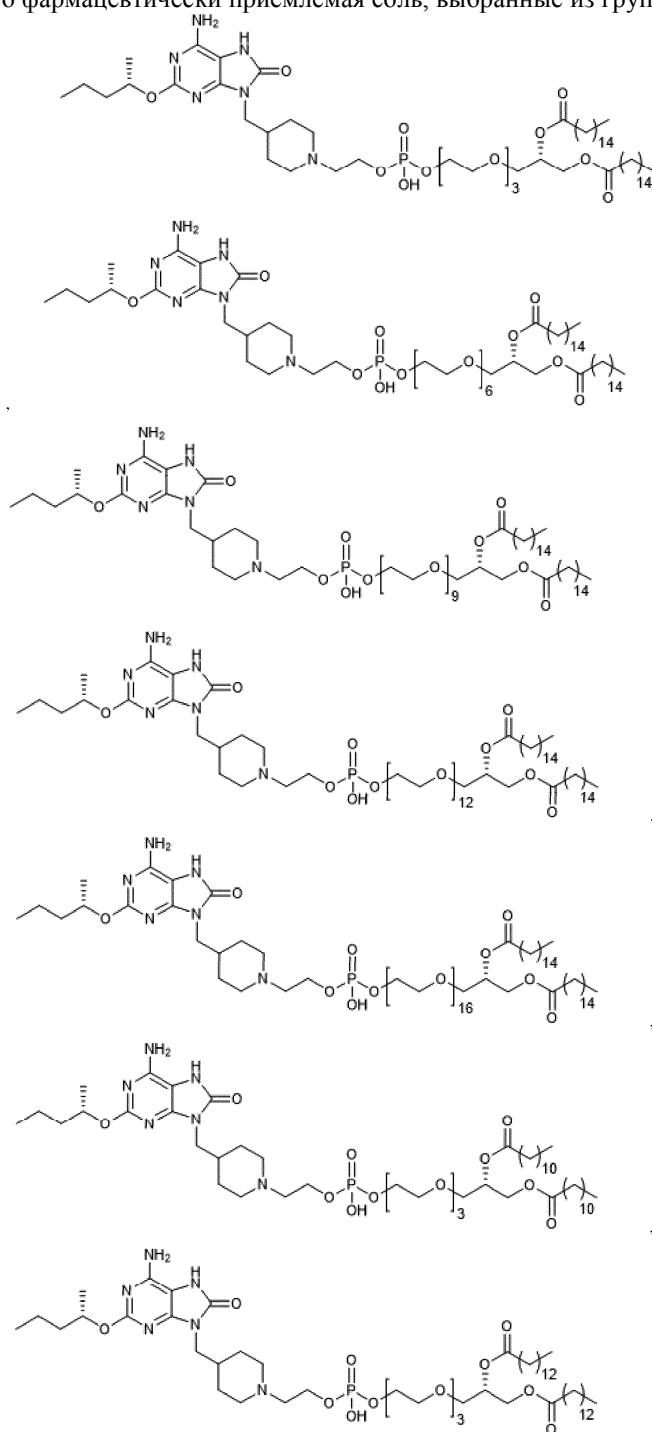
В некоторых вариантах осуществления каждый из  $R^2$  и  $R^3$  представляет собой  $C(O)R^4$ , где  $R^4$  в каждом случае независимо выбран из  $(CH_2)_{10}CH_3$ ,  $(CH_2)_{12}CH_3$ ,  $(CH_2)_{14}CH_3$ ,  $(CH_2)_{16}CH_3$  и  $(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7CH_3$ . В некоторых вариантах осуществления каждый из  $R^2$  и  $R^3$  представляет собой  $C(O)R^4$ , где  $R^4$  в каждом случае представляет собой  $(CH_2)_{14}CH_3$ .

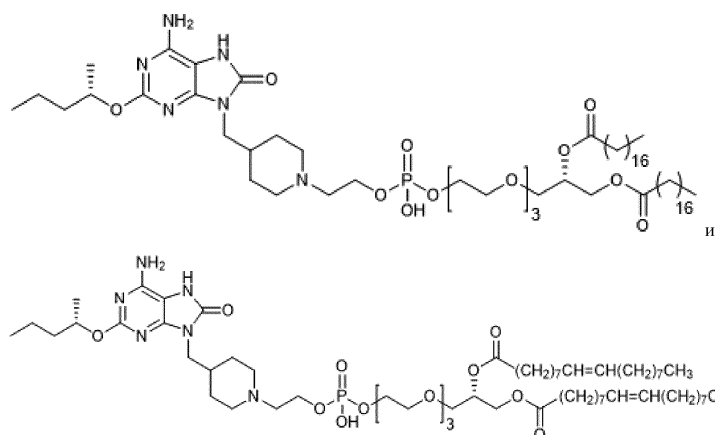
В некоторых вариантах осуществления  $R^2$  представляет собой водород, а  $R^3$  представляет собой  $C(O)R^4$ , где  $R^4$  выбран из  $(CH_2)_{10}CH_3$ ,  $(CH_2)_{12}CH_3$ ,  $(CH_2)_{14}CH_3$ ,  $(CH_2)_{16}CH_3$  и  $(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7CH_3$ .

В некоторых вариантах осуществления  $n$  равняется 1. В некоторых вариантах осуществления  $m$  равняется 2. В иллюстративных вариантах осуществления  $n$  равняется 1, а  $m$  равняется 2.

В некоторых вариантах осуществления  $Z$  представляет собой  $(C_2\text{алкилен-O})_q$ , где  $q$  равняется 3, 6, 9, 12 или 16. В иллюстративных вариантах осуществления  $q$  равняется 3.

Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, выбранные из группы, состоящей из





Соединение может существовать в виде стереоизомера, где присутствуют асимметричные или хиральные центры. Стереизомер представляет собой "R" или "S" в зависимости от конфигурации заместителей вокруг хирального атома углерода. Термины "R" и "S", применяемые в данном документе, представляют собой конфигурации, определенные в Рекомендациях IUPAC 1974 г. в разделе E "Фундаментальная стереохимия", в *Pure Appl. Chem.*, 1976, 45: 13-30. Настоящее изобретение предусматривает различные стереоизомеры и их смеси, и они, в частности, включены в объем настоящего изобретения. Стереизомеры включают энантимеры и диастереомеры, а также смеси энантимеров или диастереомеров. Отдельные стереоизомеры соединений могут быть получены синтетическим путем из коммерчески доступных исходных материалов, которые содержат асимметричные или хиральные центры, или путем приготовления рацемических смесей с последующим применением способов разделения, хорошо известных специалистам в данной области. Эти способы разделения проиллюстрированы (1) присоединением смеси энантимеров к хиральному вспомогательному веществу, разделением полученной смеси диастереомеров посредством перекристаллизации или хроматографии и необязательным высвобождением оптически чистого продукта из вспомогательного вещества, как описано в Furniss, Hannaford, Smith and Tatchell, "Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry," 5th edition (1989), Longman Scientific & Technical, Essex CM20 2JE, England (или его более поздние версии), или (2) прямым разделением смеси оптических энантимеров на хиральных хроматографических колонках, или (3) способами фракционной перекристаллизации.

Следует понимать, что соединение может иметь таутомерные формы, а также геометрические изомеры, и что они также составляют варианты осуществления настоящего изобретения.

Настоящее изобретение также включает меченное изотопами соединение, идентичное приведенным в формуле (I), за исключением того факта, что один или несколько атомов заменены атомом с атомной массой или массовым числом, отличными от атомной массы или массового числа, обычно обнаруженных в природе. Примерами изотопов, подходящих для включения в соединения по настоящему изобретению, являются изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, серы, фтора и хлора, такие как без ограничения  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$  и  $^{36}\text{Cl}$  соответственно. Замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий, т.е. H, может предоставлять некоторые терапевтические преимущества, возникающие вследствие более высокой устойчивости к инактивации в процессе метаболизма, например, повышенный период полувыведения *in vivo* или сниженные требования к дозе, и, следовательно, может быть более предпочтительным в некоторых обстоятельствах. Соединение может включать позитронно-активные изотопы для исследований с применением медицинской визуализации и позитронно-эмиссионной томографии (PET) для определения распределения рецепторов. Подходящими позитронно-активными изотопами, которые могут быть включены в соединения формулы (I), являются C, N,  $^{15}\text{O}$  и  $^{18}\text{F}$ . Меченные изотопами соединения формулы (I), как правило, можно получать с помощью традиционных методик, известных специалистам в данной области, или с помощью способов, аналогичных таковым, которые описаны в прилагаемых примерах, с применением соответствующего меченного изотопами реагента вместо немеченного изотопами реагента.

#### Фармацевтически приемлемые соли

Раскрытые соединения могут существовать в виде фармацевтически приемлемых солей. Термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к солям или цвиттер-ионам соединений, которые являются растворимыми или диспергируемыми в воде или масле, подходящим для лечения нарушений без чрезмерной токсичности, раздражения и аллергической реакции, соизмеримым с разумным соотношением польза/риск и эффективным для их предполагаемого применения. Соли можно получать во время конечного выделения и очистки соединений или получать отдельно посредством реакции аминогруппы соединений с подходящей кислотой. Например, соединение может быть растворено в подходящем растворителе, таком как без ограничения метанол и вода, и обработано с помощью по меньшей мере одного эквивалента кислоты, такой как хлористоводородная кислота. Полученная соль может выпадать в осадок



и может быть выделена путем фильтрации и высушена при пониженном давлении. В качестве альтернативы растворитель и избыток кислоты можно удалить при пониженном давлении с получением соли. Иллюстративные соли включают ацетат, адипат, альгинат, цитрат, аспартат, бензоат, бензолсульфонат, бисульфат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, диглюконат, глицерофосфат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, формиат, изетионат, фумарат, лактат, малеат, метансульфонат, нафтиленсульфонат, никотинат, оксалат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, пикрат, оксалат, малеат, пивалат, пропионат, сукцинат, тартрат, трихлорацетат, трифторацетат, глутамат, пара-толуолсульфонат, ундеканат, гидрохлорид, гидробромид, сульфат, фосфат и т.п. Аминогруппы соединений также могут быть кватернизованы с помощью алкилхлоридов, алкилбромидов и алкилйодидов, таких как метил-, этил-, пропил-, изопропил-, бутил-, лаурил-, миристил-, стеарил- и т.п.

Соли присоединения основания можно получать во время конечного выделения и очистки раскрытых соединений посредством реакции карбоксильной группы или фосфатной группы с подходящим основанием, таким как гидроксид, карбонат или бикарбонат катиона металла, такого как литий, натрий, калий, кальций, магний или алюминий, или органическим первичным, вторичным или третичным амином. Можно получать четвертичные аммониевые соли, такие как соли, полученные из метиламина, диметиламина, триметиламина, триэтиламина, диэтиламина, этиламина, трибутиламина, пиридина, N,N-диметиланилина, N-метилпиперидина, N-метилморфолина, дициклогексиламина, прокаина, дибензиламина, N,N-добензилфенэтиламина, 1-эфенамина и N,N'-добензилэтилендиамин, этилендиамин, этаноламина, диэтанолamina, пиперидина, пиперазина и т. п. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой холиновую соль.

Соединения и промежуточные соединения можно выделять и очищать с помощью способов, хорошо известных специалистам в области органического синтеза. Примеры традиционных способов выделения и очистки соединений могут включать без ограничения хроматографию на твердых носителях, таких как силикагель, оксид алюминия или диоксид кремния, дериватизированный алкилсилановыми группами, перекристаллизацию при высокой или низкой температуре с необязательной предварительной обработкой с помощью активированного угля, тонкослойную хроматографию, перегонку при различных давлениях, сублимацию в вакууме и растирание, как описано, например, в "Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry," 5th edition (1989), by Furniss, Hannaford, Smith, and Tatchell, pub. Longman Scientific & Technical, Essex CM20 2JE, England.

Соединения, описанные в данном документе, или их фармацевтически приемлемые соли могут быть включены в состав. Состав может содержать микрочастицу или наночастицу, которые предусматривают без ограничения липосому, мицеллу, полимер, блок-сополимер, диоксид кремния, эмульсию или их комбинацию. Состав может содержать органические, неорганические и/или липидные компоненты и может способствовать иммуномодулирующему эффекту соединения и/или может влиять на характеристики биораспределения, биодоступности и/или токсичности соединения.

#### **Биологическая активность**

Соединения, раскрытые в данном документе, в том числе соединения формулы (I), могут характеризоваться биологической активностью, которая делает их применимыми в качестве иммунологических адьювантов или иммуномодуляторов.

Например, соединения могут стимулировать ответ иммунной системы на совместно вводимый антиген. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) представляют собой антагонисты TLR7. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) представляют собой антагонисты TLR8. В некоторых вариантах осуществления соединения характеризуются активностью как адьюванты, стимулирующие Th1.

В некоторых вариантах осуществления соединения могут стимулировать продуцирование цитокинов в образце или при введении субъекту. Соединения могут стимулировать продуцирование цитокинов типа Th1. Иллюстративные цитокины включают IFN- $\gamma$ , IL-2 и IL-12. Такая активность может быть протестирована в соответствии с установленными способами. Например, уровни таких цитокинов можно измерить в образцах мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) после воздействия соединений.

Состояния, которые могут быть опосредованы активностью TLR7 и/или TLR8, включают без ограничения воспаление, в том числе без ограничения воспалительные или аллергические заболевания, такие как астма, аллергический ринит, гиперчувствительные заболевания легких, эозинофильный пневмонит, гиперчувствительность замедленного типа, атеросклероз, панкреатит, гастрит, остеоартрит, псориаз, саркоидоз, фиброз легких, респираторный дистресс-синдром, бронхолит, хроническое обструктивное заболевание легких, синусит, муковисцидоз и дерматит; аутоиммунные заболевания, в том числе без ограничения ревматоидный артрит, псориатический артрит, системную красную волчанку, синдром Шегрена, анкилозирующий спондилит, склеродермию, диабет, отторжение трансплантата, в том числе реакцию "трансплантат против хозяина", воспалительные заболевания кишечника, в том числе без ограничения болезнь Крона и язвенный колит; инфекционные заболевания, в том числе без ограничения заболевания, вызванные вирусами гепатита (например, вирусом гепатита В, вирусом гепатита С), вирусом иммунодефицита человека, папилломавирусами, герпесвирусами, респираторными вирусами (например, вирусами

гриппа, респираторно-синцитиальным вирусом, риновирусом, метапневмовирусом, вирусом парагриппа, SARS) и вирусом лихорадки Западного Нила; микробные инфекции, вызванные, например, бактериями, грибами или простейшими, в том числе без ограничения туберкулез, бактериальную пневмонию, аспергиллез, гистоплазмоз, кандидоз, пневмоцистоз, лепру, хламидиоз, криптококковое заболевание, криптоспоридиоз, токсоплазмоз, лейшманиоз, малярию и трипаносомоз; различные виды рака, в частности, лечение видов рака, которые, как известно, реагируют на иммунотерапию, в том числе без ограничения почечно-клеточную карциному, рак легкого, рак молочной железы, колоректальный рак, рак мочевого пузыря, меланому, лейкоз, лимфомы и рак яичников; базально-клеточный рак; актинический кератоз; генитальные папилломавирусные инфекции; и регенерацию печени, различные виды рака, в частности, лечение видов рака, которые, как известно, реагируют на иммунотерапию, в том числе без ограничения почечно-клеточную карциному, рак легкого, рак молочной железы, колоректальный рак, рак мочевого пузыря, меланому, лейкоз, лимфомы и рак яичников; базально-клеточный рак; актинический кератоз; генитальные папилломавирусные инфекции; и регенерацию печени.

### 3. Композиции

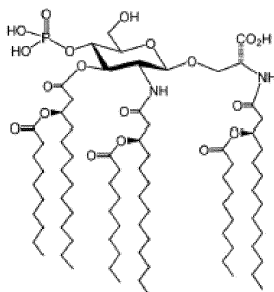
Раскрытые соединения могут быть включены в фармацевтические композиции, адъювантные композиции и вакцинные композиции, которые могут подходить для введения субъекту (например, пациенту, который может быть человеком или отличным от человека).

#### Фармацевтические композиции

Раскрытые соединения могут быть включены в фармацевтические композиции. Фармацевтические композиции могут включать "терапевтически эффективное количество" или "профилактически эффективное количество" средства. "Терапевтически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения необходимого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество композиции может быть определено специалистом в данной области и может варьироваться в зависимости от таких факторов, как стадия заболевания, возраст, пол и вес индивидуума, а также способность композиции вызывать необходимый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество также представляет собой такое, при котором терапевтически благоприятные эффекты превосходят любые токсичные или пагубные эффекты соединения по настоящему изобретению (например, соединения формулы (I)). "Профилактически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения необходимого профилактического результата. Как правило, поскольку профилактическая доза используется у субъектов до заболевания или на его более ранней стадии, то профилактически эффективное количество будет меньше терапевтически эффективного количества.

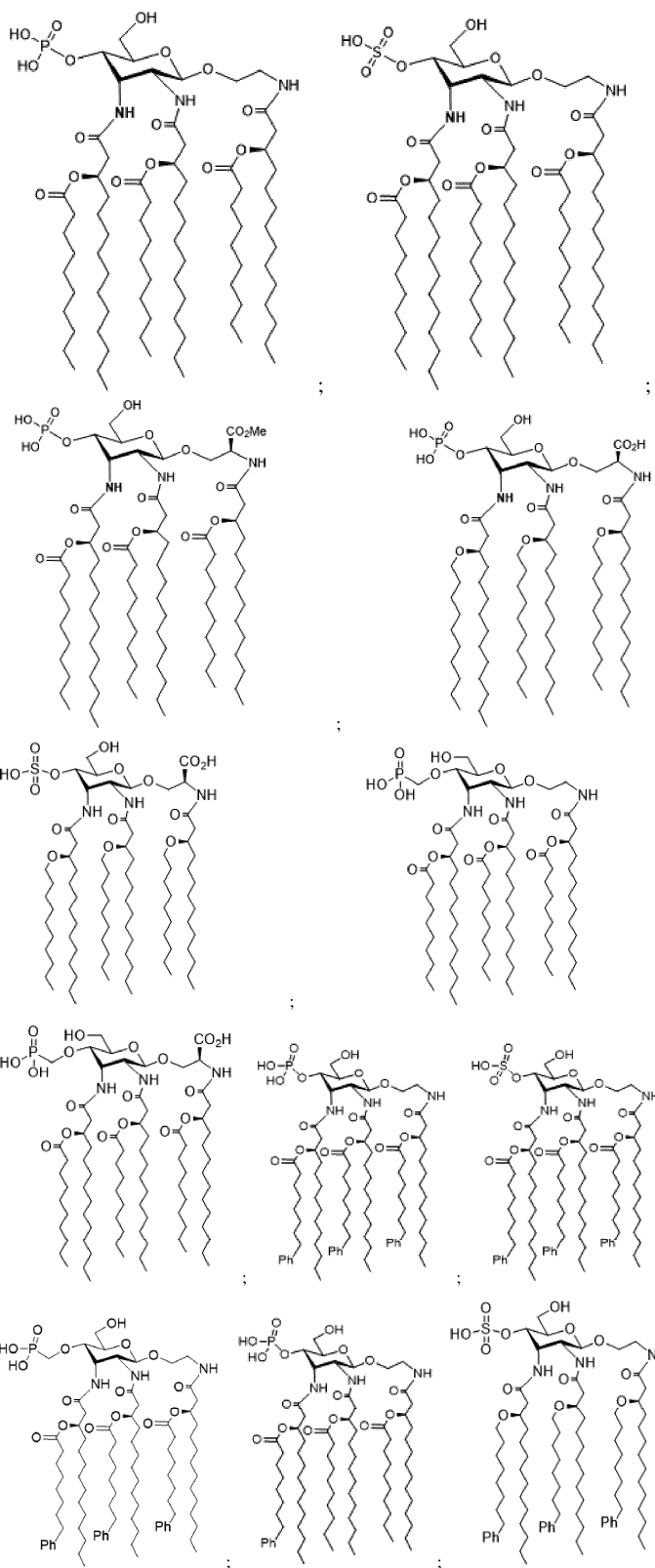
Фармацевтические композиции и составы могут включать дополнительные терапевтические средства. В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой адъювант, иммуностимулятор, химиотерапевтическое средство, иммуномодулирующее средство или их комбинацию.

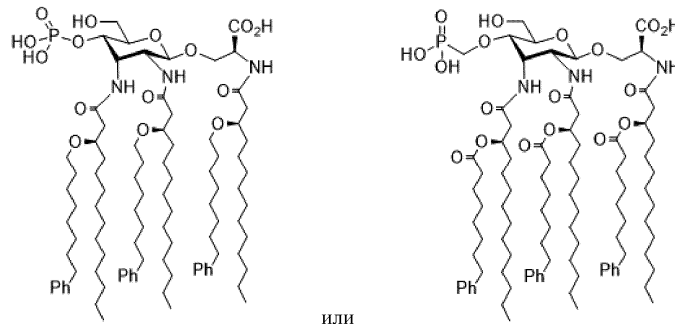
Фармацевтические композиции и составы могут включать адъювант. Адъюванты представляют собой добавки, которые усиливают гуморальный и/или клеточно-опосредованные ответы на вакцинный антиген. Любой адъювант может быть применимым в фармацевтических композициях и составах, описанных в данном документе. Адъювант может взаимодействовать с представителем или представителями TLR. В некоторых вариантах осуществления адъювант представляет собой лиганд TLR4. Лиганды TLR4 включают CRX-601 (фиг. 1), монофосфорил-липид А (MPLA), глюкопиранозил-липид А (GLA), CRX-547



класс миметиков липида А, аминоктилглюкозамид-4-фосфаты (AGP), и другие лиганды TLR4, описанные в Khalaf et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2015) 25(3), 547-553 и патентах США №№ 7960522 и 7063967, которые включены в данный документ посредством ссылки. Другие лиганды TLR4 включают соединения, описанные в WO 2019/157509, которая включена в данный документ посредством ссылки. Например, лиганд TLR4 может представлять собой

046871





или

или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления адъювант представляет собой соль алюминия. Соль алюминия может предусматривать фосфат, сульфат, гидроксид или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления соль алюминия представляет собой сульфат алюминия-калия, который может находиться в гидратированной форме. Соль алюминия также может представлять собой гель гидроксида алюминия. Соль алюминия также может представлять собой влажный гель фосфата алюминия. Адъюванты, представляющие собой соль алюминия, могут называться квасцами. В некоторых вариантах осуществления соединение, раскрытое в данном документе, адсорбировано на соли алюминия.

Фармацевтическая композиция может дополнительно содержать антиген. В некоторых вариантах осуществления антиген адсорбирован на соли алюминия с соединением, раскрытым в данном документе. Подходящие антигены включают микробные патогены, бактерии, вирусы, белки, гликопротеины, липопротеины, пептиды, гликопептиды, липопептиды, анатоксины, углеводы и опухолеспецифические антигены. Можно применять смеси двух или более антигенов. В некоторых вариантах осуществления антиген получен из бактерии, вируса, бактериофага, гриба, приона, новообразования, аутоантигена, материалов животного, растительного происхождения, рекомбинантного или синтетического материала. В одном варианте осуществления антиген в вакцинной композиции находится в форме пептида, полипептида, белка или их иммуногенной части. В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой гаптен, гаптен, конъюгированный с белком-носителем, полипептидом или другим полимером или их производными. В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой аллерген.

Фармацевтические композиции и составы могут включать иммуностимулятор. Иммуностимуляторы стимулируют иммунную систему, индуцируя активацию или повышая активность любого из ее компонентов. Любые из многих известных молекул или соединений с иммуностимулирующей активностью могут использоваться в раскрытых фармацевтических композициях и составах.

Фармацевтические композиции и составы могут включать химиотерапевтическое средство. Химиотерапевтическое средство может включать любое лекарственное средство, применяемое в лечении рака, или любое радиосенсибилизирующее средство. Химиотерапевтические средства могут включать алкилирующие средства (в том числе без ограничения циклофосамид, мехлорэтамин, хлорамбуцил, мелфалан, дакарбазин, нитрозомочевины и темозоломид), антрациклины (в том числе без ограничения даунорубин, доксорубин, эпирубин, идарубин, митоксантрон и валрубин), разрушители цитоскелета или таксаны (в том числе без ограничения паклитаксел, доцетаксел, абраксан и таксотер), эпотилоны, ингибиторы гистондеацетилазы (в том числе без ограничения вориностат и ромидепсин), ингибиторы топоизомеразы (в том числе без ограничения иринотекан, топотекан, этопозид, тенопозид и тафлупозид), ингибиторы киназы (в том числе без ограничения бортезомиб, эрлотиниб, gefitinib, иматиниб, вемурафениб и висмодегид), аналоги нуклеотидов и аналоги их предшественников (в том числе без ограничения азациитидин, азатиоприн, капецитабин, цитарабин, доксифлуридин, фторурацил, гемцитабин, гидроксимочевину, меркаптопурин, метотрексат и тиогуанин), пептидные антибиотики (в том числе без ограничения блеомицин и актиномицин), средства на основе платины (в том числе без ограничения карбоплатин, цисплатин и оксалиплатин), ретиноиды (в том числе без ограничения третиноин, алитретиноин и бексаротен), алкалоиды барвинка и их производные (в том числе без ограничения винбластин, винкристин, виндезин и винорелбин) или их комбинации.

Фармацевтические композиции и составы могут включать иммуномодулирующее средство. Иммуномодулирующие средства включают интерфероны, антигены, средства, индуцирующие фагоцитоз опухоли, и другие иммуностимулирующие средства (например, ингибиторы контрольных точек иммунного ответа). Иммуномодулирующее средство может представлять собой ингибитор контрольных точек иммунного ответа, средство, индуцирующее фагоцитоз опухоли, или их комбинацию.

Интерфероны включают интерферон-альфа, интерферон-альфа-2а, интерферон-альфа-2b, интерферон-бета, интерферон-гамма-1а, АСТИММУНЕ® (интерферон-гамма-1b) или интерферон-гамма-n1, их комбинации и т.п.

В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой ингибитор контрольных точек иммунного ответа. Контрольные точки иммунного ответа регулируют функцию Т-клеток в иммунной системе. Т-клетки играют центральную роль в клеточно-опосредованном им-

мунитете. Белки контрольных точек взаимодействуют с конкретными лигандами, которые посылают сигнал в Т-клетки и по сути выключают или подавляют функцию Т-клеток. Виды терапии ингибиторами контрольных точек, которые "разблокируют" существующий иммунный ответ или которые разблокируют инициирование иммунного ответа. Поскольку многие из контрольных точек иммунного ответа регулируются взаимодействиями между парами конкретных рецепторов и лигандов, для блокирования этого взаимодействия и предупреждения супрессии иммунного ответа можно использовать моноклональные антитела или другие средства. Ингибитор контрольных точек может представлять собой биологическое терапевтическое средство, малую молекулу, моноклональное антитело, гуманизированное антитело, полностью человеческое антитело, слитый белок или их комбинацию. Ингибитор контрольных точек может подавлять белок контрольных точек, в том числе, например, CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK 1, CHK2, A2aR и лиганды семейства B-7. Ингибитор контрольных точек может взаимодействовать с лигандом белка контрольных точек, в том числе, например, CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK 1, CHK2, A2aR и лиганды семейства B-7.

Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа включают ингибиторы PD-1 (например, ниволумаб, пидилизумаб, синтилимаб), ингибиторы PD-L1 (например, атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб, BMS-936559), ингибиторы CTLA4 (например, ипилимумаб, тремелиумаб) или ингибиторы IDO (например, индоксимод, эпикадостат).

В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой средство, индуцирующее фагоцитоз опухоли.

Иммуностимулирующие полипептиды клеточной поверхности и их рецепторы важны для очистки и разрушения чужеродных материалов, включая клетки млекопитающих или бактерии. Иммуностимулирующие полипептиды клеточной поверхности и их рецепторы активируют фагоцитоз. Средство, индуцирующее фагоцитоз, может индуцировать полипептиды клеточной поверхности и их рецепторы для активации фагоцитоза. Средства, индуцирующие фагоцитоз опухоли, включают моноклональные антитела к CD47 (например, Hu5F9-G4, CC-90002, ZF1, AMMS4-G4, IB1188, SRF231), слитые белки к SIRP $\alpha$  (например, TTI-621, TTI-622), моноклональные антитела к SIRP $\alpha$  (например, OSE-172), биспецифические антитела к CD47/опухолеассоциированному антигену и ингибиторы связывания лейкоцитарного иммуноглобулиноподобного рецептора B1 (LILRB1) с  $\beta$ 2-микроглобулином класса I главного комплекса гистосовместимости (MHC класс I  $\beta$ 2M). Биспецифические антитела к CD47/опухолеассоциированному антигену включают биспецифические антитела к CD47/CD19 (например, TG-1801), биспецифические антитела к CD47/мезотелину (например, NI-1801), биспецифические антитела к CD47/4-1BB (например, DSP107), биспецифические антитела к CD47/CD20, биспецифические антитела к CD47/CD33 (например, HMBD004).

Другие иммуномодулирующие средства включают ALFAFERONE®, BAM-002, BEROMUN® (тазонермин), BEXXAR® (тозитумомаб), CamPath® (алемтузумаб), CTLA4 (антиген 4 цитотоксических лимфоцитов), декарбазин, денилейкин, эпратузумаб, GRANOCYTE® (ленограстим), лентинан, лейкоцитарный альфа-интерферон, имиквимод, MDX-010, противомеланомную вакцину, митумомаб, молграмо-стим, MYLOTARGETM® (гемтузумаб озогамидин), NEUPOGEN® (филграстим), OncoVAC-CL, OvaRex® (ореговомаб), пемтумомаб (Y-muHMFGI), PROVENGE®, сарграмо-стим, сизофиран, тецелейкин, TheraCys®, убенимекс, VIRULIZIN®, Z-100, WF-10, PROLEUKIN® (альдеслейкин), ZADAXIN® (тимальфа-зин), ZENAPAX® (даклизумаб), ZEVALIN® (90Y - ибритумомаб-тиуксетан) и т.п., в том числе без ограничения агонисты STING (стимулятора генов интерферона) и NOD (рецепторов, подобных домену нуклеотид-связывающей олигомеризации).

В способах и применениях, описанных в данном документе, фармацевтическую комбинацию соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или композиции на его основе; и адьюванта и/или иммуномодулирующего средства можно вводить/применять одновременно, по отдельности или последовательно и в любом порядке, а компоненты можно вводить по отдельности или в виде фиксированной комбинации. Например, терапевтическое лечение по настоящему изобретению может включать введение первого активного ингредиента в свободной или фармацевтически приемлемой солевой форме и введение второго активного ингредиента в свободной или фармацевтически приемлемой солевой форме одновременно или последовательно в любом порядке, в совместно терапевтически эффективных количествах или эффективных количествах, например в суточных дозах, соответствующих количествам, описанным в данном документе. Отдельные активные ингредиенты комбинации можно вводить по отдельности в разные моменты времени в течение курса терапии или параллельно в виде разделенных или единичных лекарственных форм. Следовательно, настоящее изобретение следует понимать как охватывающее все такие схемы одновременного или чередующегося лечения, и термин "введение" следует интерпретировать соответственно. Таким образом, фармацевтическая комбинация, применяемая в данном документе, определяет либо фиксированную комбинацию в виде одной единичной лекарственной формы, либо отдельные лекарственные формы для комбинированного введения, где комбинированное

введение может осуществляться независимо одновременно или в разные моменты времени. В качестве дополнительного примера адъюванты или иммуномодулирующие средства можно вводить/применять одновременно (например, путем совместной инъекции), по отдельности или последовательно с последующим введением соединения формулы (I) или наоборот.

Фармацевтические композиции и составы могут включать фармацевтически приемлемые носители. Термин "фармацевтически приемлемый носитель", применяемый в данном документе, означает нетоксичный, инертный твердый, полутвердый или жидкий наполнитель, разбавитель, инкапсулирующий материал или вспомогательное средство для составления любого типа. Некоторыми примерами материалов, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, являются сахара, такие как без ограничения лактоза, глюкоза и сахароза; виды крахмала, такие как без ограничения кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлоза и ее производные, такие как без ограничения натрий-карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетатцеллюлоза; порошкообразный трагакант; солод; желатин; тальк; вспомогательные вещества, такие как без ограничения какао-масло и воски для суппозитория; масла, такие как без ограничения арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; сложные эфиры, такие как без ограничения этилолеат и этиллаурат; агар; буферные средства, такие как без ограничения гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновая кислота; апиригенная вода; изотонический солевой раствор; раствор Рингера; этиловый спирт и фосфатно-буферные растворы, а также другие нетоксичные совместимые смазывающие средства, такие как без ограничения лаурилсульфат натрия и стеарат магния, а также красящие средства, разделительные средства, средства для нанесения покрытия, подсластители, ароматизирующие средства и отдушки, консерванты и антиоксиданты также могут присутствовать в композиции в зависимости от решения специалиста в области составления.

Таким образом, соединения и их физиологически приемлемые соли могут быть составлены для введения, например, с помощью дозирования твердой лекарственной формы, глазных капель, в виде состава для местного применения на масляной основе, инъекции, ингаляции (либо через рот, либо через нос), имплантатов или перорального, буккального, сублингвального, парентерального или ректального введения. Методики и составы, как правило, можно найти в "Remington's Pharmaceutical Sciences" (Meade Publishing Co., Истон, штат Пенсильвания, США). Терапевтические композиции, как правило, должны быть стерильными и стабильными в условиях изготовления и хранения.

Путь, посредством которого вводят раскрытые соединения, и форма композиции будут обуславливать тип применяемого носителя. Композиция может быть представлена в различных формах, подходящих, например, для системного введения (например, перорального, ректального, назального, сублингвального, буккального, с помощью имплантатов или парентерального) или местного введения (например, дермального, легочного, назального, ушного, глазного, с помощью систем доставки на основе липосом или ионтофореза).

Носители для системного введения, как правило, включают по меньшей мере одно из разбавителей, смазывающих средств, связующих веществ, разрыхлителей, красителей, ароматизаторов, подсластителей, антиоксидантов, консервантов, веществ, способствующих скольжению, растворителей, суспендирующих средств, смачивающих средств, поверхностно-активных веществ, их комбинаций и других. Все носители в композициях являются необязательными.

Подходящие разбавители включают сахара, такие как глюкоза, лактоза, декстроза и сахароза; диолы, такие как пропиленгликоль; карбонат кальция; карбонат натрия; сахароспирты, такие как глицерин; маннит и сорбит. Количество разбавителя(разбавителей) в композиции для системного или местного применения, как правило, составляет от приблизительно 50 до приблизительно 90%.

Подходящие смазывающие средства включают диоксид кремния, тальк, стеариновую кислоту и ее магниевые соли и кальциевые соли, сульфат кальция; и жидкие смазывающие средства, такие как полиэтиленгликоль, и растительные масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и масло Theobroma cacao. Количество смазывающего(смазывающих) средства(средств) в композиции для системного или местного применения, как правило, составляет от приблизительно 5 до приблизительно 10%.

Подходящие связующие вещества включают поливинилпирролидон; алюмосиликат магния; виды крахмала, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; желатин; трагакант; и целлюлозу и ее производные, такие как натрий-карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза, метилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза и натрий-карбоксиметилцеллюлоза. Количество связующего(связующих) вещества(веществ) в композиции для системного применения, как правило, составляет от приблизительно 5 до приблизительно 50%.

Подходящие разрыхлители включают агар, альгиновую кислоту и ее натриевую соль, шипучие смеси, кроскармеллозу, кросповидон, натрий-карбоксиметилкрахмал, крахмалгликолят натрия, глины и ионообменные смолы. Количество разрыхлителя(разрыхлителей) в композиции для системного или местного применения, как правило, составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 10%.

Подходящие красители включают такой краситель, как краситель FD&C. Количество красителя при применении в композиции для системного или местного применения, как правило, составляет от прибли-

зительно 0,005 до приблизительно 0,1%.

Подходящие ароматизаторы включают ментол, перечную мяту и фруктовые ароматизаторы. Количество ароматизатора(ароматизаторов) при применении в композиции для системного или местного применения, как правило, составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1,0%.

Подходящие подсластители включают аспартам и сахарин. Количество подсластителя(подсластителей) в композиции для системного или местного применения, как правило, составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 1%.

Подходящие антиоксиданты включают бутилированный гидроксианизол ("ВНА"), бутилированный гидрокситолуол ("ВНТ") и витамин Е. Количество антиоксиданта(антиоксидантов) в композиции для системного или местного применения, как правило, составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 5%.

Подходящие консерванты включают хлорид бензалкония, метилпарабен и бензоат натрия. Количество консерванта(консервантов) в композиции для системного или местного применения, как правило, составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 5%.

Подходящие вещества, способствующие скольжению, включают диоксид кремния. Количество вещества(веществ), способствующего(способствующих) скольжению, в композиции для системного или местного применения, как правило, составляет от приблизительно 1 до приблизительно 5%.

Подходящие растворители включают воду, изотонический солевой раствор, этилолеат, глицерин, гидроксиллированные касторовые масла, спирты, такие как этанол, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и т.п.) и фосфатно-буферные растворы. Количество растворителя(растворителей) в композиции для системного или местного применения, как правило, составляет от приблизительно 0 до приблизительно 100%. В одном варианте осуществления соединения по настоящему изобретению составлены в 2% растворе глицерина в стерильной воде. В дополнительном варианте осуществления соединения UM-1007 составлено в 2% растворе глицерина в стерильной воде. Составы на основе 2% раствора глицерина в стерильной воде могут быть предназначены для парентерального введения.

Подходящие суспендирующие средства включают AVICEL RC-591 (от FMC Corporation, Филадельфия, штат Пенсильвания, США) и альгинат натрия. Количество суспендирующего(суспендирующих) средства(средств) в композиции для системного или местного применения, как правило, составляет от приблизительно 1 до приблизительно 8%.

Подходящие поверхностно-активные вещества включают лецитин, полисорбат 80 и лаурилсульфат натрия, а также TWEEN от Atlas Powder Company, Уилмингтон, штат Делавэр, США. Подходящие поверхностно-активные вещества включают те, которые раскрыты в C.T.F.A. Cosmetic Ingredient Handbook, 1992, pp.587-592; Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed. 1975, pp. 335-337; и McCutcheon's Volume 1, Emulsifiers & Detergents, 1994, North American Edition, pp. 236-239. Количество поверхностно-активного(поверхностно-активных) вещества(веществ) в композиции для системного или местного применения, как правило, составляет от приблизительно 0,1% до приблизительно 5%.

Хотя количества компонентов в композициях для системного применения могут варьироваться в зависимости от типа получаемой композиции для системного применения, в целом композиции для системного применения включают от 0,01 до 50% активного соединения (например, соединения формулы (I)) и от 50 до 99,99% одного или нескольких носителей. Композиции для парентерального введения, как правило, содержат от 0,1 до 10% активных веществ и от 90 до 99,9% носителя, в том числе разбавителя и растворителя.

Композиции для перорального введения могут иметь различные лекарственные формы. Например, твердые формы включают таблетки, капсулы, гранулы и нерасфасованные порошки. Эти лекарственные формы для перорального введения содержат безопасное и эффективное количество, обычно по меньшей мере приблизительно 5% и, более конкретно, от приблизительно 25 до приблизительно 50% активных веществ. Композиции в виде лекарственной формы для перорального введения содержат от приблизительно 50 до приблизительно 95% носителей и, более конкретно, от приблизительно 50 до приблизительно 75%.

Таблетки можно спрессовывать, растирать в порошок, покрывать кишечнорастворимой оболочкой, покрывать сахарной оболочкой, покрывать пленочной оболочкой или спрессовывать многократно. Таблетки, как правило, включают активный компонент и носитель, содержащий ингредиенты, выбранные из разбавителей, смазывающих средств, связующих веществ, разрыхлителей, красителей, ароматизаторов, подсластителей, веществ, способствующих скольжению, и их комбинаций. Конкретные разбавители включают карбонат кальция, карбонат натрия, маннит, лактозу и целлюлозу. Конкретные связующие вещества включают крахмал, желатин и сахарозу. Конкретные разрыхлители включают альгиновую кислоту и кроскармеллозу. Конкретные смазывающие средства включают стеарат магния, стеариновую кислоту и тальк. Конкретные красители представляют собой красители FD&C, которые можно добавлять для внешнего вида. Жевательные таблетки предпочтительно содержат подсластители, такие как аспартам и сахарин, или ароматизаторы, такие как ментол, перечная мята, фруктовые ароматизаторы или их комбинацию.

Капсулы (включая имплантаты, составы с установленным по времени высвобождением и составы с замедленным высвобождением), как правило, включают активное соединение (например, соединение формулы (I)) и носитель, включающий один или несколько разбавителей, раскрытых выше, в капсуле, содержащей желатин. Гранулы, как правило, содержат раскрытое соединение и предпочтительно вещества, способствующие скольжению, такие как диоксид кремния, для улучшения характеристик текучести. Имплантаты могут быть биоразлагаемыми или небiorазлагаемыми.

Выбор ингредиентов в носителе для композиций для перорального введения зависит от вторичных факторов, таких как вкус, стоимость, стабильность при хранении, которые не являются критическими для целей настоящего изобретения.

Твердые композиции можно покрывать с помощью традиционных способов, как правило, с помощью покрытий, зависящих от pH или времени таким образом, что раскрытое соединение высвобождается в желудочно-кишечном тракте вблизи зоны необходимого применения или в различных местоположениях и в различные моменты времени для продления необходимого действия. Покрытия, как правило, включают один или несколько компонентов, выбранных из группы, состоящей из фталата ацетатцеллюлозы, фталата поливинилацетата, фталата гидроксипропилметилцеллюлозы, этилцеллюлозы, покрытий EUDRAGIT® (доступных от Evonik Industries, Эссен, Германия), восков и шеллака.

Композиции для перорального введения могут иметь жидкие формы. Например, подходящие жидкие формы включают водные растворы, эмульсии, суспензии, растворы, восстановленные из нешипучих гранул, суспензии, восстановленные из нешипучих гранул, шипучие препараты, восстановленные из шипучих гранул, крепкие настои, настойки, сиропы и т.п. Жидкие композиции для перорального введения, как правило, включают раскрытое соединение и носитель, а именно носитель, выбранный из разбавителей, красителей, ароматизаторов, подсластителей, консервантов, растворителей, суспендирующих средств и поверхностно-активных веществ. Жидкие композиции для перорального введения предпочтительно включают один или несколько ингредиентов, выбранных из красителей, ароматизаторов и подсластителей.

Другие композиции, применимые для достижения системной доставки исследуемых соединений, включают сублингвальные, буккальные и назальные лекарственные формы. Такие композиции, как правило, включают одно или несколько из растворимых веществ-наполнителей, таких как разбавители, включая сахарозу, сорбит и маннит; и связующие вещества, такие как аравийская камедь, микрокристаллическая целлюлоза, карбоксиметилцеллюлоза и гидроксипропилметилцеллюлоза. Такие композиции могут дополнительно включать смазывающие средства, красители, ароматизаторы, подсластители, антиоксиданты и вещества, способствующие скольжению.

Раскрытые соединения можно вводить местным путем. Композиции для местного применения, которые можно локально наносить на кожу, могут находиться в любой форме, включая твердые вещества, растворы, масла, кремы, мази, гели, лосьоны, шампуни, несмываемые и смываемые кондиционеры для волос, виды молочка, моющие средства, увлажняющие средства, спреи, кожные пластыри и т.п. Композиции для местного применения включают раскрытое соединение (например, соединение формулы (I)) и носитель. Носитель композиции для местного применения предпочтительно способствует проникновению соединений в кожу. Носитель может дополнительно включать один или несколько необязательных компонентов.

Количество носителя, используемого в сочетании с раскрытым соединением, является достаточным для обеспечения практического количества композиции для введения на единичную дозу соединения. Методики и композиции для получения лекарственных форм, применимых в способах по настоящему изобретению, описаны в следующих ссылках: Modern Pharmaceutics, Chapters 9 and 10, Banker & Rhodes, eds. (1979); Lieberman et al., Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets (1981); и Ansel, Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 2nd Ed., (1976).

Носитель может включать один ингредиент или комбинацию двух или более ингредиентов. В композициях для местного применения носитель включает носитель для местного применения. Подходящие носители для местного применения включают один или несколько ингредиентов, выбранных из фосфатно-солевого буферного раствора, изотонического водного раствора, деионизированной воды, монофункциональных спиртов, симметричных спиртов, геля с алоэ вера, аллантоина, глицерина, масел с витаминами А и Е, минерального масла, пропиленгликоля, миристилпропионата PPG-2, диметилизосорбида, касторового масла, их комбинаций и т.п. Более конкретно, носители для средств применения на коже включают пропиленгликоль, диметилизосорбид и воду, и, еще более конкретно, фосфатно-солевой буферный раствор, изотонический водный раствор, деионизированную воду, монофункциональные спирты и симметричные спирты.

Носитель композиции для местного применения может дополнительно включать один или несколько ингредиентов, выбранных из смягчающих средств, пропеллентов, растворителей, смачивающих средств, загустителей, порошков, ароматических добавок, пигментов и консервантов, все из которых являются необязательными.

Подходящие смягчающие средства включают стеариловый спирт, глицерилмоноричинолеат, глицерилмоностеарат, пропан-1,2-диол, бутан-1,3-диол, норковый жир, цетиловый спирт, изопропилизостеа-



рат, стеариновую кислоту, изобутилпальмитат, изоцетилстеарат, олеиловый спирт, изопропиллаурат, гексиллаурат, децилолеат, октадекан-2-ол, изоцетиловый спирт, цетилпальмитат, ди-н-бутилсебацат, изопропилмиристанат, изопропилпальмитат, изопропилстеарат, бутилстеарат, полиэтиленгликоль, триэтиленгликоль, ланолин, кунжутное масло, кокосовое масло, арахисовое масло, касторовое масло, ацетилованные ланолиновые спирты, смесь углеводов, минеральное масло, бутилмиристанат, изостеариновую кислоту, пальмитиновую кислоту, изопропиллинолеат, лауриллактат, миристиллактат, децилолеат, миристилмиристанат и их комбинации. Конкретные смягчающие средства для кожи включают стеариловый спирт и полидиметилсилоксан. Количество смягчающего(смягчающих) средства(средств) в композиции для местного применения в отношении кожи, как правило, составляет от приблизительно 5 до приблизительно 95%.

Подходящие пропелленты включают пропан, бутан, изобутан, диметиловый эфир, диоксид углерода, оксид азота и их комбинации. Количество пропеллента(пропеллентов) в композиции для местного применения, как правило, составляет от приблизительно 0 до приблизительно 95%.

Подходящие растворители включают воду, этиловый спирт, метиленхлорид, изопропанол, касторовое масло, моноэтиловый эфир этиленгликоля, монобутиловый эфир диэтиленгликоля, моноэтиловый эфир диэтиленгликоля, диметилсульфоксид, диметилформамид, тетрагидрофуран и их комбинации. Конкретные растворители включают этиловый спирт и гомотопные спирты. Количество растворителя(растворителей) в композиции для местного применения, как правило, составляет от приблизительно 0 до приблизительно 95%.

Подходящие смачивающие средства включают глицерин, сорбит, 2-пирролидон-5-карбоксилат натрия, растворимый коллаген, дибутилфталат, желатин и их комбинации. Конкретные смачивающие средства включают глицерин. Количество смачивающего(смачивающих) средства(средств) в композиции для местного применения, как правило, составляет от 0 до 95%.

Количество загустителя(загустителей) в композиции для местного применения, как правило, составляет от приблизительно 0 до приблизительно 95%.

Подходящие порошки включают бета-циклодекстрины, гидроксипропилциклодекстрины, мел, тальк, фуллерову землю, каолин, крахмал, камеди, коллоидный диоксид кремния, полиакрилат натрия, тетраалкиламмониевые смектиты, триалкиларилламмониевые смектиты, химически модифицированный алюмосиликат магния, органически модифицированную монтмориллонитовую глину, гидратированный алюмосиликат, пирогенный диоксид кремния, карбоксивиниловый полимер, натрий-карбоксиметилцеллюлозу, моностеарат этиленгликоля и их комбинации. Количество порошка(порошков) в композиции для местного применения, как правило, составляет от 0 до 95%.

Количество ароматической добавки в композиции для местного применения, как правило, составляет от приблизительно 0 до приблизительно 0,5%, в частности, от приблизительно 0,001 до приблизительно 0,1%.

Подходящие добавки, регулирующие pH, включают HCl или NaOH в количествах, достаточных для регулирования pH фармацевтической композиции для местного применения.

#### **Адьювантные и вакцинные композиции**

Соединения также могут быть включены в адьювантные композиции и вакцинные композиции. Адьювантная композиция может индуцировать иммунный ответ. В некоторых вариантах осуществления адьювантная композиция индуцирует иммунный ответ типа Th1.

Вакцинные композиции могут дополнительно включать антиген. Подходящие антигены включают микробные патогены, бактерии, вирусы, белки, гликопротеины, липопротеины, пептиды, гликопептиды, липопептиды, анатоксины, углеводы и опухолеспецифические антигены. Можно применять смеси двух или более антигенов. В некоторых вариантах осуществления антиген получен из бактерии, вируса, бактериофага, гриба, приона, новообразования, аутоантигена, материалов животного, растительного происхождения, рекомбинантного или синтетического материала. Антигены включают бактериальные, вирусные, грибковые, растительные и раковые/опухолевые антигены, описанные в WO 2019/157509, которая включена в данный документ посредством ссылки.

Адьювантные и вакцинные композиции могут включать "эффективное количество" раскрытого соединения. В контексте адьювантной или вакцинной композиций "эффективное количество" относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения необходимого результата (например, для потенцирования иммунного ответа на один или несколько антигенов). Иммунный ответ можно измерить, например, с помощью измерения титров антител против антигена, оценки способности вакцины, содержащей соединение, иммунизировать хозяина в ответ на заболевание или антигенную стимуляцию и т.д. Например, введение субъекту "эффективного количества" соединения или композиции повышает титры одного или нескольких антител на 10% или больше по сравнению с неиммунным контролем, на 20% или больше по сравнению с неиммунным контролем, на 30% или больше по сравнению с неиммунным контролем, на 40% или больше по сравнению с неиммунным контролем, на 50% или больше по сравнению с неиммунным контролем, на 50% или больше по сравнению с неиммунным контролем, на 70% или больше по сравнению с неиммунным контролем, на 80% или больше по сравнению с неиммунным контролем, на 90% или больше по сравнению с неиммунным контролем.

или на 100% или больше по сравнению с неиммунным контролем.

Получение вакцин представляет собой хорошо развитую область и общее руководство по получению и составлению вакцин легко доступно из любого из множества источников. Одним из таких примеров является *New Trends and Developments in Vaccines*, edited by Voller et al., University Park Press, Baltimore, Md., U.S.A. 1978.

Вакцинные композиции по настоящему изобретению также могут содержать другие соединения, которые могут быть биологически активными или неактивными. Например, одна или несколько иммуногенных частей других опухолевых антигенов могут присутствовать в вакцинной композиции либо в составе слитого полипептида, либо в виде отдельного соединения. Полипептиды могут, но не обязательно должны, быть конъюгированы с другими макромолекулами, описанными, например, в рамках патентов США №№ 4372945 и 4474757. Вакцинные композиции, как правило, можно применять в профилактических и терапевтических целях.

В одном варианте осуществления антиген в вакцинной композиции находится в форме пептида, полипептида, белка или их иммуногенной части. "Иммуногенная часть", применяемая в данном документе, представляет собой часть белка, которая распознается (т.е. специфически связывается) В-клеточным и/или Т-клеточным рецептором поверхностного антигена. Такие иммуногенные части, как правило, содержат по меньшей мере 5 аминокислотных остатков, более предпочтительно по меньшей мере 10 и еще более предпочтительно по меньшей мере 20 аминокислотных остатков антигенного белка или его варианта.

Иммуногенные части антигенных полипептидов, как правило, можно идентифицировать с применением хорошо известных методик, таких как методики, обобщенные в Paul, *Fundamental Immunology*, 3rd ed., 243-247 (Raven Press, 1993) и приведенных там ссылочных материалах. Такие методики включают скрининг полипептидов в отношении способности реагировать с антигенспецифическими антителами, антисыворотками и/или линиями или клонами Т-клеток. Применяемые в данном документе антисыворотки и антитела являются "антигенспецифическими", если они специфически связываются с антигеном (т.е. они реагируют с белком в ELISA или другом иммуноанализе и не реагируют с неродственными белками так, чтобы их можно было выявить). Такие антисыворотки и антитела могут быть получены, как описано в данном документе, и с применением хорошо известных методик. Иммуногенная часть белка представляет собой часть, которая реагирует с такими антисыворотками и/или Т-клетками на уровне, который не существенно меньше, чем реактивность полноразмерного полипептида (например, в ELISA и/или анализе реактивности Т-клеток). Такие иммуногенные части могут реагировать в рамках таких анализов на уровне, который подобен или превышает реактивность полноразмерного полипептида. Такие скрининги, как правило, можно проводить с применением способов, хорошо известных специалистам в данной области, таких как способы, описанные в Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988. Например, полипептид можно иммобилизовать на твердой подложке и привести в контакт с сыворотками пациентов, чтобы обеспечить связывание антител в сыворотках с иммобилизованным полипептидом. Затем несвязанные сыворотки можно удалить и выявить связанные антитела с применением, например, белка А, меченного изотопом <sup>125</sup>I.

В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой гаптен, гаптен, конъюгированный с белком-носителем, полипептидом или другим полимером или их производными. Гаптены включают малые молекулы, которые могут вызывать иммунный ответ, преимущественно, только когда они присоединены к большому носителю, такому как белок. Гаптен может быть связан с белком-носителем и дополнительным фрагментом. Иллюстративные гаптены представляют собой анилин, о-, м- и п-аминобензойную кислоту, хинон, гистаминсукцинилглицин (HSG), гидралазин, галотан, индий-ДТРА, флуоресцеин, биотин, дигоксигенин, теофиллин и динитрофенол.

Распространенные белки-носители включают сывороточный глобулин, альбумины, овальбумин и многие другие, а также синтетические полипептиды, такие как поли(L-глутаминовая кислота). Также можно применять полисахариды и липосомы.

В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой аллерген. Аллерген включает встречающийся в природе белок и другие малые молекулы, которые, как сообщалось, индуцируют аллергические, т.е. опосредованные IgE реакции при их повторном воздействии на индивидуума. Примеры встречающихся в природе аллергенов включают аллергены пыльцы (аллергены пыльцы деревьев, сорняков, лекарственных растений и трав), клещевые аллергены (например, от клещей домашней пыли и амбарных клещей), аллергены насекомых (ингаляционные аллергены, аллергены слюны и ядов), аллергены животных, например из слюны, волосяного покрова и шерсти, например от собаки, кошки, лошади, крысы, мыши и т.д., аллергены грибов и пищевые аллергены. Аллергены также включают лекарственные средства, латекс.

В другом варианте осуществления соединение или адъювантную композицию, описанные в данном документе, можно применять в получении вакцинных композиций на основе ДНК. Иллюстративные вакцины этого типа содержат ДНК, кодирующую один или несколько полипептидных антигенов таким образом, что антиген генерируется *in situ*. ДНК может присутствовать в любой из множества систем доставки, известных специалистам в данной области, включая системы экспрессии нуклеиновых кислот,

системы бактериальной и вирусной экспрессии. В данной области хорошо известны многочисленные методики доставки генов, такие как методики, описанные Rolland, Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Systems 15:143-198, 1998 и в приведенных там ссылочных материалах. Соответствующие системы экспрессии нуклеиновых кислот содержат необходимые последовательности ДНК для экспрессии у пациента (такие как подходящие промотор и сигнал терминации). Бактериальные системы доставки включают введение бактерии (такой как *Bacillus-Calmette-Guerrin*), которая экспрессирует иммуногенную часть полипептида на своей клеточной поверхности или секретирует такой эпитоп. В одном предпочтительном варианте осуществления ДНК вводят с применением системы вирусной экспрессии (например, вируса осповакцины или другого поксвируса, ретровируса или аденовируса), что, как правило, включает использование непатогенного (дефектного) вируса, способного к репликации. Иллюстративные системы раскрыты, например, в Fisher-Hoch et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:317-321, 1989; Flexner et al., Ann. N.Y. Acad. Sci. 569:86-103, 1989; Flexner et al., Vaccine 8:17-21, 1990; патентах США №№ 4603112, 4769330 и 5017487; WO 89/01973; патенте США № 4777127; GB 2200651; EP 0345242; WO 91/02805; Berkner, Biotechniques 6:616-627, 1988; Rosenfeld et al., Science 252:431-434, 1991; Kolls et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:215-219, 1994; Kass-Eisler et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:11498-11502, 1993; Guzman et al., Circulation 88:2838-2848, 1993; и Guzman et al., Cir. Res. 73:1202-1207, 1993. Методики включения ДНК в такие системы экспрессии хорошо известны специалистам в данной области.

В качестве альтернативы ДНК можно "оголить", как описано, например, в Ulmer et al., Science 259:1745-1749, 1993, и рассмотрено Cohen, Science 259:1691-1692, 1993. Степень захвата "голой" ДНК можно увеличить путем нанесения ДНК на биоразлагаемые гранулы, которые эффективно транспортируются в клетки.

Более того, будет очевидно, что вакцина может содержать фармацевтически приемлемые соли необходимых антигенов. Например, такие соли могут быть получены из фармацевтически приемлемых нетоксичных оснований, включая органические основания (например, соли первичных, вторичных или третичных аминов и основных аминокислот) и неорганические основания (например, соли натрия, калия, лития, аммония, кальция и магния).

Адьювантная система может демонстрировать сильные адьювантные эффекты при введении в широком диапазоне доз и широком диапазоне соотношений. Подбираемое количество антигена в каждой дозе вакцины, как правило, представляет собой количество, которое индуцирует иммунопротективный ответ без значимых неблагоприятных побочных эффектов в случае типичных вакцин. Такое количество будет варьировать в зависимости от того, какой конкретный иммуноген используется и как он презентируется. Разумеется, вводимая доза может зависеть от возраста, веса, вида сопутствующего лечения, если таковое имеется, и природы вводимого антигена.

Иммуногенная активность данного количества вакцинной композиции может быть легко определена, например, с помощью мониторинга увеличения титра антитела против антигена, применяемого в вакцинной композиции (Dalsgaard, K. Acta Veterinaria Scandinavica 69:1-40 (1978)). Другой распространенный способ включает внутрикожное введение мышам линии CD-1 различных количеств вакцинной композиции, последующий сбор образцов сыворотки у мышей и тестирование в отношении антител к иммуногену, например, с помощью ELISA. Эти и другие подобные подходы будут очевидными специалисту в данной области.

Антиген может быть получен и/или выделен по сути из любого необходимого источника в зависимости от инфекционного заболевания, аутоиммунного заболевания, состояния, рака, патогена или заболевания, которое подлежит лечению с помощью данной вакцинной композиции. В качестве иллюстрации антигены могут быть получены из вирусных источников, таких как вирус гриппа, вирус лейкоза кошачьих, вирус иммунодефицита кошачьих, HIV-1, HIV-2 человека, вирус простого герпеса типа 2, цитомегаловирус человека, вирусы гепатита А, В, С или Е, респираторно-синцитиальный вирус, папилломавирус человека, вирус бешенства, вирус кори или вирусы ящура. Иллюстративные антигены также могут быть получены из бактериальных источников, таких как возбудитель сибирской язвы, дифтерии, болезни Лайма, малярии, туберкулеза, лейшманиоза, *T. cruzi*, *Ehrlichia*, *Candida* и т.д., или из простейших, таких как *Babesiosis bovis* или плазмодий. Антиген(антигены), как правило, состоит(состоят) из природных или синтетических аминокислот, например, в форме пептидов, полипептидов или белков, может(могут) состоять из полисахаридов или представлять собой их смеси. Иллюстративные антигены могут быть выделены из естественных источников, синтезированы посредством твердофазного синтеза или могут быть получены с помощью методик рекомбинантной ДНК.

В другом варианте осуществления опухолевые антигены можно применять в вакцинных композициях для профилактики и/или терапии рака. Опухолевые антигены представляют собой поверхностные молекулы, которые дифференциально экспрессируются в опухолевых клетках по сравнению с неопухолевыми тканями. Опухолевые антигены делают опухолевые клетки иммунологически отличными от нормальных клеток и обеспечивают диагностические и терапевтические мишени для видов рака человека. Опухолевые антигены были охарактеризованы либо как мембранные белки, либо как измененные углеводные молекулы гликопротеинов или гликолипидов на клеточной поверхности. Раковые клетки часто имеют на своей поверхности отличительные опухолевые антигены, такие как усеченный эпидер-

мальный фактор роста, фолат-связывающий белок, эпителиальные муцины, меланоферрин, карциноэмбриональный антиген, специфический в отношении предстательной железы мембранный антиген, HER<sup>2</sup>-пеп, которые являются кандидатами для применения в терапевтических противораковых вакцинах. Поскольку опухолевые антигены являются нормальными или связаны с нормальными компонентами организма, иммунная система часто не может сформировать эффективный иммунный ответ против этих антигенов для уничтожения опухолевых клеток. Для достижения такого ответа можно использовать адьювантные системы, описанные в данном документе. В результате экзогенные белки могут попасть на путь процессинга эндогенных антигенов, что приведет к продуцированию цитолитических или цитотоксических Т-клеток (CTL). Этот адьювантный эффект облегчает продуцирование антигенспецифических CTL, которые ищут и уничтожают опухолевые клетки, несущие на своей поверхности опухолевый(опухолевые) антиген(антигены), применяемые для иммунизации. Иллюстративные типы рака, для которых можно использовать этот подход, включают рак предстательной железы, рак толстой кишки, рак молочной железы, рак яичников, рак поджелудочной железы, рак головного мозга, рак головы и шеи, меланому, лейкоз, лимфому и т.д.

В одном варианте осуществления антиген, присутствующий в вакцинной композиции, является не чужеродным антигеном, а собственным антигеном, т.е. вакцинная композиция направлена против аутоиммунного заболевания. Примеры аутоиммунных заболеваний включают диабет 1 типа, обычный органоспецифический аутоиммунитет, неврологическое заболевание, ревматические заболевания/заболевание соединительной ткани, аутоиммунные цитопении и родственные аутоиммунные заболевания. Такой обычный органоспецифический аутоиммунитет может включать тиреодит (Грейвса и Хашимото), гастрит, адреналит (Аддисона), оварит, первичный билиарный цирроз, тяжелую миастению, гонадную недостаточность, гипопаратиреоз, алопецию, синдром мальабсорбции, пернициозную анемию, гепатит, заболевания, связанные с антителами к рецепторам, и витилиго. Такие неврологические заболевания могут включать шизофрению, болезнь Альцгеймера, депрессию, гипопитуитаризм, несахарный диабет, синдром сухого глаза и рассеянный склероз. Такие ревматические заболевания/заболевания соединительной ткани могут включать ревматоидный артрит, системную красную волчанку (SLE) или волчанку, склеродермию, полимиозит, воспалительное заболевание кишечника, дерматомиозит, язвенный колит, болезнь Крона, васкулит, псориатический артрит, эксфолиативный псориатический дерматит, обыкновенную пузырчатку, синдром Шегрена. Другие заболевания, связанные с аутоиммунным заболеванием, могут включать аутоиммунный увеоретинит, гломерулонефрит, постинфарктный кардиотомный синдром, гемосидероз легких, амилоидоз, саркоидоз, афтозный стоматит и другие связанные с иммунитетом заболевания, представленные в данном документе и известные из предшествующего уровня техники.

В одном варианте осуществления антиген может быть ковалентно связан с адьювантом, таким как соединение формулы I, с образованием дискретной молекулы, которая может демонстрировать усиленный адьювантный эффект на антиген, который может быть больше, чем адьювантный эффект, достигаемый в отсутствие такого ковалентного связывания, как в смеси компонентов (т.е. антигена и соединения формулы (I)). Ковалентного связывания можно достигать посредством реакции с участием функциональных групп; например, в случае соединения формулы I с участием группы карбоновой кислоты, гидроксильной группы или альдегидной функциональной группы. Дополнительный усиленный адьювантный эффект может быть достигнут для такого ковалентно связанного антигена путем включения адьюванта на основе минеральной соли с такими соединениями. Адьювант на основе минеральной соли предпочтительно содержит гидроксид алюминия или фосфат алюминия, хотя могут применяться другие известные адьюванты на основе минеральных солей, такие как фосфат кальция, гидроксид цинка или гидроксид кальция.

Вакцинные композиции могут быть составлены для любого подходящего способа введения и, таким образом, введены, включая, например, местное, пероральное, назальное, внутривенное, интравагинальное, подкожное, сублингвальное, внутричерепное, внутрикожное, внутривнутрибрюшинное, подкожное, внутримышечное введение или посредством ингаляции. Для парентерального введения, такого как подкожная инъекция, носитель предпочтительно содержит воду, солевой раствор, спирт, жир, воск или буфер. Для перорального введения можно использовать любой из приведенных выше носителей или твердый носитель, такой как маннит, лактоза, крахмал, стеарат магния, сахаринат натрия, тальк, целлюлоза, глюкоза, сахароза и карбонат магния.

В одном иллюстративном варианте осуществления вакцинные составы вводят в слизистые оболочки, в частности в ротовую полость и предпочтительно в сублингвальный участок, чтобы вызвать иммунный ответ. Введение в ротовую полость может быть предпочтительным во многих случаях по сравнению с традиционной доставкой при парентеральном введении из-за простоты и удобства, предлагаемых неинвазивными методиками введения. Более того, этот подход дополнительно обеспечивает средства для выработки мукозального иммунитета, которого часто бывает трудно достичь с помощью традиционной доставки при парентеральном введении, и который может обеспечить защиту от переносимых по воздуху патогенов и/или аллергенов. Дополнительным преимуществом введения в ротовую полость является то, что соблюдение пациентом режима и схемы лечения может быть улучшено касательно доставки вакцины

при сублингвальном введении, особенно для педиатрических применений или для применений, традиционно требующих многочисленных инъекций в течение длительного периода времени, например, десенсибилизирующими препаратами при аллергии.

Вакцинные композиции также могут содержать буферы (например, нейтральный забуференный солевой раствор или фосфатно-солевой буферный раствор), углеводы (например, глюкозу, маннозу, сахарозу или декстраны), маннит, белки, полипептиды или аминокислоты, такие как глицин, антиоксиданты, бактериостатические вещества, хелатирующие средства, такие как EDTA или глутатион, адьюванты (например, гидроксид алюминия), растворенные вещества, которые делают состав изотоническим, гипотоническим или слабо гипертоническим по отношению к крови пациента, получающего его, суспендирующие средства, загустители и/или консерванты. В качестве альтернативы вакцинные композиции могут быть составлены в виде лиофилизата. Соединения также могут быть инкапсулированы внутри липосом с применением хорошо известной технологии.

Вакцинные композиции также могут содержать другие адьюванты или иммуноэфекторы. Подходящими адьювантами являются коммерчески доступные адьюванты как, например, неполный адьювант Фрейнда и полный адьювант Фрейнда (Difco Laboratories, Детройт, штат Мичиган, США); адьювант 65 компании Merck (Merck and Company, Inc., Рауэй, штат Нью-Джерси, США); AS-2 (SmithKline Beecham); минеральные соли (например, соли алюминия, кремния диоксид, каолин и уголь); соли алюминия, такие как гель гидроксида алюминия (квасцы),  $AlK(SO_4)_2$ ,  $AlNa(SO_4)_2$ ,  $AlNH_4(SO_4)$  и  $Al(OH)_3$ ; соли кальция (например,  $Ca_3(PO_4)_2$ ), железа или цинка; нерастворимая суспензия ацилированного тирозина; ацилированные сахара; катионно или анионно дериватизированные полисахариды; полинуклеотиды (например, поли-IC и поли-AU кислоты); полифосфазены; цианоакрилаты; сополимер(DL-лактоида и гликозида); биоразлагаемые микросферы; липосомы; липид А и его производные; монофосфорил-липид А; воск D из *Mycobacterium tuberculosis*, а также вещества, обнаруживаемые в *Corynebacterium parvum*, *Bordetella pertussis* и представителях рода *Brucella*; бычий сывороточный альбумин; дифтерийный анатоксин; столбнячный анатоксин; эдестин; гемоцианин лимфы улитки; токсин А синегнойной палочки; холерагеноид; холерный токсин; коклюшный токсин; вирусные белки и Quil А. Также можно применять аминокислоты-глюкозаминфосфатные соединения (см., например, WO 98/50399, патент США № 6113918 (который выдан на основе заявки на патент США с порядковым № 08/853826 и заявки на патент США с порядковым № 09/074720)). Кроме того, в качестве адьювантов также можно применять такие адьюванты, как цитокины (например, GM-CSF или интерлейкин-2, -7 или -12), интерфероны или фактор некроза опухоли. Белковые и полипептидные адьюванты могут быть получены из естественных или рекомбинантных источников в соответствии со способами, хорошо известными специалистам в данной области. При получении из рекомбинантных источников адьювант может содержать белковый фрагмент, содержащий по меньшей мере иммуностимулирующую часть молекулы. Другие известные иммуностимулирующие макромолекулы, которые можно применять, включают без ограничения полисахариды, tRNA, неметаболизированные синтетические полимеры, такие как поливиниламин, полиметакриловая кислота, поливинилпирролидон, смешанные поликонденсаты (с относительно высокой молекулярной массой) 4',4'-диаминодифенилметан-3,3'-дикарбоновой кислоты и 4-нитро-2-аминобензойной кислоты (см. Sela, M., Science 166: 1365-1374 (1969)) или гликолипиды, липиды или углеводы.

В вакцинах, представленных в данном документе, адьювантная композиция предпочтительно предназначена для индукции иммунного ответа преимущественно типа Th1. Высокие уровни цитокинов типа Th1 (например, IFN- $\gamma$ , IL-2 и IL-12) имеют тенденцию способствовать индукции клеточно-опосредованных иммунных ответов на вводимый антиген. И наоборот, высокие уровни цитокинов типа Th2 (например, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 и TNF- $\beta$ ) имеют тенденцию способствовать индукции гуморальных иммунных ответов. После применения вакцины, представленной в данном документе, у пациента будет поддерживаться иммунный ответ, который включает ответы типов Th1 и Th2. В предпочтительном варианте осуществления, в котором ответ является преимущественно ответом типа Th1, уровень цитокинов типа Th1 будет увеличиваться в большей степени, чем уровень цитокинов типа Th2. Уровни этих цитокинов могут быть легко оценены с применением стандартных анализов. В отношении обзора семейств цитокинов см. Mosmann and Coffman, 1989, Ann. Rev. Immunol. 7:145-173.

Композиции, описанные в данном документе, можно вводить как часть состава с замедленным высвобождением (т. е. состава, такого как капсула, губка или гель (например, состоящего из полисахаридов), который обеспечивает медленное высвобождение соединения после введения). Такие составы, как правило, можно получать с применением хорошо известной технологии (см., например, Coombes et al., Vaccine 14:1429-1438, 1996) и вводить, например, посредством пероральной, ректальной или подкожной имплантации или посредством имплантации в необходимый целевой участок. Составы с замедленным высвобождением могут содержать полипептид, полинуклеотид или антитело, диспергированные в матрице носителя и/или содержащиеся в резервуаре, окруженном мембраной, контролирующей скорость. Носители для применения в таких составах являются биосовместимыми и могут быть биоразлагаемыми; предпочтительно состав обеспечивает относительно постоянный уровень высвобождения активного компонента. Такие носители включают микрочастицы сополимера(лактоида и гликолида), полиакрилата,

латекса, крахмала, целлюлозы, декстрана и т.п. Другие носители с отсроченным высвобождением включают супрамолекулярные био векторы, которые содержат нежидкое гидрофильное ядро (например, сшитые полисахарид или олигосахарид) и необязательно внешний слой, содержащий амфифильное соединение, такое как фосфолипид (см., например, патент США № 5151254 и заявки согласно PCT WO 94/20078, WO/94/23701 и WO 96/06638). Количество активного соединения, содержащегося в составе с замедленным высвобождением, будет варьироваться в зависимости от участка имплантации, скорости и ожидаемой продолжительности высвобождения и природы состояния, которое подлежит лечению или необходимо предупредить.

В фармацевтических композициях и вакцинах можно использовать любое из множества известных средств доставки для облегчения выработки антигенспецифического иммунного ответа, нацеленного на клетки. Средства доставки включают антигенпрезентирующие клетки (APC), такие как дендритные клетки, макрофаги, В-клетки, моноциты и другие клетки, которые могут быть сконструированы как эффективные APC. Такие клетки могут, но не обязательно должны быть генетически модифицированы для увеличения способности презентировать антиген, для улучшения активации и/или поддержания Т-клеточного ответа, чтобы иметь нецелевые эффекты сами по себе и/или быть иммунологически совместимыми с реципиентом (т.е. совпадать по гаплотипу HLA). APC, как правило, могут быть выделены из любых из множества биологических жидкостей и органов, включая опухолевые и околоопухолевые ткани, и могут представлять собой аутологичные, аллогенные, сингенные или ксеногенные клетки.

Композиции могут содержать липосомную везикулу, содержащую соединение формулы I. Липосомы, как правило, получают из фосфолипидов или других липидных веществ. Процедуры получения липосом хорошо известны специалистам в данной области. Можно использовать любой липид, способный образовывать везикулы, которые содержат соединение формулы I. Для клинического применения необходимо, чтобы липид был нетоксичным, физиологически приемлемым и метаболизируемым. Распространенными липидами, образующими бислои, которые имеют клинический потенциал, являются фосфолипиды, жирные кислоты, сфинголипиды, гликосфинголипиды и стероиды. Глицеринсодержащие фосфолипиды являются наиболее широко применяемым компонентом липосомальных составов, имеющих клиническую применимость. Одним из обычно применяемых примеров является фосфатидилхолин или лецитин. Стероидный спирт холестерин и его производные часто входят в состав липосомальных мембран. Склонность липосом к агрегации и слиянию можно контролировать путем включения в состав небольших количеств липидов, обладающих кислотными или основными свойствами. Свойства липосом, содержащих фосфолипиды, определяются химической структурой фосфолипида. Важными факторами являются длина углеводородной цепи, степень ненасыщенности углеводородной цепи, степень разветвленности углеводородной цепи и температура системы.

Многослойные липосомы можно создать путем осаждения смеси липидов в виде тонкой пленки посредством выпаривания при пониженном давлении с последующим диспергированием в избыточном объеме водного буфера, содержащего антиген, с использованием органических растворителей или без них. Другой способ заключается в смешивании водной фазы, содержащей антиген, с небольшими однослойными липосомами с последующей лиофилизацией. Многослойные липосомы образуются при регидратации лиофилизированного продукта обычно с помощью небольшого количества дистиллированной воды. Небольшие однослойные липосомы, подлежащие применению в данном способе, получают путем диспергирования липидов в водной среде с последующим механическим диспергированием, таким как обработка ультразвуком, применение устройства высокого давления или способ впрыска растворителя. Однослойные липосомы большого и среднего размера также можно получать с помощью традиционных методик, включая детергентный диализ, экструзию через мембраны с порами маленького размера под высоким давлением, замораживание-оттаивание с последующим медленным набуханием, дегидратацию с последующей регидратацией и разбавлением или диализ липидов в присутствии хаотропных ионов. Размер липосом можно сделать более однородным с помощью методик фракционирования, таких как центрифугирование или эксклюзионная хроматография, гомогенизация или экструзия через мембраны с капиллярными порами.

#### 4. Способы применения

Раскрытые соединения и композиции можно применять в различных способах, включая способы модулирования иммунного ответа у субъекта, способы индукции или усиления иммуногенности антигена у субъекта и способы лечения, предупреждения или снижения предрасположенности к аллергии, аутоиммунному состоянию, раку или бактериальной, вирусной или прионной инфекции.

#### **Модулирование иммунного ответа**

Раскрытые соединения и композиции можно применять в способах модулирования иммунного ответа у субъекта, включающих введение субъекту эффективного количества соединения, описанного в данном документе, адьювантной композиции, описанной в данном документе, вакцинной композиции, описанной в данном документе, или фармацевтической композиции, описанной в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления иммунный ответ у субъекта повышается. В некоторых вариантах осуществления субъект страдает раком, аутоиммунным нарушением, аллергией или инфекционным заболеванием. Инфекционное заболевание может быть вызвано вирусом, бактерией, или прионом,

или прионоподобным белком.

Раскрытые соединения и композиции можно применять в способе индукции усиленного иммунного ответа у субъекта.

Усиленный иммунный ответ может быть индуцирован путем совместного введения соединения или композиции с антигеном. Подходящие антигены включают микробные патогены, бактерии, вирусы, белки, гликопротеины, липопротеины, пептиды, гликопептиды, липопептиды, анатоксины, углеводы и опухолеспецифические антигены. Можно применять смеси двух или более антигенов.

#### **Индукция или усиление иммуногенности антигена**

Раскрытые соединения и композиции можно применять в способах индукции или усиления иммуногенности антигена у субъекта, включающих введение субъекту вакцинной композиции, содержащей антиген, и адьювантной композиции, содержащей эффективное количество соединения или композиции, описанных в данном документе.

Подходящие антигены включают микробные патогены, бактерии, вирусы, белки, гликопротеины, липопротеины, пептиды, гликопептиды, липопептиды, анатоксины, углеводы и опухолеспецифические антигены. Можно применять смеси двух или более антигенов. В некоторых вариантах осуществления антиген получен из бактерии, вируса, бактериофага, гриба, приона, новообразования, аутоантигена, материалов животного, растительного происхождения, рекомбинантного или синтетического материала.

#### **Способы лечения, предупреждения или снижения предрасположенности к заболеванию и нарушению**

Раскрытые соединения и композиции можно применять в способах лечения, предупреждения или снижения предрасположенности к заболеванию или нарушению, при этом способы включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения или композиции, описанных в данном документе.

#### **Аллергия**

В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение представляют собой аллергию или аллергическое заболевание/состояние. Под аллергией понимают приобретенную гиперчувствительность к веществу (аллергену). Аллергические состояния включают, например, экзему, аллергический ринит или ринит, сенную лихорадку, бронхиальную астму, крапивную лихорадку (крапивницу) и пищевые аллергии и другие атопические состояния.

Способ может уменьшать, подавлять или останавливать/предупреждать аллергическую реакцию или воспалительный ответ (например, замедляя или снижая продуцирование антител или количество антител к специфическому антигену).

#### **Аутоиммунное состояние**

В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение представляют собой аутоиммунные состояния. Аутоиммунные состояния возникают, когда иммунная система индивидуума атакует его собственные органы или ткани, вызывая клиническое состояние, связанное с разрушением этой ткани. Аутоиммунные состояния включают, например, ревматоидный артрит, инсулинозависимый сахарный диабет, синдром приобретенного иммунодефицита ("СПИД"), гемолитические анемии, ревматическую лихорадку, болезнь Крона, синдром Гийена-Барре, псориаз, тиреоидит, болезнь Грейвса, тяжелую миастению, гломерулонефрит, аутоиммунный гепатит, рассеянный склероз и системную красную волчанку. Способ может уменьшать, подавлять или останавливать аутоиммунный ответ.

#### **Инфекция или инфекционное заболевание**

В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение представляют собой инфекцию или инфекционное заболевание. Инфекционные заболевания вызваны возбудителями инфекции, в том числе без ограничения вирусами, бактериями, грибами, простейшими, паразитами и прионами или прионоподобными белками. В некоторых вариантах осуществления инфекционное заболевание или инфекция могут быть вызваны бактериями, вирусом или прионом или прионоподобным белком.

Вирусные заболевания, которые можно лечить с помощью способов по настоящему изобретению, включают без ограничения заболевания, вызванные вирусами гепатита типа А, гепатита типа В, гепатита типа С, вирусом гриппа, вирусом ветряной оспы, аденовирусом, вирусом простого герпеса типа I (HSV-I), вирусом простого герпеса типа II (HSV-II), вирусом лихорадки денге, вирусом Эбола, вирусом Зика, вирусом чумы крупного рогатого скота, риновирусом, эховирусом, ротавирусом, респираторно-синцитиальным вирусом, папилломавирусом, паповавирусом, цитомегаловирусом, эхиновирусом, арбовирусом, хантавирусом, вирусом Коксаки, вирусом эпидемического паротита, вирусом кори, вирусом краснухи, вирусом полиомиелита, вирусом иммунодефицита человека типа I (HIV-I) и вирусом иммунодефицита человека типа II (HIV-II).

Бактериальные заболевания, которые можно лечить с помощью способов по настоящему изобретению, включают без ограничения заболевания, вызванные микобактериями, риккетсиями, микоплазмой, *Neisseria*, холеру, гонорею, болезнь Лайма, коклюш, чуму, сифилис, туберкулез, пятнистую лихорадку Скалистых гор и легионеллу.

#### **Рак**

В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение представляют собой рак. Спо-

соб может уменьшать или подавлять пролиферацию раковых клеток. Способы можно применять в отношении любой раковой клетки или у субъекта, имеющего любой из типов рака, например описанные Национальным институтом рака. Иллюстративные виды рака могут включать следующее:

виды рака органов пищеварительной системы/желудочно-кишечного тракта, такие как рак анального канала; рак желчных протоков; рак внепеченочных желчных протоков; рак червеобразного отростка; карциноидная опухоль; рак желудочно-кишечного тракта; рак толстой кишки; колоректальный рак, включая колоректальный рак в детском возрасте; рак пищевода, включая рак пищевода в детском возрасте; рак желчного пузыря; рак желудка (ЖКТ), включая рак желудка (ЖКТ) в детском возрасте; печеночно-клеточный рак (рак печени), включая (первичный) печеночно-клеточный рак (рак печени) во взрослом возрасте и (первичный) печеночно-клеточный рак (рак печени) в детском возрасте; рак поджелудочной железы, включая рак поджелудочной железы в детском возрасте; саркома; рабдомиосаркома; рак островков поджелудочной железы; рак прямой кишки и рак тонкого кишечника;

виды рака эндокринной системы, такие как карцинома из островковых клеток (эндокринная часть поджелудочной железы); карцинома надпочечников, включая карциному надпочечников в детском возрасте; карциноидная опухоль ЖКТ; рак околощитовидной железы; феохромоцитомы; опухоль гипофиза; рак щитовидной железы, включая рак щитовидной железы в детском возрасте; синдром множественной эндокринной неоплазии в детском возрасте; и карциноидная опухоль в детском возрасте;

виды рака глаза, такие как внутриглазная меланома и ретинобластома;

виды рака опорно-двигательного аппарата, такие как семейство опухолей типа саркомы Юинга; остеосаркома/злокачественная фиброзная гистиоцитома кости; рабдомиосаркома в детском возрасте; саркома мягких тканей, включая саркому мягких тканей во взрослом и в детском возрасте; светлоклеточная саркома сухожильных влагалищ и саркома матки;

рак груди, такой как рак молочной железы, включая рак молочной железы в детском возрасте и у мужчин и рак молочной железы во время беременности;

виды рака нервной системы, такие как глиома ствола головного мозга в детском возрасте; опухоль головного мозга; астроцитомы мозжечка в детском возрасте; астроцитомы головного мозга/злокачественная глиома в детском возрасте; эпендимомы в детском возрасте; медуллобластома в детском возрасте; опухоль шишковидной железы и супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли в детском возрасте; глиома зрительного пути и гипоталамическая глиома в детском возрасте; другие виды рака головного мозга в детском возрасте; рак надпочечников; первичная лимфома центральной нервной системы; астроцитомы мозжечка в детском возрасте; нейробластома; краниофарингиома; опухоли спинного мозга; атипичная тератоидная/рабдоидная опухоль центральной нервной системы; эмбриональные опухоли центральной нервной системы, и супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли, и опухоль гипофиза в детском возрасте;

виды рака органов мочеполовой системы, такие как рак мочевого пузыря, включая рак мочевого пузыря в детском возрасте; почечно-клеточный рак (рак почки); рак яичников, включая рак яичников в детском возрасте; эпителиальный рак яичников; опухоль яичников с низким потенциалом злокачественности; рак полового члена; рак предстательной железы; почечно-клеточный рак, включая почечно-клеточный рак в детском возрасте; переходно-клеточный рак почечной лоханки и мочеточника; рак яичка; рак мочеиспускательного канала; рак влагалища; рак вульвы; рак шейки матки; опухоль Вильмса и другие опухоли почек в детском возрасте; рак эндометрия; и гестационная трофобластическая опухоль; виды эмбрионально-клеточного рака, такие как внечерепная эмбрионально-клеточная опухоль в детском возрасте, внегонадная эмбрионально-клеточная опухоль; эмбрионально-клеточная опухоль яичников;

виды рака головы и шеи, такие как рак губ и полости рта; рак полости рта, включая рак полости рта в детском возрасте; гипофарингеальный рак; рак гортани, включая рак гортани в детском возрасте; метастатический плоскоклеточный рак шеи со скрытым первичным заболеванием; рак ротовой полости; рак полости носа и околоносовых пазух; рак носоглотки, включая рак носоглотки в детском возрасте; рак ротоглотки; рак околощитовидной железы; рак глотки; рак слюнной железы, включая рак слюнной железы в детском возрасте; рак горла и рак щитовидной железы;

гемобластозы/виды рака крови, такие как лейкоз (например, острый лимфобластный лейкоз, включая острый лимфобластный лейкоз во взрослом и в детском возрасте; острый миелоидный лейкоз, включая острый миелоидный лейкоз во взрослом и в детском возрасте; хронический лимфоцитарный лейкоз; хронический миелогенный лейкоз и волосатоклеточный лейкоз); лимфома (например, лимфома, связанная со СПИДом; кожная Т-клеточная лимфома; лимфома Ходжкина, включая лимфому Ходжкина во взрослом и в детском возрасте и лимфому Ходжкина во время беременности; неходжкинская лимфома, включая неходжкинскую лимфому во взрослом и в детском возрасте и неходжкинскую лимфому во время беременности; фунгоидный микоз; синдром Сезари; макроглобулинемия Вальденстрема и первичная лимфома центральной нервной системы); и другие гемобластозы (например, хронические миелопролиферативные нарушения; множественная миелома/неоплазия плазматических клеток, миелодиспластические синдромы и миелодиспластические/миелопролиферативные нарушения);

рак легкого, такой как немелкоклеточный рак легкого и мелкоклеточный рак легкого;

виды рака дыхательных путей, такие как злокачественная мезотелиома во взрослом возрасте; зло-



качественная мезотелиома в детском возрасте; злокачественная тимома; тимома в детском возрасте; рак вилочковой железы; бронхиальные аденомы/карциномы, включая бронхиальные аденомы/карциномы в детском возрасте; плевропульмональная бластома; немелкоклеточный рак легкого и мелкоклеточный рак легкого;

виды рака кожи, такие как саркома Капоши; карцинома из клеток Меркеля; меланома и рак кожи в детском возрасте;

злокачественные новообразования, связанные со СПИДом;

другие виды рака в детском возрасте, необычные виды рака у детей и виды рака с неизвестным первичным очагом и метастазы вышеупомянутых видов рака.

#### 5. Наборы

В одном аспекте настоящее изобретение предусматривает наборы, содержащие по меньшей мере одно раскрытое соединение или его фармацевтически приемлемую соль или композицию, содержащую соединение или его фармацевтически приемлемую соль, и одно или несколько из следующего:

(a) по меньшей мере один антиген;

(b) по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство и

(c) инструкции по введению соединения или композиции.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно раскрытое соединение и по меньшей мере один антиген или по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство составлены совместно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно раскрытое соединение и по меньшей мере один антиген или по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство упакованы совместно. Наборы также могут содержать соединения и/или продукты, совместно упакованные, совместно составленные и/или совместно доставленные с другими компонентами. Например, производитель лекарственного средства, лицо, занимающееся перепродажей лекарственных средств, врач, рецептурная аптека или фармацевт могут предоставить набор, содержащий раскрытое соединение и/или продукт и другой компонент для доставки пациенту.

Раскрытые наборы можно использовать в связи с раскрытыми способами применения.

Наборы могут дополнительно включать как информацию, так и инструкции относительно того, что применение набора обеспечит повышенный иммунитет против определенных патогенов у млекопитающих (в частности, людей). Информация и инструкции могут быть как в форме слов, так и в форме изображений и т. п. В дополнение или в качестве альтернативы набор может включать соединение, композицию или и то, и другое; и информацию, инструкции или и то, и другое относительно способов введения соединения или композиции, предпочтительно с положительным эффектом лечения или предупреждения медицинских состояний у млекопитающих (например, людей).

Соединения и способы по настоящему изобретению можно лучше понять при ссылке на следующие примеры, которые предназначены для иллюстрации, а не ограничения объема настоящего изобретения.

#### 6. Примеры

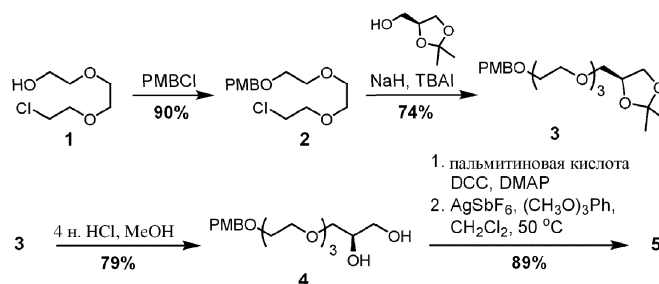
Для специалистов в данной области будет очевидно, что другие подходящие модификации и адаптации настоящего изобретения, описанного в данном документе, легко применимы и заметны и могут быть выполнены с применением подходящих эквивалентов без отступления от объема настоящего изобретения или аспектов и вариантов осуществления, раскрытых в данном документе. После подробного описания настоящего изобретения его можно будет лучше понять при ссылке на следующие примеры, которые предназначены исключительно для иллюстрации некоторых аспектов и вариантов осуществления настоящего изобретения и не должны рассматриваться как ограничивающие объем настоящего изобретения. Описания всех ссылок на журналы, патентов США и публикаций, упомянутых в данном документе, настоящим включены посредством ссылки во всей своей полноте.

Аббревиатуры, применяемые в схемах и приведенных ниже описаниях, включают следующие: DCC представляет собой N,N'-дициклогексилкарбодиимид; DMAP представляет собой N,N-диметилпиридин-4-амин; DMF представляет собой диметилформамид; экв. представляет собой эквиваленты; IFN $\alpha$  представляет собой интерферон-альфа; IgG представляет собой иммуноглобулин G; IL-12p70 представляет собой интерлейкин 12 p70; Im-OTf представляет собой трифторметансульфонат имидазолия; Pal представляет собой C(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CH<sub>3</sub>; РВМС представляет собой мононуклеарную клетку периферической крови; ПЭГ представляет собой полиэтиленгликоль; РМВ представляет собой пара-метоксибензил; к. т. представляет собой комнатную температуру; ТВАI представляет собой йодид тетрабутиламония; ТЕА представляет собой триметиламин; THF представляет собой тетрагидрофуран; TLR представляет собой Toll-подобный рецептор; TNF $\alpha$  представляет собой фактор некроза опухоли-альфа; 14Dp1 представляет собой через 14 дней после первичной иммунизации и 14Dp2 представляет собой через 14 дней после вторичной иммунизации.

Пример 1. Иллюстративный синтез соединения UM-1007

А. Синтез ПЭГилированного глицерина

Необходимый дипальмитоилПЭГилированный глицерин 5 получали в 5 стадий из коммерчески доступного монохлорида триэтиленгликоля (1).

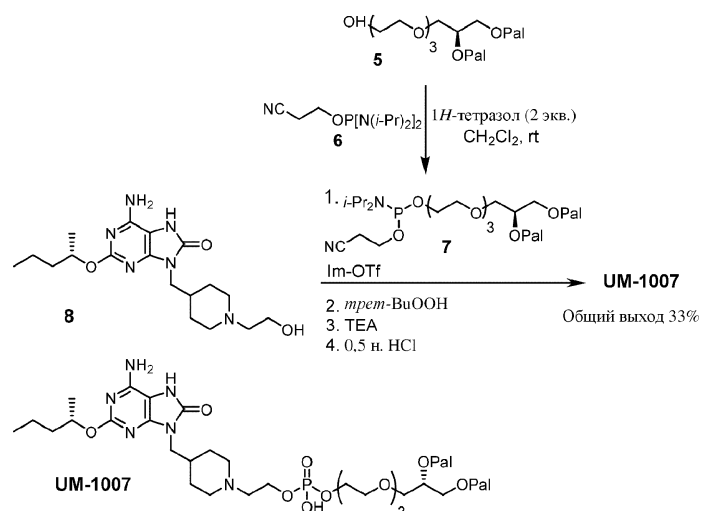


К раствору 1 в безводном DMF (2,0 М) добавляли *n*-метоксibenзилхлорид (3 экв.) и йодид тетра-*n*-бутиламмония (0,02 экв.) и раствор охлаждали до 0°C. К холодному раствору медленно добавляли гидрид натрия (1,25 экв.). После перемешивания при 0°C в течение 30 мин обеспечивали нагревание реакционной смеси до к.т. Через 4 ч реакционную смесь медленно гасили насыщенным раствором бикарбоната натрия и экстрагировали с помощью хлороформа. Органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (10-40% этилацетата в гептане) с получением 2 в виде бесцветного масла с выходом 90%. К раствору 2 (1,5 экв.), 1,2-*sn*-изопропилиденглицерина (1,0 экв.) и йодида тетра-*n*-бутиламмония (0,05 экв.) в безводном THF (0,69 М) медленно добавляли гидрид натрия (1,5 экв.). Через 15 ч. при 75°C добавляли дополнительное количество 2 (0,5 экв.) и гидрида натрия (1,5 экв.) и реакционную смесь перемешивали при 75°C. Через 6 ч реакционную смесь охлаждали до к.т., гасили путем добавления солевого раствора и экстрагировали три раза с помощью этилацетата. Объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (20-80% этилацетата в гептане) с получением 3 в виде бесцветного масла с выходом 74%. К раствору 3 в метаноле (0,32 М; CH<sub>3</sub>OH:HCl 29/1 об./об.) добавляли 0,4 н. HCl и реакционную смесь перемешивали при к.т. Через 1 ч реакционную смесь гасили насыщенным раствором бикарбоната натрия и экстрагировали с помощью хлороформа. Органический слой высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (0-12% метанола в хлороформе) с получением 4 в виде бесцветного масла с выходом 79%. К холодному (0°C) раствору 4 и пальмитиновой кислоты (2,1 экв.) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,29 М) добавляли DCC (2,1 экв.) и DMAP (0,05 экв.) и реакционную смесь перемешивали при 0°C. Через 30 мин обеспечивали нагревание реакционной смеси до к.т. Через 15 ч при к.т. добавляли дополнительное количество пальмитиновой кислоты (0,5 экв.) и DCC (0,5 экв.) и перемешивание продолжали в течение 24 ч. Реакционную смесь фильтровали и неочищенный материал частично очищали с помощью хроматографии на силикагеле (0-50% этилацетата в гептане). Раствор частично очищенного сырого продукта и триметоксибензола (0,5 экв.) в безводном CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,17 М), полученный в атмосфере азота, добавляли с помощью канюли к раствору гексафтороантимоната(V) серебра (0,05 экв.) в безводном CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,09 М) в атмосфере азота. Через 2 дня при к.т. добавляли дополнительное количество гексафтороантимоната(V) серебра (0,05 экв.) и триметоксибензола (0,5 экв.) и реакционную смесь перемешивали при 50°C. Через 24 ч реакционную смесь концентрировали под вакуумом и очищали с помощью хроматографии на силикагеле (10-70% этилацетата в гептане) с получением 5 в виде белого твердого вещества с выходом 89%.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>, 400 МГц), δ 5,23 (m, 1H), 4,34 (dd, 1H), 4,16 (dd, 1H), 3,50-3,74 (m, 14H), 2,49 (t, 1H), 2,30 (dd, 4H), 1,60 (m, 4H), 1,25 (m, 48H), 0,88 (t, 6H).

В. Синтез соединения UM-1007

Оксаденин UM-1007 получали реакцией фосфолипидирования ядра оксаденина 8 с помощью раствора фосфорамидита 7, полученного *in-situ* из 5, как показано ниже, с применением ранее разработанного тандемного способа (Tetrahedron Lett., 2016, 57, 2063-2066).



К раствору дипальмитоилПЭГилированного глицерина 5 (1,3 экв.) в безводном метиленхлориде (0,12 М) добавляли коммерчески доступный фосфордиамидит 6 (1,3 экв.) в атмосфере азота с последующим медленным добавлением тетразола (1,5 экв.). После перемешивания при к.т. в течение 1 ч реакционную смесь охлаждали до 0°C и добавляли оксоаденин 8 (1,0 экв.) и трифлат имидазолия (2,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 10 мин, затем обеспечивали ее нагревание до к.т. Через 1 ч реакционную смесь гасили путем добавления насыщенного раствора бикарбоната натрия. Органический слой высушивали над сульфатом натрия и концентрировали с получением неочищенного фосфита. К раствору неочищенного фосфита в безводном метиленхлориде (0,12 М) добавляли трет-бутилгидропероксид (5,5 М раствор в нонане, 2,0 экв.). Через 30 мин при к.т. реакционную смесь концентрировали под вакуумом и растворяли в смеси ацетонитрил/триэтиламин (2,8:1 об./об., 0,05 М), и реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение ночи. После концентрирования под вакуумом реакционную смесь очищали с помощью хроматографии на силикагеле (20-100% смеси метанол/ацетонитрил (50/50) в хлороформе) с получением UM-1007 с общим выходом 36%.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD) δ 5,20 (m, 1H), 5,12 (m, 1H), 4,35 (dd, 1H), 4,12-4,17 (m, 3H), 4,05 (q, 2H), 3,79 (br s, 2H), 3,59-3,70 (m, 12H), 3,26 (br s, 2H), 2,80 (br s, 1H), 2,32 (q, 4H), 1,95 (m, 2H), 1,77 (m, 2H), 1,58 (m, 4H), 1,42 (m, 2H), 1,26 (m, 51H), 0,88 (m, 9H). <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD) δ 174,2, 173,9, 160,7, 153,9, 149,9, 148,5, 106,4, 98,8, 77,8, 73,2, 71,1, 70,9, 70,8, 70,7, 70,5, 70,3, 69,7, 65,4, 65,3, 63,1, 58,8, 53,3, 47,0, 38,6, 34,6, 34,4, 32,2, 29,9, 29,8, 29,6, 29,4, 29,3, 27,4, 25,2, 25,1, 22,9, 20,0, 19,0, 18,9, 14,2, 14,1, 8,8. HRMS [M+H]<sup>+</sup> расч. 1141,7868, обнаруженное значение 1141,7906.

Пример 2. Биологическая активность

#### Активность соединения UM-1007 in vitro

Ответы IFNα и IL-12p70 измеряли в первичных мононуклеарных клетках периферической крови (PBMC) человека после воздействия различных концентраций оксоадениновых соединений.

Липосомы получали с применением тонкопленочного способа: фосфолипиды (DOPC и холестерин при 40 и 10 мг/мл соответственно) и агонист(агонисты) (агонист TLR7/8, зафиксированный при 2 мг/мл) растворяли в хлороформе в круглодонной колбе для достижения необходимой концентрации. Растворитель удаляли под вакуумом с помощью ротационного выпаривания при 45°C и полученную высушенную пленку помещали в вакуумную камеру на ночь для удаления любого остаточного растворителя. К высушенной пленке добавляли буфер для регидратации и суспензию подвергали воздействию ультразвука для ресуспендирования фосфолипидов и образования однослойных везикул. Обработку ультразвуком продолжали до тех пор, пока размер частиц не стал составлять <200 нм, после чего составы подвергали стерилизующей фильтрации через фильтр из PVDF с размером пор 0,22 мкм. Концентрации агониста(агонистов) в составах определяли с помощью RP-HPLC с применением калибровочной кривой на основе пяти точек. Цельную кровь человека собирали у нормальных здоровых доноров в Университете Монтаны (Миссула, штат Монтана, США) с применением протокола, одобренного экспертным советом медицинского учреждения. Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) выделяли с помощью градиентного разделения Ficoll Nuраque 1.077 и культивировали при 0,5×10<sup>6</sup> клеток/лунка в 96-луночных планшетах для тканевых культур со средой RPMI-1640 (HyCone™, Логан, штат Юта, США), Pen/Strep/глутамин (HyCone™, Логан, штат Юта, США) и 10% FBS, инактивированной нагреванием (Corning, Манассас, штат Вирджиния, США). PBMC человека стимулировали в течение 24 ч возрастающими концентрациями указанных соединений. Супернатанты клеточных культур анализировали на уровне IL-12p70 и IFNα с применением набора DuoSet (R) ELISA для IL-12p70 человека (R&D Systems, Миннеаполис, штат Миннесота, США) и набора VeriKine ELISA для IFNα человека (Pestka Biomedical Laboratories, Inc., Пискаатауэй, штат Нью-Джерси, США).

ПЭГилированный оксоаденин UM-1007 был более мощным индуктором IFN $\alpha$  в PBMC человека при тестировании отдельно или в комбинации с агонистом TLR4 CRX-601, чем соответствующий неПЭГилированный оксоаденин (соединение В) (см. структуру на фиг. 1), что указывает на то, что введение ПЭГилированного линкера увеличивало индукцию IFN $\alpha$  (фиг. 2А).

В то время как неПЭГилированный оксоаденин (соединение В) индуцировал IL-12p70 сам по себе при высокой дозе (>10 мкМ), ПЭГилированный оксоаденин UM-1007 был гораздо более мощным индуктором IL-12p70 (в 125 раз) в PBMC человека в комбинации с агонистом TLR4 CRX-601, чем соответствующий неПЭГилированный оксоаденин (соединение В), что указывает на то, что введение ПЭГилированного линкера повышало степень синергизма с агонистами TLR4 для индукции IL-12p70 (фиг. 2В).

#### **Активность соединения UM-1007 in vivo**

Исследования на мышах проводили в аккредитованных OLAW и AAALAC вивариях в соответствии с руководящими принципами IACUC Университета Монтаны по содержанию и использованию лабораторных животных. Мыши линии Balb/c (10/группа) получали две внутримышечные иммунизации увеличивающимися дозами адьюванта (3 разные дозы) и моновалентным (A/Victoria, H3N2) антигеном расщепленного вируса гриппа (0,15 мкг) в день 0 и день 14. Образцы сыворотки собирали через 14 дней после первичной (14Dp1) и через 14 дней после вторичной иммунизации (14Dp2) для анализа антител с помощью ELISA. Планшеты для ELISA покрывали 100 мкл детергент-субъединичной вакцины против гриппа A/Victoria в концентрации 1 мкг/мл. После промывки (PBS плюс tween 20) и блокирования (SuperBlock, Scytek Laboratories) планшеты инкубировали с разбавленной сывороткой в течение 1 ч., а затем с вторичными антителами к IgG, IgG1 или IgG2a-HRP мыши (Bethyl Laboratories) и субстратом ТМВ (BD). Планшеты считывали при длине волны 450 нм. Титры антител определяли посредством расчета титра каждого образца при OD 0,3.

Исследования на свиньях проводились контрактной лабораторией PAIRimmune (Лаваль, Канада). Образцы сыворотки юкатанских минипиггов (5/группы) собирали на день -21 и день -1 для оценки ранее существовавших титров сывороточных антител к вирусу гриппа. Эти свиньи демонстрировали некоторые низкие уровни ранее существовавших титров сывороточных антител к вирусу гриппа. Свиньи получали две внутримышечные иммунизации (500 мкл/доза) адьювантами (2 разные дозы) и антигеном расщепленного вируса гриппа (1/10 дозы для человека) в день 0 и день 21. Образцы сыворотки собирали через 14 дней после первичной (14Dp1) и через 14 дней после вторичной иммунизации (14Dp2) для анализа антител. Планшеты для ELISA покрывали 100 мкл детергент-субъединичной вакцины против гриппа A/Victoria в концентрации 1 мкг/мл. После промывки (PBS плюс tween 20) и блокирования (SuperBlock, Scytek Laboratories) планшеты инкубировали с разбавленной сывороткой в течение 1 ч, а затем с конъюгированными вторичными антителами к IgX-HRP свиньи и субстратом ТМВ. Планшеты считывали при длине волны 450 нм. Титры антител определяли посредством расчета титра каждого образца при OD 0,3.

В исследовании с применением расщепленного вируса гриппа, проведенном на мышах, UM-1007 было составлено в липосомах, отдельно или совместно инкапсулировано с агонистом TLR4 CRX-601 при фиксированном соотношении TLR7/8:TLR4, составляющем 10:1. Высокие титры IgG к вирусу гриппа были обнаружены через 14 дней после однократной внутримышечной вакцинации у мышей, ранее не получавших лечение (14dp1, фиг. 3А). Титры были дополнительно увеличены путем введения второй бустерной дозы вакцины (14dp2, фиг. 3В). UM-1007 увеличивало титры зависимым от дозы образом с помощью 10 мкг, демонстрируя титры в 17 раз выше, чем у животных, вакцинированных только антигеном. При совместной инкапсуляции с CRX-601 этот ответ был дополнительно усилен больше чем в 25 раз по сравнению с группой, получавшей только антиген.

UM-1007 также было оценено в качестве адьюванта вакцины против гриппа у юкатанских минипиггов. UM-1007 было составлено в липосомах, отдельно или совместно инкапсулировано с агонистом TLR4 CRX-601. Также оценивали смешанные липосомы UM-1007 и липосомы CRX-601. Свиньи, использованные в этом эксперименте, демонстрировали некоторые ранее существовавшие титры сывороточных антител к вирусу гриппа. Несмотря на это, все группы, получавшие адьювант с агонистами TLR7/8-TLR4, демонстрировали более высокие средние титры антител, чем группа, получавшая только антиген, после однократной вакцинации (не показана) или бустерной дозы вакцины (14dp2, фиг. 4). Повышение специфических для вируса гриппа IgG1 (фиг. 4А) и IgG2 (фиг. 4В) было четко продемонстрировано для совместно инкапсулированных UM-1007 и CRX-601 по сравнению с CRX-601 или UM-1007, взятыми отдельно.

С. Влияние боковых ацильных цепей на активность выбранных агонистов TLR in vitro

Соединение В имеет олеоильные ацильные цепи, тогда как UM-1007 имеет пальмитоильные ацильные цепи (фиг. 1). Увеличение активности in vitro, наблюдаемое выше для UM-1007 по сравнению с соединением В, не было связано с различными ацильными цепями, как показано при сравнении активности оксоаденинового соединения

С с пальмитоильными цепями и оксоаденинового соединения А с олеоильными цепями (фиг. 5). Оба оксоаденина индуцировали подобные уровни TNF $\alpha$  (фиг. 5А), IFN $\alpha$  (фиг. 5В) (наблюдалось не-

большое увеличение активности для оксоаденина с пальмитоильными цепями) и IL-12p70 (фиг. 5С).

Пример 3. Биологическая активность

#### **Активность соединения UM-1007 in vivo**

Молодым самкам мышей линии Balb/c (возраст примерно 8 недель) имплантировали  $1 \times 10^6$  клеток СТ26 (клеточная линия рака толстой кишки мыши, сингенная у мышей линии Balb/c) подкожно в правый бок. Когда опухоли достигали среднего размера  $75 \text{ мм}^3$  (через 11 дней после имплантации клеток СТ26), мышей рандомизировали на группы лечения. Начиная с дня 12, 10 мкг или 50 мкг UM-1007 в виде водного состава (2% раствор глицерина в стерильной воде) вводили IV один раз в неделю в течение двух недель. Как показано на фиг. 6А и фиг. 6В, это приводило к более медленному росту опухоли по сравнению с контрольными группами, не получавшими лечение.

Пример 4. Адсорбция UM 1007 на квасцах

#### **Материалы**

Alhydrogel® (10 мг/мл алюминия) представляет собой влажную гелевую суспензию гидроксида алюминия, доступную от InvivoGen. Частицы Alhydrogel® характеризуются полным положительным электрическим зарядом при pH 5-7 и подходят для адсорбции отрицательно заряженных антигенов (например, антигенов с изоэлектрическими точками ниже уровня pH состава).

Adju-Phos® (0,5% алюминия) представляет собой влажную гелевую суспензию фосфата алюминия, доступную от InvivoGen. Частицы Adju-Phos® характеризуются отрицательным электрическим зарядом при pH 5-7 и подходят для адсорбции положительно заряженных антигенов (например, антигенов с изоэлектрическими точками выше уровня pH состава).

#### **Способы**

##### **Получение водного состава на основе UM 1007**

UM 1007 переводили в соль с помощью процедуры сухого высаливания с помощью бикарбоната холина. Вкратце, UM 1007 помещали в стеклянный флакон и добавляли необходимое количество тетрагидрофурана и 0,8 экв. бикарбоната холина для получения прозрачного раствора. Смесь тщательно перемешивали на вортексе и растворитель выпаривали при пониженном давлении с применением ротационного испарителя. Тонкую пленку, образовавшуюся на стенках стеклянного флакона, регидратировали с помощью 2% раствора глицерина и подвергали воздействию ультразвука с применением ультразвуковой бани в течение 210 мин при температуре  $< 35^\circ\text{C}$  для уменьшения размера частиц. Концентрацию UM 1007 оценивали с помощью способа RP-HPLC.

##### **Адсорбция UM 1007 на Alhydrogel и Adju-Phos**

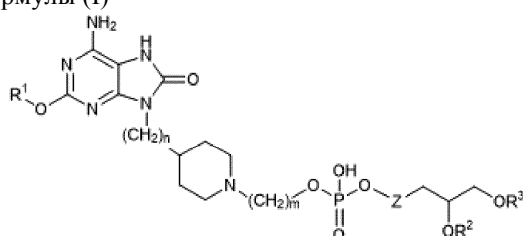
Эксперименты по адсорбции UM 1007 на Alhydrogel и Adju-Phos проводили при двух разных весовых соотношениях UM 1007 и алюминия (1:1 и 1:2 вес./вес.) и с 3 разными растворами (2% раствором глицерина, водой для промывания (WIFI) и трис-буфером (при pH 8,1)). Серию составов на основе UM 1007-квасцы получали при комнатной температуре путем смешивания разных количеств водного состава на основе UM 1007, соответствующего исходного буфера (2% раствора глицерина, воды для промывания и трис-буфера при pH 8,1) и исходного раствора алюминия (1 мг/мл Alhydrogel или Adju-Phos). Alhydrogel и Adju-Phos разбавляли до концентрации 1 мг/мл перед проведением эксперимента. Разные объемы UM 1007 (0,7215 мг/мл) и квасцов (1 мг/мл) осторожно перемешивали путем переворачивания при комнатной температуре в течение около 1 ч. Образцы центрифугировали в течение 5 мин при 4000 об./мин и супернатанты анализировали с помощью способа RP-HPLC для определения количества неадсорбированного UM 1007. Процентную долю UM 1007, адсорбированного на квасцах, оценивали относительно количества UM 1007 в контрольном составе на основе UM 1007. Результаты исследования представлены в табл. 1.

Таблица 1. Результаты UM1007, адсорбированного на квасцах в различных условиях

№	Описание состава	Процентная доля адсорбированного UM 1007
1	Контрольный состав на основе UM 1007 в 2% растворе глицерина	0
2	UM 1007: Alhydrogel (1:2) в 2% растворе глицерина (вес/вес)	99,8±0,01
3	UM 1007: Alhydrogel (1:1) в 2% растворе глицерина (вес/вес)	82,37±0,64
4	UM 1007: Alhydrogel (1:2) в WIFI (вес/вес)	99,91±1,4
5	UM 1007: Alhydrogel (1:2) в трис-буфере при pH 8,1 (вес/вес)	98,28±0,38
6	UM 1007: Adju-Phos (1:2) в 2% растворе глицерина (вес/вес)	9,20±1,41
7	UM 1007: Adju-Phos (1:1) в 2% растворе глицерина (вес/вес)	6,50±0,3

В целях полноты различные аспекты настоящего изобретения изложены в следующих пронумерованных пунктах.

Пункт 1. Соединение формулы (I)



(I).

или его фармацевтически приемлемая соль, где

R<sup>1</sup> представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>алкил;

R<sup>2</sup> представляет собой H, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкил, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкенил или C(O)R<sup>4</sup>;

R<sup>3</sup> представляет собой C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкил, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкенил или C(O)R<sup>4</sup>;

R<sup>4</sup> в каждом случае независимо выбран из C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкила и C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>алкенила;

n равняется 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

m равняется 2, 3, 4, 5 или 6;

Z представляет собой (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>алкилен-O)<sub>q</sub> и

q равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20.

Пункт 2. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R<sup>2</sup> представляет собой водород или C(O)R<sup>4</sup>.

Пункт 3. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где R<sup>3</sup> представляет собой C(O)R<sup>4</sup>.

Пункт 4. Соединение по любому из пп.1-3 или его фармацевтически приемлемая соль, где R<sup>4</sup> в каждом случае независимо выбран из (CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>CH<sub>3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>CH<sub>3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CH<sub>3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CH<sub>3</sub> и (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH=CH(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub>.

Пункт 5. Соединение по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемая соль, где R<sup>4</sup> представляет собой (CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CH<sub>3</sub>.

Пункт 6. Соединение по любому из пп.1-5 или его фармацевтически приемлемая соль, где n равняется 1.

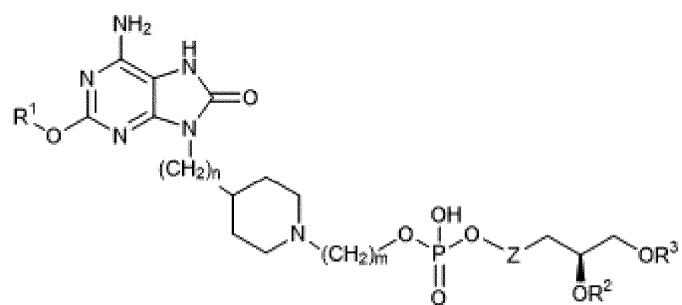
Пункт 7. Соединение по любому из пп.1-6 или его фармацевтически приемлемая соль, где m равняется 2.

Пункт 8. Соединение по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемая соль, где Z представляет собой (C<sub>2</sub>алкилен-O)<sub>q</sub>.

Пункт 9. Соединение по любому из пп.1-8 или его фармацевтически приемлемая соль, где q равняется 3, 6, 9, 12 или 16.

Пункт 10. Соединение по любому из пп.1-9 или его фармацевтически приемлемая соль, где q равняется 3.

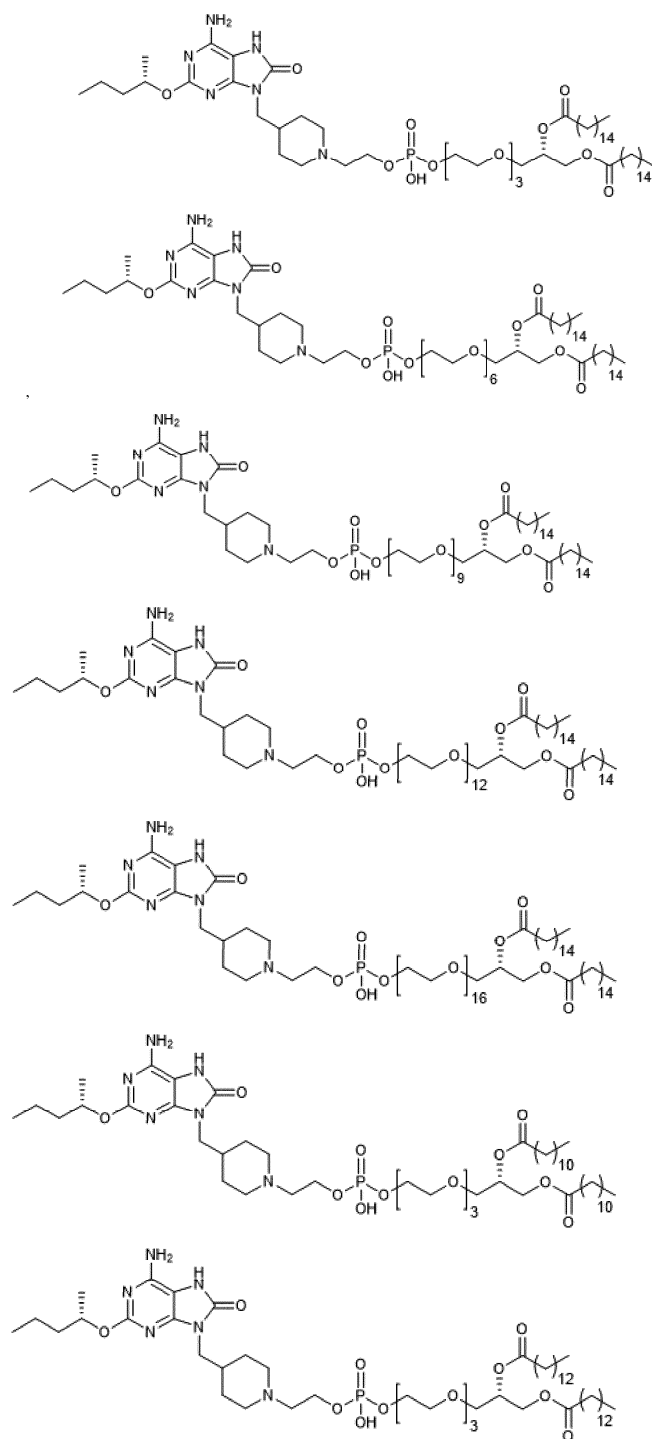
Пункт 11. Соединение по п.1, где соединение представляет собой соединение формулы (Ia)

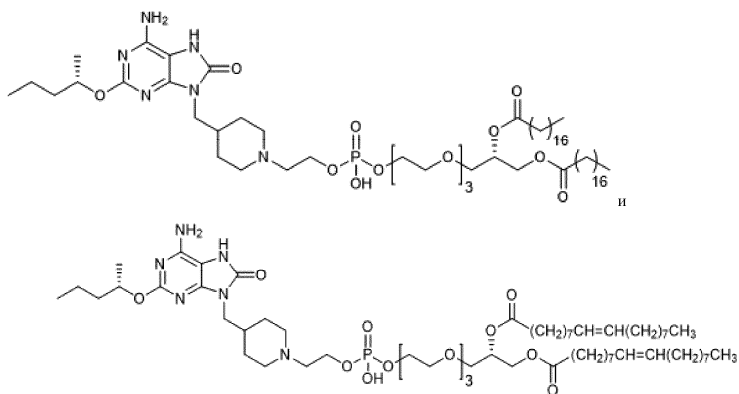


(Ia),

или его фармацевтически приемлемая соль.

Пункт 12. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, выбранные из группы, состоящей из





Пункт 13. Соединение по любому из пп.1-12, где фармацевтически приемлемая соль представляет собой холиновую соль.

Пункт 14. Соединение по любому из пп.1-13 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представляет собой антагонист TLR7.

Пункт 15. Соединение по любому из пп.1-13 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представляет собой антагонист TLR8.

Пункт 16. Состав, содержащий микрочастицу или наночастицу, содержащие соединение по любому из пп.1-15 или его фармацевтически приемлемую соль.

Пункт 17. Состав по п.16, где микрочастица или наночастица предусматривают липосому, мицеллу, полимерную частицу, блок-сополимер, частицу диоксида кремния, эмульсию или их комбинацию.

Пункт 18. Адьювантная композиция, содержащая эффективное количество соединения по любому из пп.1-15 или его фармацевтически приемлемой соли.

Пункт 19. Адьювантная композиция по п.18, где адьювантная композиция индуцирует иммунный ответ типа Th1.

Пункт 20. Способ индукции усиленного иммунного ответа у субъекта, включающий введение указанному субъекту иммуногенной композиции, содержащей соединение по любому из пп.1-15, его фармацевтически приемлемую соль или адьювантную композицию по п.18 или 19.

Пункт 21. Вакцинная композиция, содержащая антиген и соединение по любому из пп.1-15, его фармацевтически приемлемую соль или адьювантную композицию по п.18 или 19.

Пункт 22. Вакцинная композиция по п.21, где антиген получен из бактерии, вируса, бактериофага, гриба, приона, новообразования, аутоантигена, материалов животного, растительного происхождения, рекомбинантного или синтетического материала.

Пункт 23. Вакцинная композиция по п.21 или 22, где антиген находится в форме пептида или полипептида.

Пункт 24. Вакцинная композиция по п.21 или 22, где антиген находится в форме гаптена или гаптена, конъюгированного с белком-носителем.

Пункт 25. Вакцинная композиция по п.21 или 22, где антиген представляет собой аллерген.

Пункт 26. Способ индукции или усиления иммуногенности антигена у субъекта, включающий введение субъекту вакцинной композиции по любому из пп.21-25, или ее фармацевтически приемлемой соли, или адьювантной композиции по любому из пп.18-19.

Пункт 27. Фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество соединения по любому из пп.1-15 или его фармацевтически приемлемой соли.

Пункт 28. Фармацевтическая композиция по п.27, дополнительно содержащая дополнительное терапевтическое средство.

Пункт 29. Фармацевтическая композиция по п.28, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой адьювант, иммуностимулятор, химиотерапевтическое средство, иммуномодулирующее средство или их комбинацию.

Пункт 30. Фармацевтическая композиция по п.29, где адьювант представляет собой лиганд TLR4.

Пункт 31. Фармацевтическая композиция по п.29, где адьювант представляет собой соль алюминия.

Пункт 32. Фармацевтическая композиция по п.31, где соединение по любому из пп.1-15 адсорбированы на соли алюминия.

Пункт 33. Фармацевтическая композиция по п.32, дополнительно содержащая антиген, адсорбированный на соли алюминия с соединением.

Пункт 34. Фармацевтическая композиция по п.29, где иммуномодулирующее средство представляет собой ингибитор контрольных точек иммунного ответа, средство, индуцирующее фагоцитоз опухоли, или их комбинацию.

Пункт 35. Способ модулирования иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по любому из пп.27-34.

Пункт 36. Способ по п.35, где иммунный ответ у субъекта повышается.



Пункт 37. Способ по п.35 или 36, где субъект страдает раком, аутоиммунным нарушением, аллергией или инфекционным заболеванием.

Пункт 38. Способ по п. 37, где инфекционное заболевание представляет собой вирусную, бактериальную или прионную инфекцию.

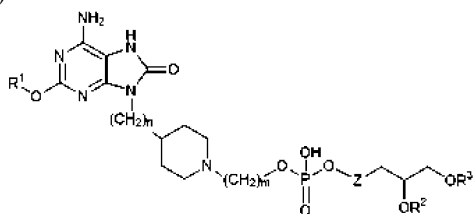
Пункт 39. Способ лечения, предупреждения или снижения предрасположенности к заболеванию или нарушению у субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-15, его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции по любому из пп.27-34.

Пункт 40. Способ по п.39, где заболевание или нарушение представляет собой аллергию, аутоиммунное заболевание или нарушение, инфекцию или инфекционное заболевание или рак.

Пункт 41. Способ по п.40, где инфекция или инфекционное заболевание вызваны вирусной, бактериальной или прионной инфекцией.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

##### 1. Соединение формулы (I)



(I),

или его фармацевтически приемлемая соль, где

$R^1$  представляет собой  $-\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$ ;

$R^2$  представляет собой  $\text{C}(\text{O})\text{R}^4$ ,  $\text{C}_6\text{-C}_{20}$ алкил или  $\text{C}_6\text{-C}_{20}$ алкенил;

$R^3$  представляет собой  $\text{C}(\text{O})\text{R}^4$ ,  $\text{C}_6\text{-C}_{20}$ алкил или  $\text{C}_6\text{-C}_{20}$ алкенил;

$R^4$  в каждом случае независимо выбран из  $\text{C}_6\text{-C}_{17}$ алкила и  $\text{C}_6\text{-C}_{17}$ алкенила;

$n$  равняется 1;

$m$  равняется 2;

$Z$  представляет собой  $(\text{C}_2\text{алкилен-O})_q$  и

$q$  равняется 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20.

2. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $R^2$  представляет собой  $\text{C}(\text{O})\text{R}^4$ .

3. Соединение по п.2 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $R^3$  представляет собой  $\text{C}(\text{O})\text{R}^4$ .

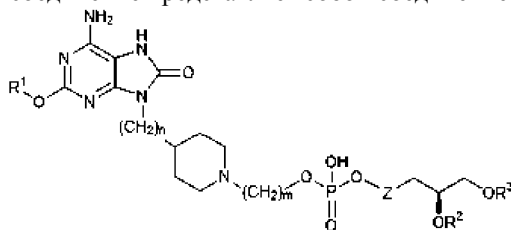
4. Соединение по любому из пп.1-3 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $R^4$  в каждом случае независимо выбран из  $(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3$ ,  $(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$ ,  $(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_3$ ,  $(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3$  и  $(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ .

5. Соединение по п.4 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $R^4$  представляет собой  $(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3$ .

6. Соединение по п.4 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $q$  равняется 3, 6, 9, 12 или 16.

7. Соединение по п.6 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $q$  равняется 3.

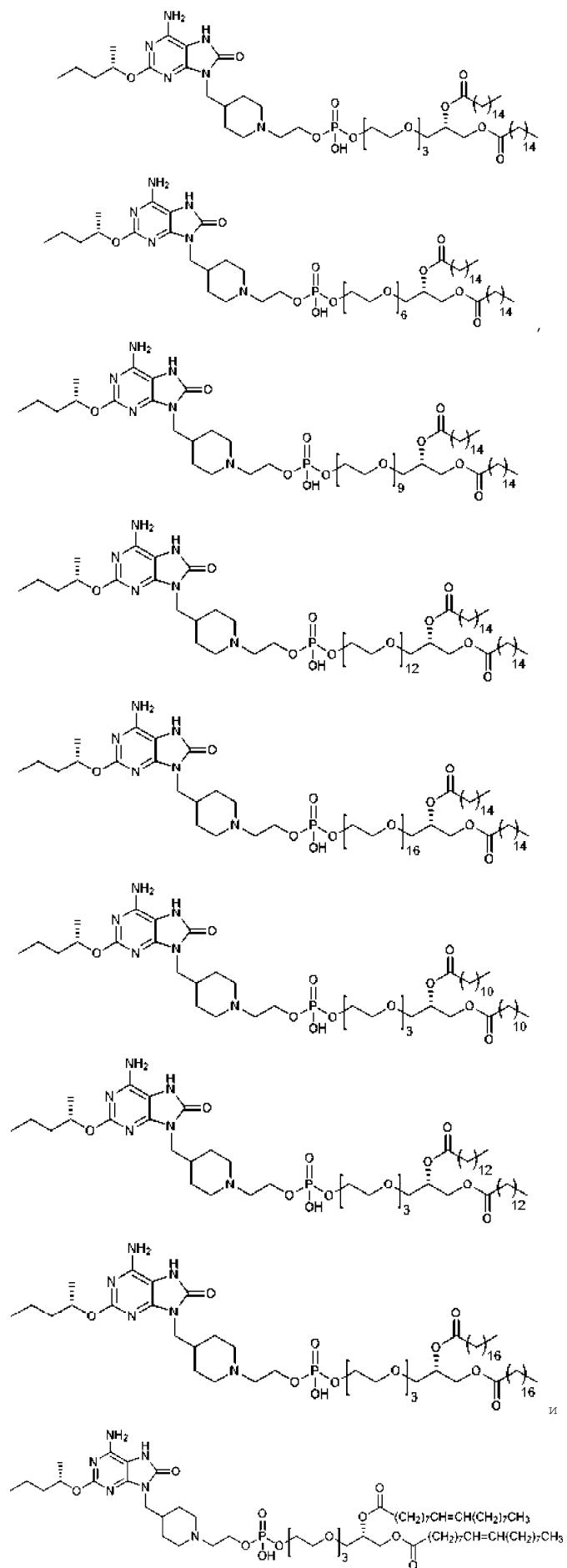
8. Соединение по п.1, где соединение представляет собой соединение формулы (Ia)



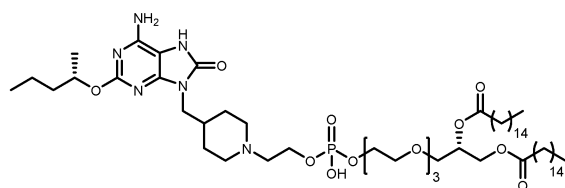
(Ia),

или его фармацевтически приемлемая соль.

9. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, выбранные из группы, состоящей из

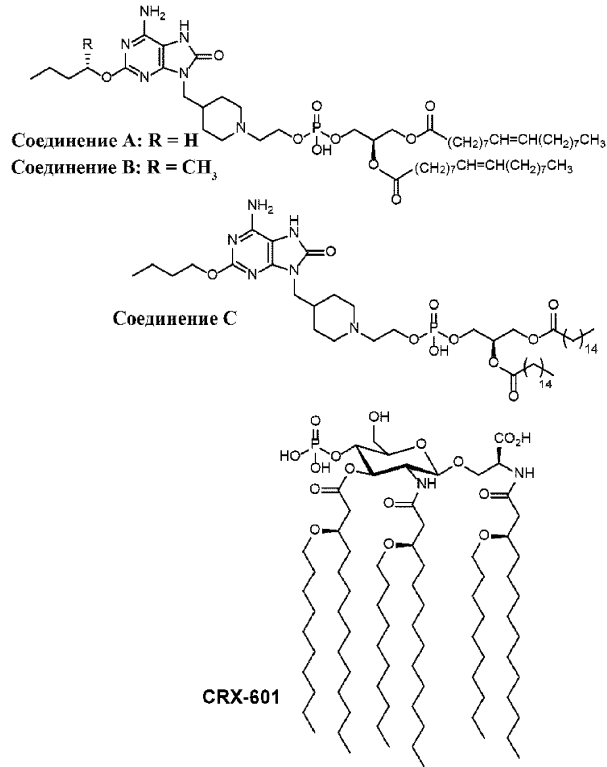


10. Соединение по п.9 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение представляет собой

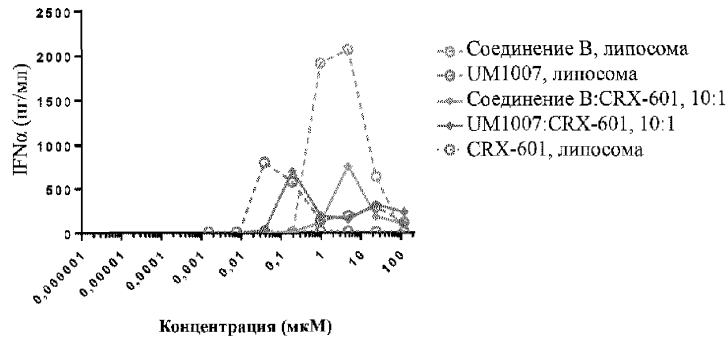


11. Соединение по п.4, где фармацевтически приемлемая соль представляет собой холиновую соль.
12. Состав для модуляции иммунного ответа, содержащий микрочастицы или наночастицы, содержащее соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемую соль.
13. Состав по п.12, где микрочастицы или наночастицы представляют собой липосомы или мицеллы, или их комбинацию.
14. Состав по п.13, где микрочастицы или наночастицы представляют собой липосомы.
15. Вакцинная композиция, содержащая антиген и соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемую соль.
16. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.
17. Фармацевтическая композиция по п.16, дополнительно содержащая лиганд TLR4.
18. Фармацевтическая композиция по п.16, дополнительно содержащая соль алюминия.
19. Фармацевтическая композиция по п.18, где соединение или его фармацевтически приемлемая соль адсорбированы на соли алюминия.
20. Фармацевтическая композиция по п.19, дополнительно содержащая антиген, адсорбированный на соли алюминия с соединением или его фармацевтически приемлемой солью.
21. Способ модуляции иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли.
22. Способ по п.21, где иммунный ответ у субъекта повышается.
23. Способ по п.21, где субъект страдает раком, аутоиммунным нарушением, аллергией или инфекционным заболеванием.
24. Способ по п.22, дополнительно включающий введение субъекту антигена.
25. Способ по п.21, дополнительно включающий введение терапевтически эффективного количества лиганда TLR4.
26. Способ по п.21, дополнительно включающий введение терапевтически эффективного количества адьюванта на основе соли алюминия.
27. Способ по п.26, где соединение или его фармацевтически приемлемая соль адсорбированы на адьюванте на основе соли алюминия.

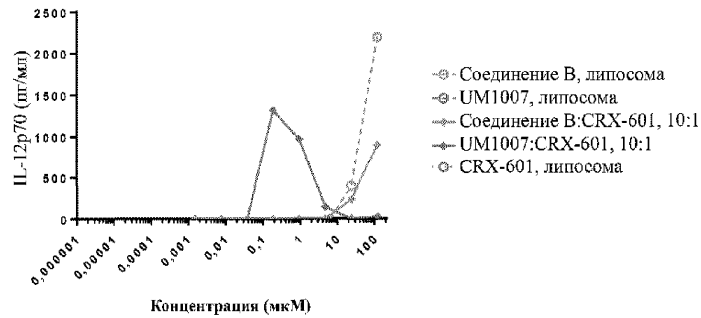
046871



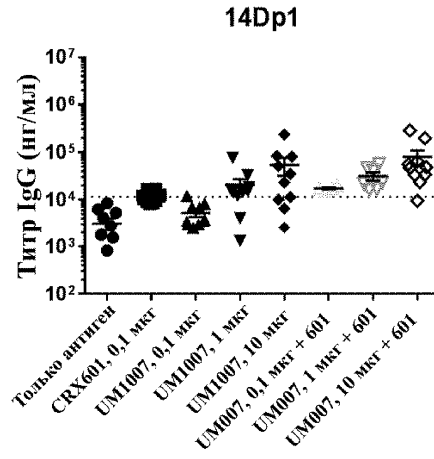
Фиг. 1



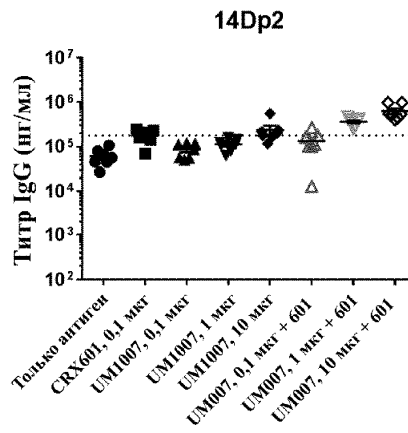
Фиг. 2А



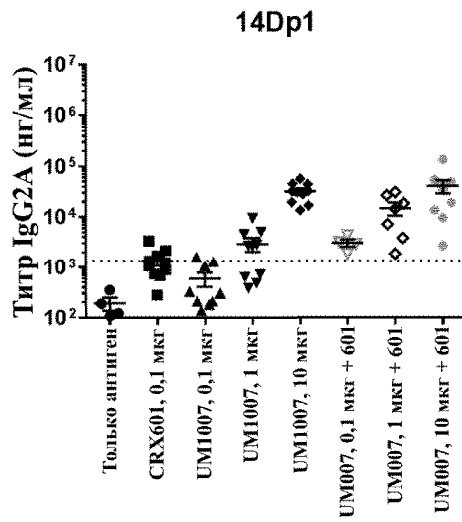
Фиг. 2В



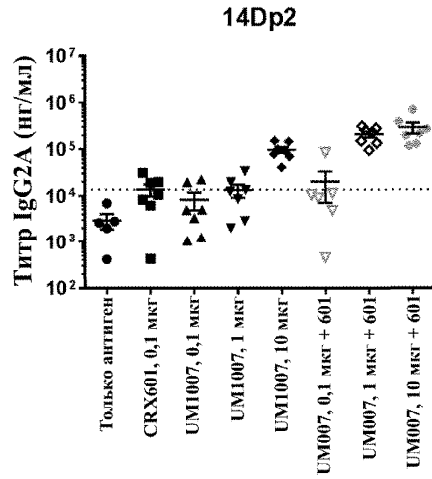
Фиг. 3А



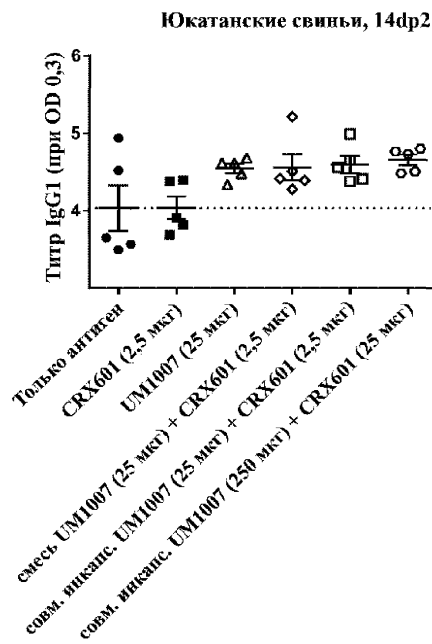
Фиг. 3В



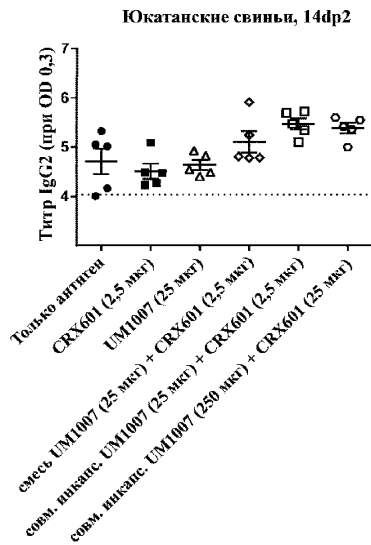
Фиг. 3С



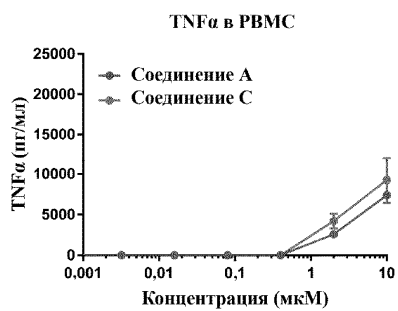
Фиг. 3D



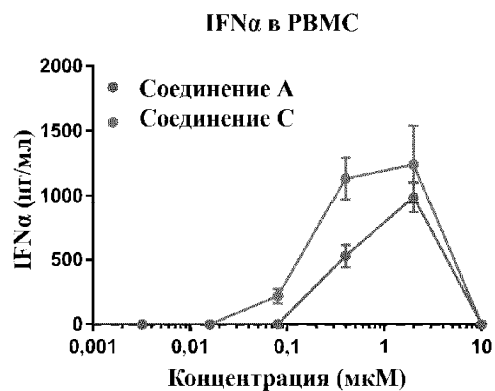
Фиг. 4А



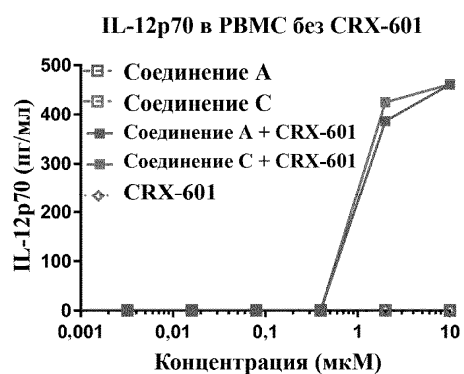
Фиг. 4В



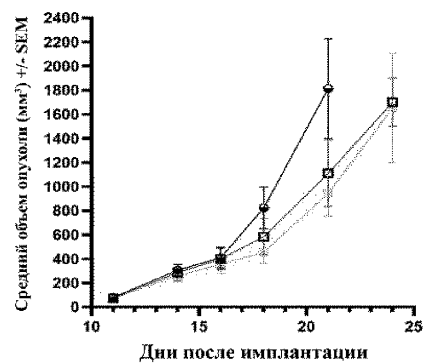
Фиг. 5А



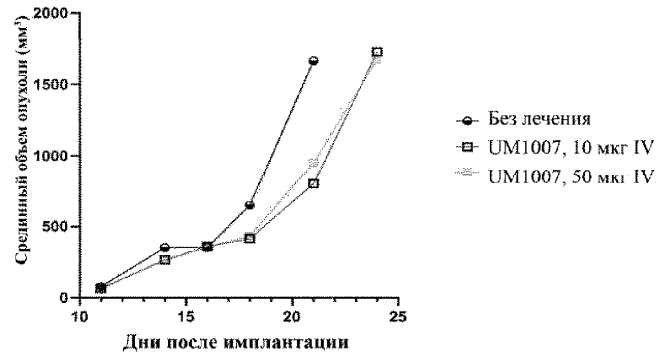
Фиг. 5В



Фиг. 5С



Фиг. 6А



Фиг. 6В

