

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11)

026401

(13)

B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации
и выдачи патента: **2017.04.28**

(21) Номер заявки: **201270356**

(22) Дата подачи: **2010.09.01**

(51) Int. Cl. *A61K 39/095* (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01)
A61K 31/4375 (2006.01)
A61K 31/66 (2006.01)
A61K 33/08 (2006.01)
A61K 33/42 (2006.01)
A61K 31/04 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

**(54) ИММУНОГЕННЫЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ МОДУЛЯТОРЫ
АКТИВНОСТИ TLR**

(31) 61/239,156

(32) 2009.09.02

(33) US

(43) 2012.09.28

(86) PCT/IB2010/002386

(87) WO 2011/027222 2011.03.10

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НОВАРТИС АГ (CH)

(72) Изобретатель:
**Сингх Манмохан (US), Скибински Давид,
Чьянетти Симона, Доро Франческо (IT),
Джаин Сиддхартха (US)**

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

(56) WO-A1-2007109813

WO-A1-2009111337

HEM S.L. ET AL.: "STRUCTURE AND
PROPERTIES OF ALUMINUM-CONTAINING
ADJUVANTS", VACCINE DESIGN.
SUBUNIT AND ADJUVANT APPROACH;
[PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY],
NEW YORK, PLENUM PRESS, US, vol. 6,
1 January 1995 (1995-01-01), pages 249-276,
XP001053762, ISBN: 978-0-306-44867-6, the
whole document

US-A-5059258

HEM STANLEY L. ET AL.: "Relati-
onship between physical and chemical
properties of aluminum-containing adjuvants
and immunopotential", EXPERT REVIEW
OF VACCINES, UK, vol. 6, no. 5, 1 October
2007 (2007-10-01), pages 685-698,
XP009143527, ISSN: 1744-8395, the whole
document

(57) Изобретение относится к иммуногенной композиции, содержащей раскрытое в нем соединение или его фармацевтически приемлемую соль, антиген и адъювант, к способу увеличения эффективности иммуногенной композиции, а также к применению указанной композиции для получения лекарственного средства для повышения иммунного ответа у пациента.

B1

026401

026401

B1

По настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной патентной заявки США 61/239156, поданной 2 сентября 2009 г., которая полностью включена в настоящее описание посредством ссылки для любых целей.

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к модуляторам Toll-подобных рецепторов (TLR) и способам применения таких соединений, например, при совместном введении с антигенами и адьювантами, содержащими алюминий.

Уровень техники изобретения

Раннее обнаружение специфических классов патогенов осуществляется врожденной иммунной системой с помощью паттернраспознающих рецепторов (PRR). Обнаруживаемые патогены включают вирусы, бактерии, простейших и грибы, и каждый из них конститутивно экспрессирует набор класс-специфических устойчивых к мутациям молекул, называемых патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (РАМР). Указанные молекулярные маркеры могут состоять из белков, углеводов, липидов, нуклеиновых кислот или их комбинаций, и могут располагаться внутри или снаружи клетки. Примеры РАМР включают бактериальные углеводы (липополисахарид или LPS, манноза), нуклеиновые кислоты (бактериальная или вирусная ДНК или РНК), пептидогликаны и липотейхоевые кислоты (грамположительных бактерий), N-формилметионин, липопротеины и гликаны грибов.

Паттернраспознающие рецепторы используют преимущества трех характерных особенностей РАМР. Во-первых, конститутивная экспрессия позволяет хозяину обнаруживать патоген независимо от стадии его жизненного цикла. Во-вторых, РАМР являются класс-специфическими, что позволяет хозяину различать патогены и с помощью этого адаптировать свой ответ. В-третьих, устойчивость к мутациям позволяет хозяину распознавать патоген независимо от его специфического штамма.

Паттернраспознающие рецепторы не просто участвуют в распознавании патогенов с помощью их РАМР. После того как происходит связывание, паттернраспознающие рецепторы проявляют тенденцию к образованию кластеров с привлечением в комплекс других внеклеточных и внутриклеточных белков, и запускают сигнальные каскады, которые, в конечном счете, оказывают влияние на транскрипцию. Кроме того, паттернраспознающие рецепторы участвуют в активации комплемента, коагуляции, фагоцитозе, воспалении и апоптотических функциях в ответ на обнаружение патогена.

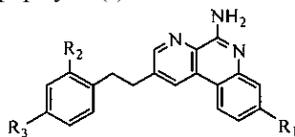
Паттернраспознающие рецепторы (PRR) можно классифицировать на эндоцитозные PRR или сигнальные PRR. Сигнальные PRR включают большие семейства мембраносвязанных toll-подобных рецепторов (TLR) и цитоплазматических NOD-подобных рецепторов, в то время как эндоцитозные PRR активируют связывание, поглощение и разрушение микроорганизмов фагоцитами без передачи внутриклеточного сигнала, обнаруживаются на всех фагоцитах и опосредуют удаление апоптотических клеток. Кроме того, эндоцитозные PRR распознают углеводы и включают маннозные рецепторы макрофагов, глюкановые рецепторы, представленные на всех фагоцитах, и фагоцитарные рецепторы, которые распознают заряженные лиганды.

Сущность изобретения

В настоящем документе предоставляются иммуногенные композиции, содержащие агонист toll-подобного рецептора 7 (TLR7), адьювант, содержащий алюминий, и антиген. Указанные агонисты TLR7 являются иммуностимуляторами, которые связываются с содержащими алюминий адьювантами, такими как, только в качестве примера, гидроксид алюминия, оксигидроксид алюминия и гидроксифосфат алюминия. В предпочтительном варианте осуществления агонист TLR7 представляет собой соединение формулы (I), которое описано ниже. Таким образом, в настоящем описании также предоставляются иммуногенные композиции, содержащие соединение формулы (I) (описанное ниже), содержащее алюминий адьювант и антиген. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) присутствует в количестве, эффективном, чтобы вызвать, индуцировать или усилить иммунный ответ на антиген у субъекта, которому вводят композицию. В таких иммуногенных композициях соединение формулы (I) присутствует в количестве, достаточном, чтобы вызвать иммуностимулирующий эффект при введении. В таких иммуногенных композициях содержащий алюминий адьювант выбран из гидроксида алюминия, оксигидроксида алюминия и гидроксифосфата алюминия. В некоторых вариантах осуществления таких иммуногенных композиций адьювант, содержащий алюминий, представляет собой оксигидроксид алюминия или гидроксид алюминия. В некоторых вариантах осуществления таких иммуногенных композиций антиген представляет собой бактериальный антиген (таким как антиген MenB, сахарид MenA, сахарид MenY, сахарид MenW135, сахарид MenC и т.д.). В других вариантах осуществления таких иммуногенных композиций антиген является вирусным антигеном (таким как антиген RSV, антиген гриппа и т.д.). В некоторых вариантах осуществления таких иммуногенных композиций антиген представляет собой полипептид. В некоторых вариантах осуществления таких иммуногенных композиций антиген представляет собой сахарид. В некоторых вариантах осуществления такие иммуногенные композиции, кроме того, содержат дополнительный адьювант. В некоторых вариантах осуществления такая иммуногенная композиция представляет собой высушенное твердое вещество. В некоторых вариантах осуществления такая иммуногенная композиция представляет собой лиофилизированное твердое вещество.

По одному аспекту представленные в настоящем описании соединения формулы (I) включают фар-

мацевтически приемлемые соли, фармацевтически приемлемые сольваты (например, гидраты), производные N-оксидов, производные пролекарств, защищенные производные, отдельные изомеры и смеси изомеров, и имеют структуру согласно формуле (I)



Формула (I)

в которой R^1 представляет собой H, C_1 - C_6 -алкил, $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ или $-OL^2R^6$;

L^1 представляет $-C(O)-$ или $-O-$;

L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен, C_2 - C_6 -алкенилен, фенилен или $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$, где C_1 - C_6 -алкилен и C_2 - C_6 -алкенилен L^2 необязательно замещены 1-4 фторгруппами;

каждый L^3 независимо выбран из C_1 - C_6 -алкилена и $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$, где C_1 - C_6 -алкилен L^3 необязательно замещен 1-4 фторгруппами;

L^4 представляет собой фенилен;

R^2 представляет собой H или C_1 - C_6 -алкил;

R^3 выбран из C_1 - C_4 -алкила, $-L^3R^5$, $-L^1R^5$, $-L^3R^7$, $-L^3L^4L^3R^7$, $-L^3LR^5$, $-L^3L^4L^3R^5$, $-OL^3R^5$, $-OL^3R^7$, $-OL^3L^4R^7$, $-OL^3L^4L^3R^7$, $-OR^8$, $-OL^3L^4R^5$, $-OL^3L^4L^3R^5$ и $-C(R^5)_2OH$;

каждый R^4 независимо выбран из H и фтора;

R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$;

R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ или $-C(O)OR^{10}$;

R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$;

R^8 представляет собой H или C_1 - C_4 -алкил;

каждый R^9 независимо выбран из H и C_1 - C_6 -алкила;

R^{10} представляет собой H или C_1 - C_4 -алкил;

каждый p независимо выбран из 1, 2, 3, 4, 5 и 6;

q представляет собой 1, 2, 3 или 4;

при условии, что, когда R^3 представляет собой C_1 - C_4 -алкил или $-OR^8$, R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ или $-OL^2R^6$, где R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ и R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил, в других вариантах осуществления R^1 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой H. В других вариантах осуществления R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$, или $-OL^2R^6$.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I), если R^1 $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ или $-OL^2R^6$, то R^3 представляет собой $-OR$ или C_1 - C_6 -алкил. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ или $-OL^2R^6$ и R^3 представляет собой $-OMe$.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой метил.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) R^3 выбран из C_1 - C_4 -алкила, $-L^3R^5$, $-L^1R^5$, $-L^3R^7$, $-L^3L^4L^3R^7$, $-L^3L^4R^5$ и $-L^3L^4L^3R^5$. В альтернативных вариантах осуществления изобретения R^3 выбран из $-OL^3R^5$, $-OL^3R^7$, $-OL^3L^4R^7$, $-OL^3L^4L^3R^7$, $-OR^8$, $-OL^3L^4R^5$, $-OL^3L^4L^3R^5$ и $-C(R^5)_2OH$. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой $-OL^3R^5$, где $-OL^3R^5$ представляет собой группировку формулы $-O(CH_2)_{1-5}P(O)(OR)_2$. В других вариантах осуществления R^3 представляет собой $-OL^3R^5$, где $-OL^3R^5$ представляет собой группировку формулы $-O(CH_2)_{1-5}CF_2P(O)(OR)_2$.

В некоторых вариантах осуществления R^3 выбран из C_1 - C_4 -алкила, $-L^3R^5$, $-L^1R^5$, $-L^3R^7$, $-L^3L^4L^3R^7$, $-L^3L^4R^5$, $-L^3L^4L^3R^5$, $-OL^3R^5$, $-OL^3R^7$, $-OL^3L^4R^7$, $-OL^3L^4L^3R^7$, $-OR^8$, $-OL^3L^4R^5$ и $-OL^3L^4L^3R^5$.

В тех случаях, когда представлен более чем один R^9 , как в соединениях, содержащих группировку $-P(O)(OR^9)_2$, группы R^9 являются одинаковыми или различными. В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^9 представляет собой H в каждом случае. В других вариантах осуществления по меньшей мере один R^9 представляет собой H и другой R^9 представляет собой C_1 - C_6 -алкил. В других вариантах осуществления по меньшей мере один R^9 представляет собой H и другой R^9 представляет собой метил. В других вариантах осуществления по меньшей мере один R^9 представляет собой H и другой R^9 представляет собой этил. В других вариантах осуществления таких соединений формулы (I) каждый R^9 представляет собой C_1 - C_6 -алкил и в некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой метил или этил, или их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) L^2 и/или L^3 представляет собой группу формулы $-(CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$, и в некоторых вариантах осуществления указанная группа представляет собой группу формулы $-(CH_2CH_2O)_{1-3}(CH_2)_{1-3}-$.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен, тогда как в других вариантах осуществления L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен, замещенный 1-4 фторгруппами. В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) L^2 имеет формулу $(CH_2)_{0,5}CF_2$, где фторзамещенный углерод не присоединен непосредственно к фенильному кольцу формулы (I). В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) L^2 представляет собой C_2 - C_6 -алкенилен, тогда как в других вариантах осуществления L^2 представляет собой C_2 - C_6 -алкенилен, замещенный 1-4 фторгруппами.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) L^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен, тогда как в других вариантах осуществления L^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен, замещенный 1-4 фторгруппами. В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) L^3 имеет формулу $(CH_2)_{0,5}CF_2$, где фторзамещенный углерод не присоединен непосредственно к фенильному кольцу формулы (I).

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) L^2 представляет собой арилен или гетероарилен. В некоторых из указанных вариантов осуществления L^2 представляет собой фенилен, такой как 1,3-замещенный фенилен или 1,4-замещенный фенилен.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$; R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ и L^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$; R^7 представляет собой $CF_2P(O)(OR^9)_2$; L^3 представляет собой $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$; R^4 представляет собой H; q представляет собой 1 или 2 и p представляет собой 2.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой $-L^2R^6$; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$; R^6 представляет собой $-C(O)OR^{10}$; R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$; L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен и L^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен.

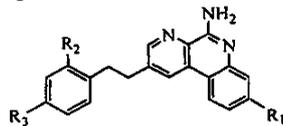
В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой $-L^2R^6$; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$; R^6 представляет собой $-C(O)OR^{10}$; R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$; L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен; L^3 представляет собой $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$; R^4 представляет собой H; q представляет собой 1 или 2 и p представляет собой 2.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^5$ или $-L^1R^6$; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OR^8$; R^8 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$; R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$; L^1 представляет собой $-C(O)-$ и L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен или C_2 - C_6 -алкенилен, каждый из которых необязательно замещен 1-4 фторгруппами.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3L^4R^5$, $-OL^3L^4L^3R^5$ или $-OL^3L^4L^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$; R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$; каждый L^3 независимо представляет собой C_1 - C_6 -алкилен и L^4 представляет собой фенилен.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-C(R^5)_2OH$ или $-L^1R^5$; R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$ и L^1 представляет собой $-C(O)-$ или $-O-$.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) и их фармацевтически приемлемых солей, фармацевтически приемлемых сольватов (например, гидратов), производных N-оксидов, производных пролекарств, защищенных производных, отдельных изомеров и смеси изомеров,



Формула (I)

R^1 представляет собой C_1 - C_4 -алкил, $-C(R^5)_2OH$, L^1R^5 , $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ или $-OL^2R^6$;
 L^1 представляет собой $-C(O)-$ или $-O-$;
 L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен, C_2 - C_6 -алкенилен, фенилен или $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$, где C_1 - C_6 -алкилен и C_2 - C_6 -алкенилен L^2 необязательно замещены 1-4 фторгруппами;
каждый L^3 независимо выбран из C_1 - C_6 -алкилена и $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$, где C_1 - C_6 -алкилен L^3 необязательно замещен 1-4 фторгруппами;
 L^4 представляет собой фенилен;
 R^2 представляет собой H или C_1 - C_4 -алкил;
 R^3 выбран из $-L^3R^5$, $-L^1R^5$, $-L^3R^7$, $-L^3L^4L^3R^7$, $-L^3L^4R^5$, $-L^3L^4L^3R^5$, $-OL^3R^5$, $-OL^3R^7$, $-OL^3L^4R^7$, $-OL^3L^4L^3R^7$, $-OR^8$, $-OL^3L^4R^5$, $-OL^3L^4L^3R^5$ и $-C(R^5)_2OH$;

каждый R^4 независимо выбран из H и фтора;
 R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$,
 R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$ или $-C(O)OH$;
 R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$;
 R^8 представляет собой H или C_1 - C_4 -алкил;
каждый p независимо выбран из 1, 2, 3, 4, 5 и 6;
q представляет собой 1, 2, 3 или 4,
при условии, что если R^3 представляет собой $-OR^8$, R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ или $-OL^2R^6$, где R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$ и R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$; R^7 представляет собой $CF_2P(O)(OH)_2$, и L^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I), R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$; R^7 представляет собой $CF_2P(O)(OH)_2$; L^3 представляет собой $-((CRR^4)_pO)_q(CH_2)_p$; R^4 представляет собой H; q представляет собой 1 или 2 и p представляет собой 2.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой $-L^2R^6$; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$; R^6 представляет собой $-C(O)OH$; R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$; L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен и L^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен.

В некоторые вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой $-L^2R^6$; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$; R^6 представляет собой $-C(O)OH$; R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$; L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен; L^3 представляет собой $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$; R^4 представляет собой H; q представляет собой 1 или 2 и p представляет собой 2.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^2R^5$ или $-LR^6$; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OR^8$; R^8 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$; R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$; L^1 представляет собой $-C(O)-$ и L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен или C_2 - C_6 -алкенилен, каждый из которых необязательно замещен 1-4 фторгруппами.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3L^4R^5$, $-OL^3L^4L^3R^5$ или $-OL^3L^4L^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$; R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$; каждый L^3 независимо представляет собой C_1 - C_6 -алкилен и L^4 представляет собой фенилен.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-C(R^5)_2OH$ или $-L^1R^5$; R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$ и L^1 представляет собой $-C(O)-$ или $-O-$.

В некоторых вариантах осуществления упомянутых выше соединений формулы (I) R^8 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления упомянутых выше соединений формулы (I) R^1 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления упомянутых выше соединений формулы (I) R^2 представляет собой метил.

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) выбирают из

4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7] нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторбутилфосфоновой кислоты; 3-(5-амино-2-(4-(4,4-дифтор-4-фосфообутокси)-2-метилфенэтил)бензо [f] [1, 7] нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты; 3-(5-амино-2-(4-(2-(3,3-дифтор-3-фосфопророкси)этокси)-2-метилфенэтил)бензо [f] [1, 7] нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты; 3-(5-амино-2-(2-метил-4-(2-(2-(2-фосфоэтокси)этокси)этокси)фенэтил)бензо [f] [1, 7] нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты; 4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7] нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенил дигидрофосфата; 4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7] нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфеноксиметилфосфоновой кислоты; 5-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7] нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторпентилфосфоновой кислоты; 4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7] нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторбутилфосфоновой кислоты; 3-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7] нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этокси)-1,1-дифторпропилфосфоновой кислоты; 2-(4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7] нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метил)фенил)-1,1-дифторэтилфосфоновой кислоты; 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо [f] [1, 7] нафтиридин-8-

ил) -1, 1-дифтор-2-оксоэтилфосфоновой кислоты; (E)-2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил) бензо [f] [1, 7] нафтиридин-8-ил) винилфосфоновой кислоты; 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил) бензо [f] [1, 7] нафтиридин-8-ил) этилфосфоновой кислоты; (E)-2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил) бензо [f] [1, 7] нафтиридин-8-ил) -1-фторвинилфосфоновой кислоты; 3-((4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7] нафтиридин-2-ил) этил) -3-метилфеноксид) метил) фенилфосфоновой кислоты; 5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил) бензо [f] [1, 7] нафтиридин-8-карбонилфосфоновой кислоты; 3-(5-амино-2-(2-метил-4-(3-фосфонопропокси) фенэтил) бензо [f] [1, 7] нафтиридин-8-ил) пропановой кислоты; (4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7] нафтиридин-2-ил) этил) -3-метилфенил) (гидрокси) метилендифосфоновой кислоты; 3-(5-амино-2-(4-(2-(2-(3, 3-дифтор-3-фосфонопропокси) этокси) этокси) -2-метилфенэтил) бензо [f] [1, 7] нафтиридин-8-ил) пропановой кислоты; (5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил) бензо [f] [1, 7] нафтиридин-8-ил) (гидрокси) метилендифосфоновой кислоты; 3-(5-амино-2-(2-метил-4-(2-(2-фосфоноэтокси) этокси) фенэтил) -бензо [f] [1, 7] нафтиридин-8-ил) пропановой кислоты; 2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7] нафтиридин-2-ил) этил) -3-метилфеноксид) этилфосфоновой кислоты; 6-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7] нафтиридин-2-ил) этил) -3-метилфеноксид) гексилфосфоновой кислоты; 6-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7] нафтиридин-2-ил) этил) -3-метилфеноксид) -1, 1-дифторгексилфосфоновой кислоты; 4-((4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7] нафтиридин-2-ил) этил) -3-метилфеноксид) метил) бензилфосфоновой кислоты, и 2-(2-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7] нафтиридин-2-ил) этил) -3-метилфеноксид) этокси) этокси) этилфосфоновой кислоты.

В других вариантах осуществления соединение формулы (I) выбрано из

3- [5-амино-2-(2-(4-[2-(3, 3-дифтор-3-фосфонопропокси) этокси] -2-метилфенил) этил) бензо [f] [1, 7-нафтиридин-8-ил) пропановой кислоты; {5-[4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7-нафтиридин-2-ил) этил] -3-метилфеноксид) пентил} фосфоновой кислоты, и {4-[4-(2-(5-амино-8-метилбензо [f] [1, 7-нафтиридин-2-ил) этил] -3-метилфеноксид) бутил} фосфоновой кислоты.

Каждое из указанных соединений по отдельности включает предпочтительный вариант осуществления соединений, композиций и способов, описанных в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления соединения изобретения не являются бисфосфонатами.

Другой аспект настоящего изобретения представляет собой способ увеличения эффективности иммуногенной композиции, где иммуногенная композиция содержит адъювант, содержащий алюминий, и способ включает добавление эффективного количества соединения формулы (I) к иммуногенной композиции. В указанных способах содержащий алюминий адъювант выбран из гидроксида алюминия, оксидгидроксида алюминия и гидроксифосфата алюминия. В некоторых вариантах осуществления указанных способов адъювант, содержащий алюминий, представляет собой оксигидроксид алюминия или гидроксид алюминия.

Другой аспект настоящего изобретения относится к способам иницирования или индуцирования иммунного ответа у субъекта-позвоночного, включающим введение субъекту-позвоночному эффективного количества иммуногенной композиции изобретения. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предоставляет способы иницирования или индуцирования цитотоксического

T-лимфоцитарного (CTL) ответа у субъекта-позвоночного, включающие введение субъекту-позвоночному эффективного количества иммуногенной композиции изобретения. В других вариантах осуществления настоящее изобретение предоставляет способы инициирования или индуцирования анти-тело-опосредованного иммунного ответа у субъекта-позвоночного, включающие введение субъекту-позвоночному эффективного количества иммуногенной композиции изобретения.

Другой аспект настоящего изобретения представляет собой способы создания иммуногенных композиций, приведенных в описании.

Другой аспект настоящего изобретения представляет собой композиции вакцин, которые содержат иммуногенную композицию изобретения.

В описании также предусматриваются соединения формулы (I), которые связываются с адьювантами, содержащими алюминий, их фармацевтически приемлемые соли, фармацевтически приемлемые сольваты (например, гидраты), производные N-оксидов, производные пролекарств, защищенные производные, отдельные изомеры и смесь изомеров. В некоторых аспектах такие соединения формулы (I) являются агонистами TLR7 и иммуностимуляторами.

Другой аспект настоящего изобретения представляет собой способы применения соединений формулы (I) и фармацевтических композиций, содержащих такие соединения.

Другой аспект настоящего изобретения представляет собой фармацевтические композиции, которые содержат терапевтически эффективное количество соединения формулы (I) и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления таких фармацевтических композиций фармацевтическая композиция разработана для внутривенного введения, введения в стекловидное тело, внутримышечного введения, перорального введения, ректального введения, ингаляции, назального введения, топического введения, офтальмического введения или ушного введения. В других вариантах осуществления фармацевтические композиции имеют форму таблетки, пилюли, капсулы, жидкости, средства для ингаляции, раствора назального спрея, суппозитория, раствора, эмульсии, мази, глазных капель или ушных капель. В других вариантах осуществления такие фармацевтические композиции, кроме того, содержат один или более дополнительных терапевтических агентов.

Другой аспект настоящего изобретения представляет собой фармацевтические композиции, которые содержат терапевтически эффективное количество соединения формулы (I), адьювант, содержащий алюминий, антиген и фармацевтически приемлемый носитель. В таких фармацевтических композициях соединение формулы (I) представлено в количестве, достаточном чтобы вызвать иммуностимулирующий эффект при его введении. В некоторых вариантах осуществления таких фармацевтических композиций фармацевтическая композиция разработана для внутривенного введения, введения в стекловидное тело или внутримышечного введения. В таких композициях адьювант, содержащий алюминий, выбран из гидроксида алюминия, оксигидроксида алюминия и гидроксифосфата алюминия. В некоторых вариантах осуществления таких композиций адьювант, содержащий алюминий, представляет собой оксигидроксид алюминия или гидроксид алюминия.

Другой аспект настоящего изобретения представляет собой фармацевтическую композицию, которая содержит терапевтически эффективное количество соединения формулы (I), связанное с адьювантом, содержащим алюминий, и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления такая композиция представляет собой твердое сухое вещество. В некоторых вариантах осуществления такая композиция представляет собой лиофилизированное твердое вещество. В таких композициях адьювант, содержащий алюминий, выбран из гидроксида алюминия, оксигидроксида алюминия и гидроксифосфата алюминия. В некоторых вариантах осуществления таких композиций адьювант, содержащий алюминий, представляет собой оксигидроксид алюминия или гидроксид алюминия.

Другой аспект настоящего изобретения представляет собой лекарственные средства для лечения пациента с заболеванием или нарушением, ассоциированным с активностью рецептора TLR7, и такие лекарственные средства содержат терапевтически эффективное количество соединения формулы (I), где соединение формулы (I) представляет собой агонист рецептора TLR7.

Другой аспект настоящего изобретения представляет собой применение соединения формулы (I) в создании лекарственного средства для лечения заболевания или нарушения у пациента, в случае если вовлекается модуляция рецептора TLR7. Другой аспект настоящего изобретения представляет собой применение соединения формулы (I) в получении лекарственного средства для иммунизации пациента, например, если лекарственное средство представляет собой вакцину.

Другой аспект настоящего изобретения включает способы активации рецептора TLR7, где способ включает введение в систему или субъекту, который в этом нуждается, терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемых солей или фармацевтических композиций, активируя, таким образом, рецептор TLR. В таких способах соединение формулы (I) представляет собой агонист рецептора TLR7. В некоторых вариантах осуществления таких способов, способы включают введение соединения в клеточную или тканевую систему или субъекту-человеку или субъекту-животному.

Другой аспект настоящего изобретения включает способы лечения заболевания или нарушения, в которое вовлечена модуляция рецептора TLR7, где способ включает введение в систему или субъекту,

который нуждается в таком лечении, эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемых солей или фармацевтических композиций, оказывая посредством этого лечение заболевания или нарушения. В таких способах соединение формулы (I) представляет собой агонист рецептора TLR7. В некоторых вариантах осуществления таких способов, способы включают введение соединения в клеточную или тканевую систему или субъекту-человеку или субъекту-животному.

В некоторых вариантах осуществления таких способов заболевание или состояние представляет собой инфекционное заболевание, воспалительное заболевание, респираторное заболевание, дерматологическое заболевание или аутоиммунное заболевание. В некоторых вариантах осуществления таких способов заболевание или состояние представляет собой астму, хроническое обструктивное заболевание легких (COPD), респираторный дистресс-синдром взрослых (ARDS), язвенный колит, болезнь Крона, бронхит, дерматит, актинический кератоз, базальноклеточную карциному, аллергический ринит, псориаз, склеродермию, крапивницу, ревматоидный артрит, множественный склероз, рак, рак молочной железы, HIV или волчанку.

Другой аспект настоящего изобретения включает способы лечения клеточно-пролиферативного заболевания, включающие введение в систему или субъекту, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемых солей или фармацевтических композиций; где клеточно-пролиферативное заболевание представляет собой лимфому, остеосаркому, меланому, или опухоль молочной железы, почки, предстательной железы, колоректальную опухоль, опухоль щитовидной железы, яичников, поджелудочной железы, нейронную опухоль, опухоль легких, матки или опухоль желудочно-кишечного тракта.

Другой аспект настоящего изобретения представляет собой фармацевтическую композицию, которая содержит соединение формулы (I), антиген и фармацевтически приемлемый носитель, где указанные фармацевтические композиции представляют собой иммуногенные композиции, и соединение представляет собой иммуностимулятор и представлено в количестве, эффективном для усиления иммунного ответа на антиген у субъекта, получающего композицию. В некоторых вариантах осуществления такие фармацевтические композиции дополнительно содержат один или более иммунорегуляторных агентов. В некоторых вариантах осуществления один или более иммунорегуляторных агентов включают один или более адъювантов. В некоторых вариантах осуществления такие адъюванты выбирают из адъювантов, которые представляют собой минералсодержащую композицию, масляную эмульсию, препарат сапонины, виросому, вирусоподобную частицу, бактериальное производное, микробное производное, иммуномодулятор человека, биоадгезив, мукоадгезив, микрочастицу, липосому, препарат полиоксиэтиленового эфира, полифосфазен, мурамилпептиды, или соединение имидазолхинолона. В некоторых вариантах осуществления адъювант представляет собой масляную эмульсию. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции являются полезными в качестве вакцин, и соединение представлено в количестве, достаточном, чтобы произвести иммуностимулирующий эффект после введения.

Другой аспект настоящего изобретения представляет собой соединение для применения в способе терапевтического лечения, где способ терапевтического лечения заболевания ассоциирован с активностью рецептора TLR7, где заболевание выбрано из инфекционного заболевания, воспалительного заболевания, респираторного заболевания, дерматологического заболевания или аутоиммунного заболевания, и где соединение представляет собой соединение формулы (I) по п. 1. В некоторых вариантах осуществления таких способов заболевание или состояние представляет собой астму, хроническое обструктивное заболевание легких (COPD), респираторный дистресс-синдром взрослых (ARDS), язвенный колит, болезнь Крона, бронхит, дерматит, актинический кератоз, базальноклеточную карциному, аллергический ринит, псориаз, склеродермию, крапивницу, ревматоидный артрит, множественный склероз, рак, рак молочной железы, HIV или волчанку.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 представлена концентрация соединения 1 в супернатанте при добавлении и без добавления гидроксида алюминия. Значения концентрации получали с помощью метода ВЭЖХ.

На фиг. 2 показан эффект связывания соединения 1 с адъювантом гидроксидом алюминия на связывание антигенов *Neisseria meningitidis* (MenB) с адъювантом гидроксидом алюминия.

На фиг. 3 показана сывороточная концентрация соединения 16 в течение 24 ч после инъекции. Ромбами отмечены результаты, соответствующие свободному соединению; квадратами отмечены результаты, соответствующие адсорбированному соединению.

На фиг. 4 и на 5 показано увеличение уровней указанных цитокинов через 24 ч после введения соединения 6 или соединения 20.

На фиг. 6 показаны бактерицидные титры против штамма NZ98 в сыворотке, полученной после иммунизации 5CVMB в комбинации (a) только с адъювантом гидроксидом алюминия, (b) с адъювантом гидроксидом алюминия +25 мкг соединения 6, (c) с адъювантом гидроксидом алюминия +100 мкг соединения 6, (d) только с соединением 6 или (e) с адъювантом гидроксидом алюминия и с везикулами наружной мембраны MenB.

На фиг. 7 представлены бактерицидные титры при использовании 5CVMB, включенного в состав (a) без адъюванта, (b) с адъювантом гидроксидом алюминия + OMV, (c) с 100 мкг соединения 20, (d) с 25

мкг соединения 20 + адъювант гидроксид алюминия или (е) с 100 мкг соединения 20 + адъювант гидроксид алюминия.

На фиг. 8 представлены бактерицидные титры при использовании 5CVMB, включенного в состав (а) без адъюванта, (b) с адъювантом гидроксидом алюминия и везикулами, (с) с 100 мкг соединения 19, (d) с 25 мкг соединения 19 (е) с 100 мкг соединения 19 + адъювант гидроксид алюминия или (f) с 25 мкг соединения 19 + адъювант гидроксид алюминия.

Подробное описание изобретения

Определения.

Термины "алкенил" или "алкен", используемые в описании, означают частично ненасыщенную разветвленную или неразветвленную углеводную цепочку, содержащую по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь. Атомы, ориентированные вокруг двойной связи, находятся либо в цис- (Z) либо в транс-(E) конформации. В некоторых вариантах осуществления указанная алкенильная или алкеновая группа необязательно замещена. Используемые в описании термины "C₂-C₃-алкенил", "C₂-C₄-алкенил", "C₂-C₅-алкенил", "C₂-C₆-алкенил", "C₂-C₇-алкенил" и "C₂-C₈-алкенил" означают алкенильную группу, содержащую по меньшей мере 2, и по большей мере 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода соответственно. Если не указано другое, алкенильная группа, как правило, представляет собой C₁-C₆-алкенил. Неограничивающие примеры алкенильных групп, используемых в описании, включают этенил, пропенил, бутенил, пентенил, гексенил, гептенил, октенил, ноненил, деценил и т.п.

Термин "алкенилен", используемый в описании, означает частично ненасыщенную разветвленную или неразветвленную цепочку двухвалентного углеводного радикала, полученного из алкенильной группы. В некоторых вариантах осуществления такая алкениленовая группа необязательно замещена. Используемые в описании термины "C₂-C₃-алкенилен", "C₂-C₄-алкенилен", "C₂-C₅-алкенилен", "C₂-C₆-алкенилен", "C₂-C₇-алкенилен", и "C₂-C₈-алкенилен" означают алкениленовую группу, содержащую по меньшей мере 2 и по большей мере 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода соответственно. Если не указано другое, алкениленовая группа, как правило, представляет собой C₂-C₆-алкенилен. Неограничивающие примеры алкениленовых групп, используемых в описании, включают этенилен, пропенилен, бутенилен, пентенилен, гексенилен, гептенилен, октенилен, ноненилен, деценилен и т.п.

Термин "алкил", используемый в описании, означает насыщенную разветвленную или неразветвленную цепочку углевода. В некоторых вариантах осуществления указанные алкильные группы необязательно замещены. Используемые в описании термины "C₁-C₃-алкил", "C₁-C₄-алкил", "C₁-C₅-алкил", "C₁-C₆-алкил", "C₁-C₇-алкил" и "C₁-C₈-алкил" означают алкильную группу, содержащую по меньшей мере 1 и по большей мере 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода соответственно. Если не указано другое, алкильная группа, как правило, представляет собой C₁-C₆-алкил. Неограничивающие примеры алкильных групп, используемых в описании, включают метил, этил, n-пропил, изопропил, n-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, n-пентил, изопентил, гексил, гептил, октил, нонил, децил и т.п.

Термин "алкилен", используемый в описании, означает насыщенную разветвленную или неразветвленную цепочку двухвалентного углеводного радикала, полученного из алкильной группы. В некоторых вариантах осуществления такие алкиленовые группы необязательно замещены. Используемый в описании термины "C₁-C₃-алкилен", "C₁-C₄-алкилен", "C₁-C₅-алкилен", "C₁-C₆-алкилен", "C₁-C₇-алкилен" и "C₁-C₈-алкилен" означают алкиленовые группы, содержащие по меньшей мере 1 и по большей мере 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода соответственно. Если не указано другое, алкиленовая группа, как правило, представляет собой C₁-C₆-алкилен. Неограничивающие примеры алкиленовых групп, используемых в описании, включают метилен, этилен, n-пропилен, изопропилен, n-бутилен, изобутилен, втор-бутилен, трет-бутилен, n-пентилен, изопентилен, гексилен и т.п.

Термин "алкокси", используемый в описании, означает группу -OR_a, где R_a представляет собой алкильную группу, как указано в описании. Алкоксигруппа может быть необязательно замещенной. Используемые в описании термины "C₁-C₃-алкокси", "C₁-C₄-алкокси", "C₁-C₅-алкокси", "C₁-C₆-алкокси", "C₁-C₇-алкокси" и "C₁-C₈-алкокси" означают алкоксигруппу, в которой алкильный фрагмент содержит по меньшей мере 1 и по большей мере 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода. Неограничивающие примеры алкоксигрупп, используемые в описании, включают метокси, этокси, n-пропокси, изопропокси, n-бутилокси, t-бутилокси, пентилокси, гексилокси, гептилокси, октилокси, нонилокси, децилокси и т.п.

Термин "арил", используемый в описании, означает моноциклические, бициклические и трициклические кольцевые системы, содержащие всего от пяти до четырнадцати атомов в гетероцикле, где по меньшей мере одно кольцо в системе представляет собой ароматическое и где каждое кольцо в системе содержит от 3 до 7 атомов в гетероцикле. В некоторых вариантах осуществления такие арильные группы необязательно замещены. Неограничивающие примеры арильной группы, используемой в описании, включают фенил, нафтил, фторенил, инденил, азуленил, антраценил и т.п. В качестве необязательной альтернативы, термин "арил" может означать моноциклические или конденсированные бициклические кольцевые системы, содержащие всего шесть, десять или четырнадцать атомов углерода в гетероцикле, необязательно замещенных одним или более заместителями; неограничивающие примеры таких арильных групп включают фенил и нафтил.

Термин "арилен", используемый в описании, означает двухвалентный радикал, полученный из

арильной группы. В некоторых вариантах осуществления такие ариленовые группы необязательно замещены.

Термин "галоген", используемый в описании, означает фтор (F), хлор (Cl), бром (Br) или йод (I).

Термин "гало", используемый в описании, означает радикалы галогенов: фторо (-F), хлоро (-Cl), бром (-Br) и йодо (-I).

Термины "галоалкил" или "галозамещенный алкил", используемые в описании, означают алкильную группу, как указано в описании, замещенную одной или более галогеновыми группами, где галогеновые группы являются одинаковыми или различными. Галоалкильная группа необязательно может быть замещенной. Неограничивающие примеры таких разветвленных или неразветвленных цепочек галоалкильных групп, используемых в описании, включают метил, этил, пропил, изопропил, изобутил и n-бутил замещенный одной или более галогеновыми группами, где галогеновые группы являются одинаковыми или различными, включая, но без ограничения, трифторметил, пентафторэтил и т.п.

Термины "галоалкенил" или "галозамещенный алкенил", используемые в описании, означают алкенильную группу, как определено в описании, замещенную одной или более галогеновыми группами, где галогеновые группы являются одинаковыми или различными. Галоалкенильная группа необязательно может быть замещенной. Неограничивающие примеры таких разветвленных или неразветвленных цепочек галоалкенильных групп, используемых в описании, включают этенил, пропенил, бутенил, пентенил, гексенил, гептенил, октенил, ноненил, деценил и т.п., замещенные одной или более галогеновыми группами, где галогеновые группы являются одинаковыми или различными.

Термин "гетероарил", используемый в описании, означает моноциклические, бициклические и трициклические кольцевые системы, содержащие всего от пяти до четырнадцати атомов в гетероцикле, где по меньшей мере одно кольцо в системе представляет собой ароматическое, по меньшей мере одно кольцо в системе содержит один или более гетероатомов, выбранных из атомов азота, кислорода и серы, и где каждое кольцо в системе содержит 3-7 атомов в гетероцикле. В некоторых вариантах осуществления такие гетероарильные группы необязательно замещены. Неограничивающие примеры гетероарильных групп, используемых в описании, включают бензофуранил, бензофуразанил, бензоксазолил, бензопиранил, бензтиазолил, бензотиенил, бензазепинил, бензимидазолил, бензотиопиранил, бензо[1,3]диоксол, бензо[b]фурил, бензо[b]тиенил, циннолинил, фуразанил, фурил, фуропиридинил, имидазолил, индолил, индолизинил, индолин-2-он, индазолил, изоиндолил, изохинолинил, изоксазолил, изотиазолил, 1,8-нафтиридинил, оксазолил, оксаиндолил, оксадиазолил, пиразолил, пирролил, фталазинил, птеридинил, пуринил, пиридил, пиридазинил, пиразинил, пиримидинил, хиноксалинил, хинолинил, хиназолинил, 4Н-хинолизинил, тиазолил, тиadiaзолил, тиенил, триазинил, триазолил и тетразолил. В качестве необязательной альтернативы, термин "гетероарил" может обозначать моноциклические или конденсированные бициклические кольцевые системы, содержащие всего 5, 6, 9 или 10 атомов в гетероцикле, где по меньшей мере один атом в гетероцикле представляет собой гетероатом, выбранный из азота, кислорода и серы, необязательно замещенным одним или более заместителями, например бензофуранилом, бензофуразанилом, бензоксазолилом, бензопиранилом, бензтиазолилом, бензотиенилом, бензазепинилом, бензимидазолилом, бензотиопиранилом, бензо[b]фурилом, бензо[b]тиенилом, циннолинилом, фуразанилом, фурилом, имидазолилом, индолилом, индолизинилом, индазолилом, изоиндолилом, изохинолинил, изоксазолилом, изотиазолилом, 1,8-нафтиридинилом, оксазолилом, оксаиндолилом, оксадиазолилом, пиразолилом, пирролилом, фталазинилом, птеридинилом, пуринилом, пиридилом, пиридазинилом, пиразинилом, пиримидинилом, хиноксалинилом, хинолинилом, хиназолинилом, тиазолилом, тиadiaзолилом, тиенилом, триазинилом, триазолилом и тетразолилом.

Термин "гетероарилен", используемый в описании, означает двухвалентный радикал, полученный из гетероарильной группы. В некоторых вариантах осуществления такие гетероариленовые группы необязательно замещены.

Термин "гетероатом", используемый в описании, означает одно или более из кислорода, серы, азота, фосфора или кремния.

Термин "гидроксил", используемый в описании, означает группу -ОН.

Термин "гидроксиалкил", используемый в описании, означает алкильную группу, как определено в описании, замещенную одной или более гидроксильными группами. Неограничивающие примеры разветвленных или неразветвленных цепочек C₁-C₆-гидроксиалкильных групп, используемых в описании, включают метил, этил, пропил, изопропил, изобутил и n-бутильные группы, замещенные одной или более гидроксильными группами.

Термин "необязательно замещенный", используемый в описании, означает, что упомянутая группа может быть замещена или не замещена одной или более дополнительной группой (группами) по отдельности и независимо выбранной из алкила, алкенила, алкинила, циклоалкила, арила, гетероарила, гетероциклоалкила, гидроксила, алкокси, меркаптила, циано, галогено, карбонила, тиокарбонила, изоцианато, тиоцианато, изотиоцианато, нитро, пергалогеноалкил, перфторалкил и amino, включая моно- и ди-замещенные аминогруппы, и их защищенные производные. Неограничивающие примеры необязательных заместителей включают галогены, -CN, =O, =N-OH, =N-OR, =N-R, -OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)NHR, -C(O)NR₂, -OC(O)NHR, -OC(O)NR₂, -SR-, -S(O)R, -S(O)₂R, -NHR, -N(R)₂,

-NHC(O)R, -NRC(O)R, -NHC(O)OR, -NRC(O)OR, S(O)₂NHR, -S(O)₂N(R)₂, -NHS(O)₂NR₂, -NRS(O)₂NR₂, -NHS(O)₂R, -NRS(O)₂R, C₁-C₈-алкил, C₁-C₈-алкокси, арил, гетероарил, циклоалкил, гетероциклоалкил, галогенозамещенный C₁-C₈-алкил, и галогенозамещенный C₁-C₈-алкокси, где каждый R независимо выбран из H, галогена, C₁-C₈-алкила, C₁-C₈-алкокси, арила, гетероарила, циклоалкила, гетероциклоалкила, галогенозамещенного C₁-C₈-алкила и галогенозамещенный C₁-C₈-алкокси. Положение и число таких замещающих групп находится в соответствии с хорошо изученными ограничениями по валентности каждой группы, например =O представляет собой подходящий заместитель для алкильной группы, но не для арильной группы.

Термин "сольват", используемый в описании, означает комплекс различной стехиометрии, образованный растворенным веществом (как пример, соединение формулы (I), или его соль, как описано здесь), и растворителем. Неограничивающие примеры растворителя включают воду, ацетон, метанол, этанол и уксусную кислоту.

Термин "приемлемый" в отношении препарата, композиции или ингредиента, используемого в описании, означает не оказывающий устойчивого неблагоприятного эффекта на общее состояние здоровья субъекта, получающего лечение.

Термин "вводить" или "введение" исследуемого соединения означает предоставление соединения формулы (I), его фармацевтически приемлемой соли, фармацевтически приемлемого сольвата, или лекарства субъекту, нуждающемуся в лечении.

Термин "антиген" означает молекулу, содержащую один или более эпитопов (например, линейный, конформационный или оба), которые вызывают иммунологический ответ. Термин может использоваться взаимозаменяемо с термином "иммуноген". Под термином "вызывать" подразумевают индуцировать, стимулировать, усиливать или модулировать иммунный ответ или иммунную реакцию. В отдельных случаях иммунный ответ или иммунная реакция представляет собой гуморальный и/или клеточный ответ. Антиген может индуцировать, стимулировать, усиливать или модулировать иммунный ответ или иммунную реакцию в клетках *in vitro* и/или *in vivo* у субъекта и/или *ex vivo* в клетках или тканях субъекта. Указанный иммунный ответ или реакция могут включать, но без ограничения, стимулирование образования антител у субъекта, или создание специфической популяции лимфоцитов, способных вступать в реакцию с антигеном. Антигены обычно представляют собой макромолекулы (например, белки, полисахариды, полинуклеотиды), которые являются чужеродными для хозяина.

Термин "антиген", используемый в описании, также обозначает субъединицы-антигены (т.е. антигены, которые являются обособленными и отделенными от целого организма, с которым антиген ассоциирован в природе), а также убитые, ослабленные или инактивированные бактерии, вирусы, паразиты, или другие патогены или опухолевые клетки, включая внеклеточные домены рецепторов клеточной поверхности и внутриклеточные части, содержащие Т-клеточные эпитопы. Антитела, такие как антиидиотипичные антитела или их фрагменты и синтетические пептидные миметопы, которые могут имитировать антиген или антигенную детерминанту, также включены в определение "антиген", используемое в описании. Аналогичным образом, олигонуклеотид или полинуклеотид, который кодирует иммуногенный белок, антиген или антигенную детерминанту *in vivo*, как, например, в генной терапии или в практическом применении иммунизации нуклеиновыми кислотами, также включен в определение антигена в описании.

Термин "эпитоп" означает ту часть у данного вида (например, антигенную молекулу или антигенный комплекс), которая определяет его иммунологическую специфичность. Эпитоп входит в объем настоящего определения антигена. Обычно, эпитоп представляет собой полипептид или полисахарид в антигене природного происхождения. В искусственных антигенах он может представлять собой низкомолекулярное вещество, такое как производное арсаниловой кислоты. Обычно В-клеточный эпитоп будет включать по меньшей мере приблизительно 5 аминокислот, но может содержать до 3-4 аминокислот. Т-клеточный эпитоп, такой как эпитоп CTL, обычно содержит по меньшей мере приблизительно 7-9 аминокислот, и хелперный Т-клеточный эпитоп обычно содержит по меньшей мере приблизительно 12-20 аминокислот.

Термин "рак", используемый в описании, означает патологический рост клеток, который имеет тенденцию к неконтролируемой пролиферации и, в некоторых случаях, к метастазированию (распространению). Типы рака включают, но без ограничения, солидные опухоли (такие как опухоли мочевого пузыря, кишечника, мозга, молочной железы, эндометрия, сердца, почки, легких, лимфатической ткани (лимфомы), яичника, поджелудочной железы или другого эндокринного органа (щитовидной железы), предстательной железы, кожи (меланомы) или гематологические опухоли (такие как лейкемии).

Термин "носитель", используемый в описании, означает химические соединения или агенты, которые способствуют включению соединения, описанного здесь, в клетки или ткани.

Термины "совместное введение" или "комбинированное введение" или т.п., используемые в описании, обозначают введение выбранных терапевтических агентов одному пациенту, и предназначены для включения схем лечения, при которых агенты необязательно вводят с помощью одного и того же пути введения или в одно и то же время.

Термин "дерматологическое заболевание", используемый в описании означает заболевание кожи.

Такие дерматологические заболевания включают, но без ограничения пролиферативные или воспалительные заболевания кожи, такие как атопический дерматит, буллезные заболевания, коллагенозы, контактный дерматит, экзема, болезнь Кавасаки, розацеа, синдром Шегрена-Ларссона, актинический кератоз, базальноклеточная карцинома и крапивница.

Термин "разбавитель", используемый в описании, означает химические соединения, которые используются для разведения соединения, описанного здесь, перед применением. Разбавители также могут использоваться для стабилизации описанных здесь соединений.

Термины "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество", используемые в описании, означают достаточное количество описанного здесь соединения, которое при введении будет уменьшать до некоторой степени один или более симптомов заболевания или состояния, которое лечат. Результат может представлять собой уменьшение и/или ослабление признаков, симптомов или причин заболевания, или любого другого желаемого изменения биологической системы. Например, "эффективное количество" для применений в терапии представляет собой количество композиции, содержащей соединения, которое раскрыто в описании, необходимое для обеспечения клинически значимого уменьшения симптомов заболевания. Соответствующее "эффективное" количество в каждом индивидуальном случае можно определить с помощью методик, таких как исследование с увеличением дозы.

Термины "увеличить" или "увеличение", используемые в описании, означают повышение или пролонгирование либо силы, либо продолжительности желаемого эффекта. Таким образом, в отношении увеличения эффекта терапевтических агентов термин "увеличивающий" означает способность увеличивать или пролонгировать, либо силу, либо продолжительность эффекта других терапевтических агентов на систему. "Усиливающее эффективное количество", используемое в описании, означает количество, достаточное для увеличения эффекта другого терапевтического агента в желаемой системе.

Термин "вспомогательное вещество" означает любое, по существу, дополнительное вещество, которое может быть представлено в готовой лекарственной форме. Например, термин "вспомогательное вещество" включает среду для лекарств, связывающие вещества, дезинтегранты, наполнители (разбавители), лубриканты, суспендирующие/диспергирующие средства и т.п.

Термины "фиброз" или "фиброзирующее заболевание", используемый в описании, означает состояния, которые наступают после острого или хронического воспаления и ассоциируются с патологическим накоплением клеток и/или коллагена и включают, но не ограничиваются фиброз отдельных органов или тканей, таких как сердце, почки, суставы, легкие или кожа, и включают такие заболевания как идиопатический фиброз легких и криптогенный фиброзирующий альвеолит.

Термин "ятрогенный", используемый в описании, означает состояние, нарушение или заболевание, вызванное или усугубившееся под воздействием лекарственной или хирургической терапии.

Термин "иммунологически эффективное количество", используемый в описании, означает, что введение достаточного количества субъекту, либо в однократной дозе, или в виде части серии, является эффективным для лечения или предотвращения иммунологического заболевания или нарушения. Указанное количество изменяется в зависимости от состояния здоровья и от физического состояния субъекта, получающего лечение, возраста, таксономитрической группы субъекта, получающего лечение (например, нечеловекоподобный примат, примат и т.д.), способности иммунной системы субъекта синтезировать антитела, степени желаемой защиты, состава вакцины, оценки медицинской ситуации лечащим доктором и других соответствующих факторов. Предполагается, что количество будет находиться в относительно широком диапазоне, который можно определить с помощью общепринятых проб.

Используемый в описании термин "иммунологический ответ" или "иммунный ответ" на антиген или композицию означает развитие у субъекта гуморального и/или клеточного иммунного ответа на антиген или композицию.

Иммунный ответ включает врожденный и адаптивный иммунные ответы. Врожденные иммунные ответы представляют собой быстродействующие ответы, которые создают первую линию обороны иммунной системы. В отличие от этого, приобретенный иммунитет использует отбор и размножение клонов иммунных клеток, имеющих соматически реаранжированные гены рецепторов (например, Т- и В-клеточные рецепторы), которые распознают антигены данного патогена или заболевания (например, опухоли), обеспечивая, таким образом, специфичность и иммунологическую память. Врожденные иммунные ответы, наряду с другими эффектами, приводят к быстрому выделению воспалительных цитокинов и к активации антигенпрезентирующих клеток (АПК), таких как макрофаги и дендритные клетки. Чтобы отличить патогены от собственных компонентов, врожденная иммунная система использует ряд относительно инвариантных рецепторов, которые обнаруживают характерные признаки патогенов, известных как патоген-ассоциированные молекулярные паттерны, или PAMP. Известно, что добавление микробных компонентов в экспериментальные вакцины приводит к развитию надежных и продолжительных адаптивных иммунных ответов. Сообщалось, что механизм, обуславливающий указанное потенцирование иммунных ответов, вовлекает паттернраспознающие рецепторы (PRR), которые дифференциально экспрессируются на различных иммунных клетках, включая нейтрофилы, макрофаги, дендритные клетки, естественные киллеры, В-клетки, и на некоторых неиммунных клетках, таких как эпителиальные и эндотелиальные клетки. Участие PRR приводит к активации некоторых из указанных клеток

и секреции ими цитокинов и хемокинов, а также к созреванию и миграции других клеток. В каскаде указанные выше факторы создают воспалительную среду, которая приводит к созданию адаптивного иммунного ответа. PRR включают нефагоцитарные рецепторы, такие как Toll-подобные рецепторы (TLR) и белки нуклеотид-связывающих доменов олигомеризации (NOD), и рецепторы, которые индуцируют фагоцитоз, такие как фагоцитарные рецепторы, маннозные рецепторы и β -глюкановые рецепторы. Дендритные клетки считают одним из наиболее важных клеточных типов для инициации примирования необученных CD4⁺ хелперных Т-клеток (ТН) и индукции CD8⁺ Т-клеточной дифференцировки в киллерные клетки. Сообщалось, что активация TLR играет важную роль в определении качества указанных хелперных Т-клеточных ответов, например, причем природа сигнала TLR определяет специфический тип наблюдаемого ТН-ответа (например, ТН1-ответ в противоположность ТН2-ответу). Комбинация антител (гуморального иммунитета) и клеточного иммунитета создается как часть ответа ТН1-типа, тогда как ответ ТН2-типа является преимущественно гуморальным иммунным ответом.

"Гуморальный иммунный ответ" означает иммунный ответ, опосредуемый молекулами антител, тогда как "клеточный иммунный ответ" означает иммунный ответ, опосредованный Т-лимфоцитами и/или другими белыми клетками крови. Один важный аспект клеточного иммунитета предусматривает антиген-специфический ответ цитотоксических Т-клеток ("CTL"). CTL обладают специфичностью к пептидным антигенам, которые представлены в ассоциации с белками, кодируемыми главным комплексом гистосовместимости (МНС), и экспрессированным на поверхности клеток. CTL помогают индуцировать и поддерживают внутриклеточную деструкцию внутриклеточных микробов, или лизис клеток, инфицированных такими микробами. Другой аспект клеточного иммунитета предусматривает антиген-специфический ответ с помощью хелперных Т-клеток. Хелперные Т-клетки помогают стимулировать функцию и направлять активность неспецифических эффекторных клеток против клеток, демонстрирующих пептидные антигены в ассоциации с молекулами МНС на своей поверхности. "Клеточный иммунный ответ" также означает продукцию цитокинов, хемокинов и других указанных молекул, производимых активированными Т-клетками и/или другими клетками белой крови, включая клетки, полученные из CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток.

Таким образом, композиция, такая как иммуногенная композиция или вакцина, которая вызывает клеточный иммунный ответ, может служить для сенсибилизации субъекта - позвоночного путем представления антигена в ассоциации с молекулами МНС на клеточной поверхности. Клеточно-опосредованный иммунный ответ направлен на клетки, презентующие антиген на своей поверхности, или на их окружение. Кроме того, антигенспецифические Т-лимфоциты могут вырабатываться для обеспечения в будущем защиты иммунизированного хозяина. Способность определенного антигена или композиции стимулировать клеточно-опосредованный иммунологический ответ можно определить с помощью ряда тестов, известных в данной области, например, с помощью реакций лимфопрлиферации (активации лимфоцитов), CTL цитотоксических клеточных реакций, путем тестирования Т-лимфоцитов, специфичных к антигену у сенсибилизированного субъекта, или путем измерения продукции цитокинов Т-клетками в ответ на повторную стимуляцию антигеном. Указанные тесты хорошо известны в данной области техники; см., например, Erickson et al. (1993) *J. Immunol.* 151:4189-4199; Doe et al. (1994) *Eur. J. Immunol.* 24:2369-2376. Таким образом, иммунологический ответ, используемый в описании, может быть ответом, который стимулирует продукцию CTL и/или продукцию или активацию хелперных Т-клеток. Исследуемый антиген также может вызывать антителоопосредованный иммунный ответ. Таким образом, иммунологический ответ может включать, например, один или более из следующих эффектов, в том числе продукцию антител, например, В-клетками; и/или активацию супрессорных Т-клеток и/или $\gamma\delta$ Т-клеток, специфически направленных на антиген или антигены, представленные в соответствующей композиции или вакцине. Указанные ответы могут служить для нейтрализации инфекционности, и/или могут опосредовать антитело-комплементарную или антитело-зависимую клеточную цитотоксичность (ADCC), чтобы обеспечить защиту иммунизированного хозяина. Такие ответы можно определить с использованием стандартных иммунных реакций и реакций нейтрализации, хорошо известных в данной области.

Иммуногенные композиции изобретения проявляют "повышенную иммуногенность" в отношении данного антигена, если они обладают более высокой способностью вызывать иммунный ответ, по сравнению с иммунным ответом, вызываемым эквивалентным количеством антигена в отличающейся композиции (например, в которой антиген вводят в виде растворимого белка). Таким образом, композиция может проявлять "повышенную иммуногенность", например, поскольку композиция вызывает более сильный иммунный ответ, или поскольку необходима более низкая доза или несколько доз антигена для достижения иммунного ответа у субъекта, которому ее вводят. Указанную повышенную иммуногенность можно определить, например, путем введения композиций изобретения, и антигенных контролей животным и сравнения результатов тестов в двух группах.

Термин "воспалительные заболевания", используемый в описании, означает такие заболевания или состояния, которые характеризуются одним или более из признаков боли (*dolor*, в результате образования токсичных веществ и стимуляции нервов), повышение температуры (*calor*, в результате вазодилата-

ции), покраснение (rubor, в результате вазодилатации и увеличения кровотока), отек (tumor, в результате избыточного поступления или ограниченного оттока жидкости), и потеря функции (functio laesa, которая может быть частичной или полной, временной или постоянной). Воспаление может принимать много форм и включает, но без ограничения воспаление, которое представляет собой одно или более из следующего: острое, адгезивное, атрофическое, катаральное, хроническое, цирротическое, диффузное, диссеминированное, экссудативное, фибринозное, фиброзирующее, фокальное, гранулематозное, гиперпластическое, гипертрофическое, интерстициальное, метастатическое, некротическое, облитерирующее, паренхиматозное, пластическое, продуктивное, пролиферативное, псевдомембранозное, гнойное, склерозирующее, серозно-фибринозное, серозное, простое, специфическое, подострое, гноеродное, токсическое, травматическое и/или язвенное. Воспалительные заболевания дополнительно включают, но без ограничения заболевания, поражающие кровеносные сосуды (полиартериит, темпоральный артериит); суставы (артрит: кристаллический, остео-псориатический, реактивный, ревматоидный, Рейтера); желудочно-кишечный тракт (Disease,); кожу (дерматит) или множественные органы и ткани (системная красная волчанка).

Термин "модулировать", используемый в описании, означает взаимодействовать с мишенью либо непосредственно, либо опосредованно для того чтобы изменить активность мишени, включая только в качестве примера, увеличение активности мишени, ингибирование активности мишени, ограничение активности мишени или пролонгирование активности мишени.

Термин "модулятор", используемый в описании, означает молекулу, которая взаимодействует с мишенью либо непосредственно, либо опосредованно. Взаимодействия включают, но не ограничиваются, взаимодействия мишени с агонистом или с антагонистом.

Термины "глазное заболевание" или "офтальмологическое заболевание", используемые в описании, означают заболевания, которые поражают глаз или глаза и возможно также окружающие ткани. Глазные или офтальмологические заболевания включают, но без ограничения, конъюнктивит, ретинит, склерит, увеит, аллергический конъюнктивит, весенний конъюнктивит, папиллярный конъюнктивит и цитомегаловирусный (CMV) ретинит.

Термин "олигонуклеотид", используемый в описании, означает полинуклеотид, характеризующийся размером в диапазоне 5-100 нуклеотидов, обычно 5-30 нуклеотидов.

Термин "фармацевтически приемлемый", используемый в описании, относится к веществу, такому как носитель или разбавитель, который не отменяет биологической активности или свойств соединений, описанных здесь. Указанные вещества вводят субъекту, не вызывая нежелательных биологических эффектов или неблагоприятных взаимодействий с любым из компонентов композиции, в которую он входит.

Термин "фармацевтически приемлемая соль", используемый в описании, означает препарат соединения, который не вызывает выраженного раздражения организма, в который вводится, и не отменяет биологической активности и свойств соединений, описанных здесь.

Термины "комбинация" или "фармацевтическая комбинация", используемые в описании, означают продукт, который получается в результате смешивания или комбинирования более чем одного активного ингредиента и включает фиксированные и нефиксированные комбинации активных ингредиентов. Термин "фиксированная комбинация" означает, что активные ингредиенты, как, например, соединение формулы (I) и дополнительный терапевтический агент вводятся пациенту совместно в форме одной единицы или дозы. Термин "нефиксированная комбинация" означает, что активные ингредиенты, как, например, соединение формулы (I) и дополнительный терапевтический агент вводятся пациенту в виде отдельных единиц либо одновременно, совместно, либо последовательно без специфических ограничений по времени, где указанное введение обеспечивает терапевтически эффективные уровни 2 соединений в организме пациента. Последнее также применяют при "коктейльной" терапии, например введение 3 или более активных ингредиентов.

Термины "композиция" или "фармацевтическая композиция", используемые в описании, означают смесь по меньшей мере одного соединения, такого как соединения формулы (I), предоставляемые в описании, по меньшей мере с одним и необязательно более чем одним другими фармацевтически приемлемыми химическими компонентами, такими как носители, стабилизаторы, разбавители, диспергаторы, суспендирующие средства, загустители, и/или вспомогательные вещества.

Под "физиологическим значением pH" или "значением pH в физиологическом диапазоне" подразумевают значение pH в диапазоне приблизительно от 7,2 до 8,0 включительно, более типично в диапазоне приблизительно от 7,2 до 7,6 включительно.

Термин "пролекарство", используемый в описании, означает агент, который превращается в исходное лекарственное средство *in vivo*. Неограничивающий пример пролекарства соединений, описанных здесь, представляет собой соединение, описанное здесь, вводимое в виде сложного эфира, который затем метаболически гидролизует до карбоновой кислоты, активной субстанции, после проникновения в клетку. Другим примером пролекарства является короткий пептид, связанный с кислотной группой, где пептид метаболизируется с высвобождением активного фрагмента.

Термины "полинуклеотид" и "нуклеиновая кислота" применяются взаимозаменяемо и означают од-

но- или двух-цепочечный полимер, состоящий из дезоксирибонуклеотидных или рибонуклеотидных оснований. Одноцепочечные полинуклеотиды включают кодирующие цепи и антисмысловые цепи. Поли-нуклеотиды включают РНК и ДНК, и могут быть выделены из природных источников, синтезированы *in vitro* или приготовлены из комбинации природных и синтетических молекул. Примеры полинуклеотидов включают, но без ограничения гены, кДНК, мРНК, самореплицирующиеся молекулы РНК, самореплицирующиеся молекулы ДНК, последовательности геномной ДНК, последовательности геномной РНК, олигонуклеотиды. Самореплицирующиеся молекулы РНК и самореплицирующиеся молекулы ДНК способны к самоамплификации при введении в клетку-хозяин.

Полинуклеотид может быть линейным или нелинейным (например, содержащим циклические, разветвленные и др. элементы). Термины "полинуклеотид" и "нуклеиновая кислота" включают модифицированные варианты (например, последовательности с делецией, вставкой и/или заменой). Модифицированные варианты могут быть заранее подготовленными, например, вызванными сайт-направленным мутагезом, или могут быть случайными, например, вследствие естественных мутаций.

Полинуклеотид может состоять из мономеров, которые являются природными нуклеотидами (такими как ДНК и РНК), или из аналогов природных нуклеотидов, или из их комбинации.

Модифицированные нуклеотиды могут содержать изменения в сахарных частях и/или в частях пиримидиновых или пуриновых оснований. Модификации сахаров включают, например, замену одной или более гидроксильных групп галогенами, алкильными группами, аминами и азидогруппами или сахара могут быть функционализированы в виде простых эфиров или сложных эфиров. Кроме того, полная сахарная часть может быть заменена пространственно и электронно сходными структурами, такими как азасахара и карбоциклические аналоги сахаров. Примеры модификаций в части основания включают алкилированные пурины и пиримидины, ацилированные пурины или пиримидины или другие хорошо известные гетероциклические заместители. Мономеры нуклеиновой кислоты могут быть соединены с помощью фосфодиэфирных связей или аналогов таких связей. Аналоги фосфодиэфирных связей включают фосфоротиоат, фосфородитиоат, фосфороселеноат, фосфородиселеноат, фосфоранилотиоат, фосфоранилидат, фосфорамидат и тому подобное. Термины "полинуклеотид" и "нуклеиновая кислота" также включают так называемые "пептидные нуклеиновые кислоты", которые содержат природные или модифицированные основания нуклеиновых кислот, присоединенные к полиамидной главной цепи.

Термин "полинуклеотидсодержащее соединение", используемый в описании, означает молекулу, по меньшей мере часть которой представляет собой полинуклеотид.

Термины "полипептид", "белок" и "пептид", используемые в описании, означают любой полимер, сформированный из нескольких аминокислот, независимо от длины или посттрансляционной модификации (например, фосфорилирование или гликозилирование), соединенных, по меньшей мере частично, ковалентной связью (например, "белок", используемый в описании относится к линейным полимерам (цепочкам) аминокислот, соединенных пептидными связями а также к белкам, имеющим вторичную, третичную или четвертичную структуру, которая может включать другие формы внутримолекулярной и межмолекулярной ассоциации, такие как водородные связи и ван-дер-ваальсовы связи, внутри или между пептидной цепи (пептидных цепей)). Примеры полипептидов включают, но без ограничения белки, пептиды, олигопептиды, димеры, мультимеры, варианты и т.п. В некоторых вариантах осуществления полипептид может быть немодифицированным, так что он не содержит модификаций, таких как фосфорилирование и гликозилирование. Полипептид может содержать часть или весь один природный полипептид, или может быть слитым или химерным полипептидом, содержащим аминокислотные последовательности двух или более встречающийся в природе полипептидов.

Термин "полипептидсодержащее соединение" означает молекулу, по меньшей мере часть которой является полипептидом. Примеры включают полипептиды, гликопротеины, металлопротеины, липопротеины, сахаридные антигены, конъюгированные с белками-носителями и т.д.

Термин "респираторное заболевание", используемый в описании, означает заболевания, поражающие органы, которые вовлечены в дыхание, такие как нос, горло, гортань, трахея, бронхи и легкие. Респираторные заболевания включают, но без ограничения, астму, респираторный дистресс-синдром взрослых и аллергическую (экзогенную) астму, неаллергическую (эндогенную) астму, острую тяжелую астму, астматическое состояние, хроническую астму, клиническую астму, ночную астму, аллерген-индуцированную астму, аспириновую астму, астму напряжения, изокапническую гипервентиляцию, астму, развившуюся в детстве, астму, развившуюся во взрослом возрасте, кашлевую астму, профессиональную астму, устойчивую к лечению стероидами астму, сезонную астму, сезонный аллергический ринит, хронический аллергический ринит, хроническое обструктивное легочное заболевание, включая хронический бронхит или эмфизему, легочную гипертензию, интерстициальный фиброз легких и/или воспаление дыхательных путей и кистозный фиброз и гипоксию.

Термин "субъект" или "пациент", используемый в описании, охватывает млекопитающих и немлекопитающих. Примеры млекопитающих включают, но без ограничения человека, шимпанзе, человекообразных обезьян, крупный рогатый скот, лошадей, овец, коз, свиней, кроликов, собак, кошек, крыс, мышей, морских свинок и т.п. Примеры не млекопитающих включают, но без ограничения птиц, рыб и т.п. Обычно субъект является человеком, и может быть человеком, который диагностирован как нуж-

дающийся в лечении заболевания или нарушения, раскрытого здесь.

Термин "модулятор TLR7", используемый в описании, означает соединение, которое модулирует рецептор TLR7.

Термин "заболевания TLR7" или "заболевание или нарушение, ассоциированное с активностью TLR7", используемый в описании, означает любое болезненное состояние, ассоциированное с Toll-подобным рецептором. Указанные заболевания или нарушения включают, но без ограничения инфекционные заболевания, воспалительные заболевания, респираторные заболевания и аутоиммунные заболевания, такие как, только в качестве примера, астма, хроническое обструктивное легочное заболевание (COPD), респираторный дистресс-синдром взрослых (ARDS), болезнь Крона, бронхит, дерматит, аллергический ринит, псориаз, склеродермия, крапивница, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, рак, HIV и волчанка.

Термин "терапевтически эффективное количество", используемый в описании, означает какое-либо количество соединения, которое по сравнению с соответствующим субъектом, который не получал указанного количества, приводит к улучшению лечения, к выздоровлению или уменьшению интенсивности симптомов заболевания, нарушения или побочного эффекта или снижению скорости развития заболевания или нарушения. Термин также включает в свой объем количества, эффективные для усиления нормальной физиологической функции.

Термины "лечить", "проводить лечение" или "лечение", используемый в описании, относится к способам облегчения, ослабления или улучшения симптомов заболевания или состояния, предупреждения появления дополнительных симптомов, улучшения или предотвращения исходных метаболических причин симптомов, подавления заболевания или состояния, прекращения развития заболевания или состояния, ослабления заболевания или состояния, вызывания регрессии заболевания или состояния, облегчения состояния, вызываемого заболеванием или состоянием, или прекращения симптомов заболевания или состояния профилактически и/или терапевтически.

Термин "векторная конструкция" обычно означает любую составную структуру, которая способна направлять экспрессию последовательности (последовательностей) нуклеиновой кислоты или гена (генов), представляющих интерес. "Векторная конструкция ДНК" означает молекулу ДНК, которая способна направлять экспрессию последовательности (последовательностей) нуклеиновой кислоты или гена (генов), представляющих интерес. Одним конкретным типом векторной конструкции ДНК является плазида, которая представляет собой кольцевую эписомальную молекулу ДНК, способную к автономной репликации внутри клетки-хозяина. Обычно плазида представляет собой кольцевую двухцепочечную петлю ДНК, в которую могут быть лигированы дополнительные сегменты ДНК. Одной из плазмид, которые хорошо известны в данной области техники, является рСМV. Известны другие векторные конструкции ДНК, которые получены на основе РНК вирусов. Указанные векторные конструкции ДНК обычно содержат промотор, который работает в эукариотической клетке, 5'-конец последовательности кДНК, для которой продуктом транскрипции является векторная конструкция РНК (например, векторный репликон РНК альфавируса), и 3'-концевой участок. Другие примеры векторных конструкций включают векторные конструкции РНК (например, векторные конструкции альфавируса) и т.п. Используемые в описании "векторная конструкция РНК", "векторный репликон РНК" и "репликон" означают молекулу РНК, которая способна управлять своей собственной амплификацией или саморепликацией *in vivo*, обычно внутри клетки-мишени. Векторная конструкция РНК используется непосредственно, без необходимости вводить ДНК внутрь клетки и перемещать в ядро, где происходит транскрипция. Путем использования вектора РНК для прямой доставки в цитоплазму клетки-хозяина, эффективно осуществляется автономная репликация и трансляция гетерологичной последовательности нуклеиновой кислоты.

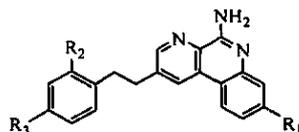
Названия соединений, представленных здесь, были получены с помощью ChemDraw Ultra 10.0 (CambridgeSoft™) или Jchem, версия 5.0.3 (ChemAxon).

Другие цели, характерные черты и преимущества способов, композиций и комбинаций, описанных здесь, будут очевидны из нижеследующего подробного описания. Следует понимать, однако, что подробное описание и конкретные примеры несмотря на то, что показывают специфические варианты осуществления, приведены только в иллюстративных целях.

Описание предпочтительных вариантов осуществления

В настоящем документе предоставляются соединения и их фармацевтические композиции, которые являются агонистами Toll-подобного рецептора-7 (TLR7). Также в описании предоставляются соединения, фармацевтические композиции и способы лечения заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с активностью TLR7.

Агонисты TLR7, предоставляемые в описании, представляют собой соединения, имеющие структуру формулы (I) и их фармацевтически приемлемые соли, фармацевтически приемлемые сольваты (например, гидраты), производные N-оксидов, производные пролекарств, защищенные производные, отдельные изомеры и смесь изомеров



Формула (I)

в которой R^1 представляет собой H, C_1 - C_6 -алкил, $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ или $-OL^2R^6$;

L^1 представляет собой $-C(O)-$ или $-O-$;

L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен, C_2 - C_6 -алкенилен, фенилен или $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$, где C_1 - C_6 -алкилен и C_2 - C_6 -алкенилен L^2 необязательно замещены 1-4 фторгруппами;

каждый L^3 независимо выбран из C_1 - C_6 -алкилена и $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$, где C_1 - C_6 -алкилен L^3 обязательно замещен 1-4 фторгруппами;

L^4 представляет собой фенилен;

R^2 представляет собой H или C_1 - C_6 -алкил;

R^3 выбран из C_1 - C_4 -алкила, $-L^3R^5$, $-L^1R^5$, $-L^3R^7$, $-L^3L^4L^3R^7$, $-L^3L^4R^5$, $-L^3L^4L^3R^5$, $-OL^3R^5$, $-OL^3R^7$, $-OL^3L^4R^7$, $-OL^3L^4L^3R^7$, $-OR^8$, $-OL^3L^4R^5$, $-OL^3L^4L^3R^5$ и $-C(R^5)_2OH$;

каждый R^4 независимо выбран из H и фтора;

R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$;

R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ или $-C(O)OR^{10}$;

R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$;

R^8 представляет собой H или C_1 - C_4 -алкил;

каждый R^9 независимо выбран из H и C_1 - C_6 -алкила;

R^{10} представляет собой H или C_1 - C_4 -алкил;

каждый p независимо выбран из 1, 2, 3, 4, 5 и 6;

q представляет собой 1, 2, 3 или 4;

при условии, что если R^3 представляет собой C_1 - C_4 -алкил или $-OR^8$, R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ или $-OL^2R^6$, где R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ и R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил, в других вариантах осуществления R^1 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления, R^1 представляет собой H. В других вариантах осуществления R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ или $-OL^2R^6$.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I), если R^1 $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$, или $-OL^2R^6$, то R^3 представляет собой $-OR$ или C_1 - C_6 -алкил. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ или $-OL^2R^6$ и R^3 представляет собой $-OMe$.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой метил.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) R^3 выбирают из C_1 - C_4 -алкила, $-L^3R^5$, $-L^1R^5$, $-L^3R^7$, $-L^3L^4L^3R^7$, $-L^3L^4R^5$ и $-L^3L^4L^3R^5$. В альтернативных вариантах осуществления изобретения R^3 выбирают из $-OL^3R^5$, $-OL^3R^7$, $-OL^3L^4R^7$, $-OL^3L^4L^3R^7$, $-OR^8$, $-OL^3L^4R^5$, $-OL^3L^4L^3R^5$ и $-C(R^5)_2OH$. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой $-OL^3R^5$, где $-OL^3R^5$ представляет собой группу формулы $-O(CH_2)_{1-5}P(O)(OR)_2$. В других вариантах осуществления R^3 представляет собой $-OL^3R^5$, где $-OL^3R^5$ представляет собой группу формулы $-O(CH_2)_{1-5}CF_2P(O)(OR)_2$.

Если представлен более чем один R^9 , как в соединениях, содержащих группировку $-P(O)(OR^9)_2$, группы R^9 являются одинаковыми или различными. В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^9 представляет собой H в каждом случае. В других вариантах осуществления по меньшей мере один R^9 представляет собой H и другой R^9 представляет собой C_1 - C_6 -алкил. В других вариантах осуществления по меньшей мере один R^9 представляет собой H и другой R^9 представляет собой метил. В других вариантах осуществления по меньшей мере один R^9 представляет собой H и другой R^9 представляет собой этил. В других вариантах осуществления таких соединений формулы (I) каждый R^9 представляет собой C_1 - C_6 -алкил и в некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой метил или этил, или их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) L^2 и/или L^3 представляет собой группу формулы $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$, и в некоторых вариантах осуществления указанная группа имеет формулу $(CH_2CH_2O)_{1-3}(CH_2)_{1-3}$.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен, тогда как в других вариантах осуществления L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен, замещенный 1-4 фторгруппами. В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) L^2 имеет формулу $(CH_2)_{0-5}CF_2$, где фторзамещенный атом углерода не связан непосредственно с фенильным кольцом формулы (I). В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) L^2 представляет собой

C_2 - C_6 -алкенилен, тогда как в других вариантах осуществления L^2 представляет собой C_2 - C_6 -алкенилен, замещенный 1-4 фторгруппами.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) L^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен, тогда как в других вариантах осуществления L^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен, замещенный 1-4 фторгруппами. В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) L^3 имеет формулу $(CH_2)_{0-5}CF_2$, где фторзамещенный атом углерода не связан непосредственно с фенильным кольцом формулы (I).

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) L^2 представляет собой арилен или гетероарил. В некоторых из таких вариантов осуществления L^2 представляет собой фенилен, такой как 1,3-двузамещенный фенилен или 1,4-двузамещенный фенилен.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$; R^7 представляет собой $CF_2P(O)(OR^9)_2$ и L^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$; R^7 представляет собой $CF_2P(O)(OR^9)_2$; L^3 представляет собой $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$; R^4 представляет собой H; q представляет собой 1 или 2 и p представляет собой 2.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой $-L^2R^6$; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$; R^6 представляет собой $-C(O)OR^{10}$; R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$; L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен и L^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен.

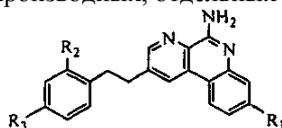
В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой $-L^2R^6$; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$; R^6 представляет собой $-C(O)OR^{10}$; R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$; L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен; L^3 представляет собой $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$; R^4 представляет собой H; q представляет собой 1 или 2 и p представляет собой 2.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^2R^5$ или $-L^1R^6$; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OR^8$; R^8 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$; R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$; L^1 представляет собой $-C(O)-$ и L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен или C_2 - C_6 -алкенилен, каждый необязательно замещенный 1-4 фторгруппами.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3L^4R^5$, $-OL^3L^4L^3R^5$ или $-OL^3L^4L^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$; R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$; каждый L^3 независимо представляет собой C_1 - C_6 -алкилен и L^4 представляет собой фенилен.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-C(R^5)_2OH$ или $-L^1R^5$; R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$ и L^1 представляет собой $-C(O)-$ или $-O-$.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) и их фармацевтически приемлемых солей, фармацевтически приемлемых сольватов (например, гидраты), производных N-оксидов, производных пролекарств, защищенных производных, отдельных изомеров и смеси изомеров



Формула (I)

R^1 представляет собой C_1 - C_4 -алкил, $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$, или $-OL^2R^6$;

L^1 представляет собой $-C(O)-$ или $-O-$;

L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен, C_2 - C_6 -алкенилен, фенилен или $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$, где C_1 - C_6 -алкилен и C_2 - C_6 -алкенилен L^2 необязательно замещены 1-4 фторгруппами;

каждый L^3 независимо выбран из C_1 - C_6 -алкилена и $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$, где C_1 - C_6 -алкилен L^3 необязательно замещен 1-4 фторгруппами;

L^4 представляет собой фенилен;

R^2 представляет собой H или C_1 - C_4 -алкил;

R^3 выбран из $-L^3R^5$, $-L^1R^5$, $-L^3R^7$, $-L^3L^4L^3R^7$, $-L^3L^4R^5$, $-L^3L^4L^3R^5$, $-OL^3R^5$, $-OL^3R^7$, $-OL^3L^4R^7$, $-OL^3L^4L^3R^7$, $-OR^8$, $-OL^3L^4R^5$, $-OL^3L^4L^3R^5$ и $-C(R^5)_2OH$;

каждый R^4 независимо выбран из H и фтора;

R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$,

R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$ или $-C(O)OH$;

R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$;

R^8 представляет собой H или C_1 - C_4 -алкил;

каждый p независимо выбран из 1, 2, 3, 4, 5 и 6;

q представляет собой 1, 2, 3 или 4,

при условии, что если R^3 представляет собой $-OR^8$, R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ или $-OL^2R^6$, где R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$ и R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$; R^7 представляет собой $CF_2P(O)(OH)_2$ и L^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$; R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$; L^3 представляет собой $-(CR^4R^4)_pO_q(CH_2)_p$; R^4 представляет собой H; q представляет собой 1 или 2 и p представляет собой 2.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой $-L^2R^6$; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$; R^6 представляет собой $-C(O)OH$; R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$; L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен и L^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой $-L^2R^6$; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$; R^6 представляет собой $-C(O)OH$; R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$; L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен; L^3 представляет собой $-(CR^4R^4)_pO_q(CH_2)_p$; R^4 представляет собой H; q представляет собой 1 или 2 и p представляет собой 2.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^2R^5$ или $-L^1R^6$; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OR^8$; R^8 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$; R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$; L^1 представляет собой $-C(O)-$ и L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен или C_2 - C_6 -алкенилен, каждый необязательно замещенный 1-4 фторгруппами.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-OL^3L^4R^5$, $-OL^3L^4L^3R^5$ или $-OL^3L^4L^3R^7$; R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$; R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$; каждый L^3 независимо представляет собой C_1 - C_6 -алкилен и L^4 представляет собой фенилен.

В некоторых вариантах осуществления таких соединений формулы (I) R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил; R^3 представляет собой $-C(R^5)_2OH$ или $-L^1R^5$; R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$ и L^1 представляет собой $-C(O)-$ или $-O-$.

В некоторых вариантах осуществления упомянутых выше соединений формулы (I) R^8 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления упомянутых выше соединений формулы (I) R^1 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления упомянутых выше соединений формулы (I) R^2 представляет собой метил.

В других вариантах осуществления соединений формулы (I)

R^5 представляет собой $-P(O)(OX^+)_2$ или $-P(O)(O)_2X^{2+}$;

R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OX^+)_2$, $-CF_2P(O)(O)_2X^{2+}$ или $-C(O)OX^+$ и

R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OX^+)_2$, $-CF_2P(O)(O)_2X^{2+}$ или $-C(O)OX^+$,

где X^+ и X^{2+} представляют собой фармацевтически приемлемые катионы. В некоторых вариантах осуществления такие фармацевтически приемлемые катионы выбирают из натрия, калия, кальция, цинка и магния.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I)

R^5 представляет собой $-PO_3^-X^{3+}$;

R^6 представляет собой $-CF_2PO_3^-X^{3+}$ и

R^7 представляет собой $-CF_2PO_3^-X^{3+}$;

где X^{3+} представляет собой Al^{3+} .

Алюминийсодержащие адъюванты, такие как гидроксид алюминия, оксигидроксид алюминия и гидроксифосфат алюминия, используются в вакцинах для связывания антигенов. Обсуждение алюминийсодержащих адъювантов и их применений в вакцинах представлено в Expert Rev. Vaccines, 46(5), 2007, 685-698 и в Vaccines, 25, 2007, 6618-6624, раскрытия которых включены в описание посредством ссылок во всей полноте.

Соединения формулы (I), представленные в описании, являются агонистами TLR7, которые связываются с алюминийсодержащими адъювантами, такими как, только в качестве примера, гидроксид алюминия, оксигидроксид алюминия и гидроксифосфат алюминия. В некоторых вариантах осуществления такие соединения формулы (I) содержат группу фосфата, фосфоновой кислоты, фосфоната, фторированной фосфоновой кислоты или группу фторированного фосфоната. Тогда как в других вариантах осуществления такие соединения формулы (I) содержат группу фосфата, фосфоновой кислоты, фосфоната, фторированной фосфоновой кислоты или группу фторированного фосфоната и одну или более дополнительных ионогенных групп, выбранных из карбоновой кислоты и сульфата.

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), представленные в настоящем описании, объединяют с антигеном, с содержащим алюминий адъювантом, и необязательно с носителем, фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом для получения иммуногенной композиции. В других вариантах осуществления такая иммуногенная композиция содержит соединение формулы (I) и антиген, где антиген включает, но без ограничения бактериальный антиген, вирусный антиген, грибной антиген, опухолевый антиген, или антиген, ассоциированный с STD, болезнью Альцгеймера, респираторными заболеваниями, аутоиммунными заболеваниями, такими как, только в качестве примера, ревматоидный артрит или волчанка, педиатрические заболевания и ожирение, и где количество соединения является количеством эффективным для усиления иммунного ответа на антиген у субъекта, которому вводят композицию. Подходящие антигены для применения в таких иммуногенных композициях описываются в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления такие иммуногенные композиции включают бактериальный антиген штамма *Neisseria meningitides*, как, например, серогруппы A, C, W135, Y и/или B. Специфические антигены для применения в указанных композициях описываются здесь. В других вариантах осуществления указанные иммуногенные композиции и другие композиции, представленные в настоящем описании, применяются в качестве вакцин; их применение в лечении нарушений, ассоциированных с антигеном, содержащимся в композиции, описывается в настоящем документе.

Соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры и фармацевтические композиции, предоставляемые в описании, также включают все подходящие изотопные варианты таких соединений и их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, и фармацевтические композиции. Изотопный вариант соединения, предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемая соль определяется как соединение, в котором по меньшей мере один атом замещен атомом, имеющим такой же атомный номер, но атомная масса которого отличается от атомной массы, обычно обнаруживаемой в природе. Примеры изотопов, которые могут быть включены в соединения, представленных в настоящем описании, и их фармацевтически приемлемой соли включают но без ограничения изотопы водорода, углерода, азота и кислорода, такие как ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl и ^{123}I . Некоторые изотопные варианты соединений, представленных в настоящем описании, и их фармацевтически приемлемых солей, например солей, в которых включен радиоактивный изотоп, такой как ^3H или ^{14}C , являются полезными в исследованиях распределения в тканях лекарственных препаратов и/или субстратов. В конкретных примерах изотопы ^3H и ^{14}C могут использоваться благодаря легкости их включения и наличию способов выявления. В других примерах замена изотопами, такими как ^2H , может представлять определенные терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например увеличение периода полувыведения *in vivo* или снижение требуемых доз. Изотопные варианты соединений и их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, и фармацевтические композиции, представленные в настоящем описании, получают общепринятыми способами с применением соответствующих изотопных вариантов подходящих реагентов.

Способы получения соединений формулы (I).

Общие методики получения соединений формулы (I) описаны в примерах ниже. В описанных реакциях реакционно-способные функциональные группы, например гидроксильные, амино-, имино-, тио- или карбокси-группы, в случае если они желательны в конечном продукте, могут быть защищены, чтобы избежать нежелательного участия в реакциях. Стандартные защитные группы могут использоваться в соответствии с общепринятой практикой (см., например, T.W. Greene и P.G.M. Wuts in "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991).

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), представленные в настоящем описании, получают в виде фармацевтически приемлемой соли присоединения кислоты путем реакции соединения формулы (I) в форме свободного основания с фармацевтически приемлемой органической кислотой или неорганической кислотой. В других вариантах осуществления фармацевтически приемлемую соль присоединения основания соединений формулы (I), представленных здесь, получают с помощью реакции соединения формулы (I) в форме свободной кислоты с фармацевтически приемлемым органическим основанием или неорганическим основанием. Альтернативно, соединения формулы (I) в форме солей, представленные в настоящем описании, получают, используя соли исходных веществ или промежуточных соединений. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), представленные в настоящем описании, имеют форму других солей, включая, но без ограничения оксалаты и трифторацетаты. В некоторых вариантах осуществления образуются полусоли кислот и оснований, например соли полусульфата и полукальция.

Такие фармацевтически приемлемые соли присоединения кислоты соединений формулы (I) включают, но без ограничения соли гидробромида, гидрохлорида, сульфата, нитрата, сукцината, малеата, формиата, ацетата, адипата, бензилата, бикарбоната/карбоната, пропионата, фумарата, цитрата, тартрата, лактата, бензоата, салицилата, глутамата, аспартата, *p*-толуолсульфоната, бензолсульфоната, метансульфоната, этансульфоната, нафталинсульфоната (например, 2-нафталинсульфоната), соль гексаноата, бисульфата/сульфата, бората, камзилата, цикламата, эдизилата, эзилата, глюцептата, глюканата, глюкоуро-

ната, гексафторфосфата, гибензата, гидрохлорида/хлорида, гидробромида/бромида, гидройодида/йодида, изетионата, лактата, малата, малоата, мезилата, метилсульфата, нафтилата, 2-напзилата, никотината, оротата, оксалата, пальмитата, памоата, фосфата/гидрофосфата/дигидрофосфата, пироглутамата, сахара, стеарата, танната, тозилата, трифторацетата и ксинафоата.

Органические кислоты или неорганические кислоты, используемые для получения фармацевтически приемлемых солей присоединения кислот соединений формулы (I), включают, но без ограничения бромисто-водородную кислоту, соляную кислоту, серную кислоту, азотную кислоту, фосфорную кислоту, сукциниловую кислоту, малеиновую кислоту, муравьиную кислоту, уксусную кислоту, пропионовую кислоту, фумаровую кислоту, лимонную кислоту, винную кислоту, молочную кислоту, бензойную кислоту, салициловую кислоту, глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту, *p*-толуолсульфоновую кислоту, бензолсульфоновую кислоту, метансульфоновую кислоту, этансульфоновую кислоту, нафталинсульфоновую кислоту, например 2-нафталинсульфоновую кислоту, или гексановую кислоту.

Указанная фармацевтически приемлемая соль присоединения основания соединения формулы (I) включает, но без ограничения соли алюминия, аргинина, бензатина, кальция, холина, диэтиламина, диоламина, глицина, лизина, магния, меглумина, оламина, калия, натрия, трометамин и цинка.

В некоторых вариантах осуществления формы свободной кислоты или свободного основания соединений формулы (I), представленные в настоящем описании, получают из соответствующей соли присоединения основания или соли присоединения кислоты соответственно. Например, соединение формулы (I) в форме соли присоединения кислоты превращается в соответствующее свободное основание при обработке подходящим основанием (только в качестве примера, раствором гидроксида аммония, гидроксида натрия и т.п.). Например, соединение формулы (I) в форме соли присоединения основания превращается в соответствующую свободную кислоту при обработке подходящей кислотой (только в качестве примера, соляной кислотой).

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) в неокисленной форме получают из N-оксидов соединений формулы (I) путем обработки восстановителем (только в качестве примера, сера, диоксид серы, трифенилфосфин, борогидрит лития, борогидрит натрия, трихлорид фосфора, трибромид или т.п.) в подходящем инертном органическом растворителе (только в качестве примера, ацетонитрил, этанол, водный диоксан или т.п.) при температуре от 0 до 80°C.

В некоторых вариантах осуществления производные пролекарств соединений формулы (I) получают, используя способы, известные специалистам в данной области (например, для дополнительных деталей см. Saulnier et al., (1994), *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 4, p. 1985). Например, подходящие пролекарства получают путем реакции недериватизированного соединения формулы (I) с подходящим карбамилирующим агентом (только в качестве примера, 1,1-ацилоксиалкилкарбанохлоридат, пара-нитрофенилкарбонат или т.п.).

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) получают в виде защищенных производных, используя способы, известные специалистам в данной области. Подробное описание методик, применимых для создания защитных групп и их удаления можно найти в T.W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3rd edition, John Wiley and Sons, Inc., 1999.

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) получают или формируют в виде сольватов (например, гидратов). В некоторых вариантах осуществления гидраты соединений формулы (I) получают перекристаллизацией из смеси водного/органического растворителей, используя органические растворители, такие как диоксин, тетрагидрофуран или метанол.

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) получают в виде их отдельных стереоизомеров. В других вариантах осуществления соединения формулы (I), представленные в настоящем описании, получают в виде их отдельных стереоизомеров путем проведения реакции рацемической смеси соединения с оптически активным разделяющим агентом с образованием пары диастереоизомерных соединений, разделения диастереоизомеров и извлечения оптически чистых энантиомеров. В некоторых вариантах осуществления разделение энантиомеров осуществляют с помощью ковалентных диастереоизомерных производных соединений формулы (I) или с применением диссоциируемых комплексов (например, кристаллические диастереоизомерные соли). Диастереомеры обладают разными физическими свойствами (например, температурой плавления, температурой кипения, растворимостью, реакционной способностью и т.п.), и благодаря этому их можно разделить простыми методами. В некоторых вариантах осуществления диастереоизомеры разделяют хроматографически, или с помощью методов разделения/разрешения на основе различий в растворимости. Затем оптически чистый энантиомер выделяют с использованием разделяющего агента любыми удобными способами, исключая рацемизацию. Более подробное описание способов, применимых для разделения стереоизомеров соединений из их рацемической смеси, можно найти в Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley And Sons, Inc., 1981.

Соединения формулы (I) получают с помощью способов, описанных здесь, и как проиллюстрировано в примерах. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) получают способом, который заключается в том, что:

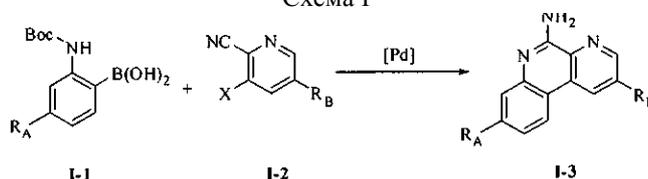
- (a) необязательно превращают соединение формулы (I) в фармацевтически приемлемую соль;

- (b) необязательно превращают соли соединения формулы (I) в несольевую форму;
- (c) необязательно превращают неокисленную форму соединения формулы (I) в фармацевтически приемлемый N-оксид;
- (d) необязательно превращают N-оксид соединения формулы (I) его неокисленную форму;
- (e) необязательно выделяют отдельный изомер соединения формулы (I) из смеси изомеров;
- (f) необязательно превращают немодифицированное соединение по формуле (I) в фармацевтически приемлемое производное пролекарство; и
- (g) необязательно превращают производное пролекарство соединения формулы (I) в немодифицированную форму.

Неограничивающие примеры схем синтеза, используемых для создания соединений формулы (I), представленных здесь, проиллюстрированы в схемах реакции (I)-(XI).

Схема (I) иллюстрирует синтез бензонафтиридинов (1-3) путем конденсации 2-(трет-бутоксикарбонил-амино)фенилбороновых кислот (I-1) с 3-галогенопиколинитриловыми производными (I-2) в присутствии палладиевого катализатора. Только в качестве примера, галогеногруппа 3-галогенопиколинитриловых производных представляет собой бром или хлор. Группы R_A и R_B бензонафтиридинов (I-3) являются такими, как описано здесь для заместителей формулы (I) в соответствующих положениях, или R_A и R_B являются группами, которые далее модифицируются с получением соответствующих заместителей формулы (I), как описано здесь.

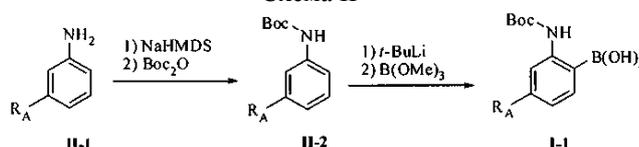
Схема I



$X = Br$ или Cl .

В некоторых вариантах осуществления фенилбороновые кислоты, применяемые в синтезе соединений формулы (I), синтезировали по схеме (II). На схеме (II) анилин (II-1) является Вос-защищенным в основных условиях при получении (II-2), и затем превращается в бороновые кислоты (I-1) с помощью орто-лигирования и реакции с триметилборатом с последующей обработкой водой.

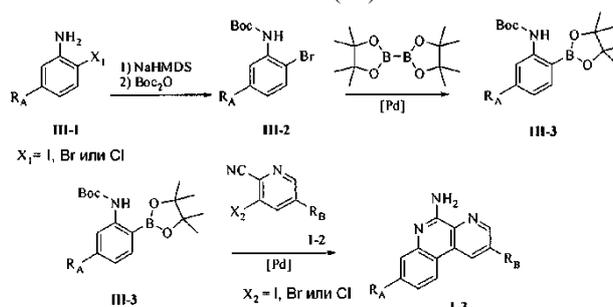
Схема II



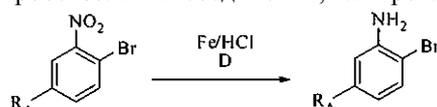
Борные кислоты (I-1) используют как на схеме (I), и они реагируют с цианопиридинами (1-2) с получением бензонафтиридинов (1-3).

В некоторых вариантах осуществления эквиваленты бороновой кислоты включая, но без ограничения, боронатные эфиры использовали в синтезе соединений формулы (I). Схема (III) иллюстрирует синтез таких боронатных эфиров (III-3), которые использовали в качестве эквивалентов бороновой кислоты в синтезе бензонафтиридинов (1-3). На схеме (III) 2-галоанилины (III-1) являлись Вос-защищенными в основных условиях при получении (III-2), которые затем превращались в боронатные эфиры (III-3) с применением палладий-опосредованного катализа. Указанные боронатные эфиры (III-3) использовали как на схеме (I), и они реагировали с цианопиридинами (1-2) с получением замещенных или незамещенных бензонафтиридинов (1-3).

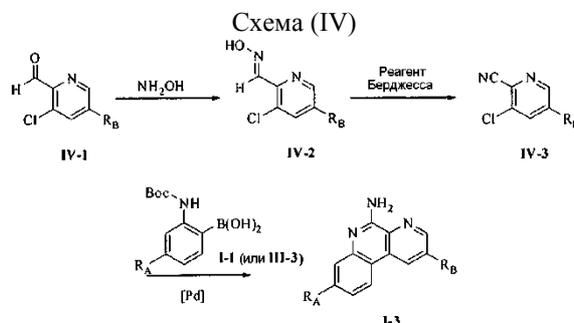
Схема (III)



В некоторых вариантах осуществления 2-броманилины, используемые как на схеме (III), синтезировали из их соответствующих нитробензольных соединений, как проиллюстрировано ниже

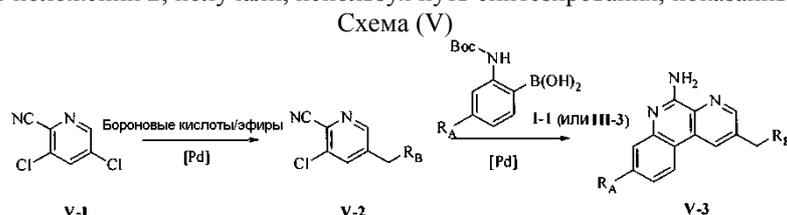


В других вариантах осуществления соединения формулы (I) синтезировали, используя методики, описанные на схеме (IV).



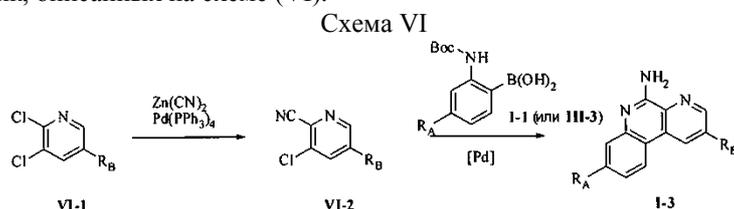
На схеме (IV) 3-хлорбензальдегид (IV-1) вначале превращается в соответствующий гидроксиламин (IV-2), который затем используют для получения соответствующего нитрила (IV-3). Используя условия, опосредуемые палладием, как на схеме (I), производные нитрила (IV-3) конденсируют с бороновыми кислотами (I-1) (или боронатными эфирами (III-3) с получением бензонафтиридина (I-3).

В других вариантах осуществления некоторые соединения формулы (I), содержащие заместители, связанные с атомом углерода, включая бензонафтиридины с различными заместителями, связанными с атомом углерода, в положении 2, получали, используя путь синтеза, показанный на схеме (V).



На схеме (V) 3,5-дигалопиколинонитрил, такой как, только в качестве примера, 3,5-дихлорпикалинонитрил (V-1), вначале монозамещают, используя один эквивалент бороновой кислоты/эфира получая при этом соответствующий пикалинонитрил (V-2). При использовании более интенсивных условий реакции, опосредуемых палладием, как на схеме (I), производные нитрила (V-2) конденсируют с бороновыми кислотами (I-1) (или боронатными эфирами (III-3) с получением бензонафтиридина (V-3), содержащего заместители, связанные с атомом углерода в положении 2. В некоторых вариантах осуществления заместитель, связанный с атомом углерода, является алкеном, тогда как в других вариантах осуществления указанные алкены дополнительно модифицируют гидрированием с получением бензонафтиридинов с алкильными группами в положении 2.

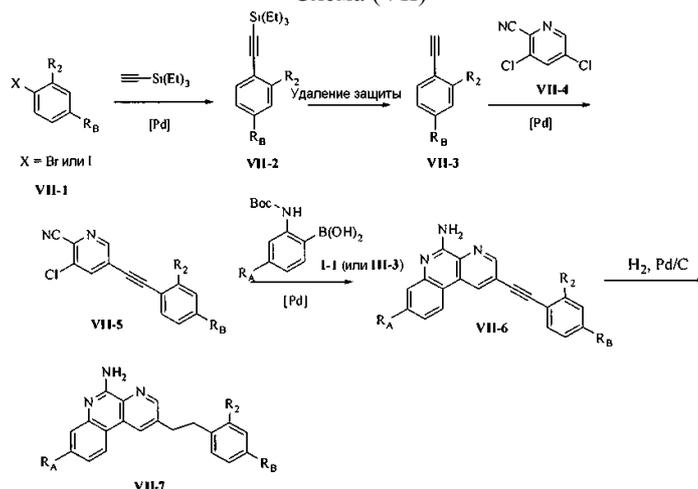
В других вариантах осуществления некоторые соединения формулы (I), содержащие различные заместители, включая бензонафтиридины с различными заместителями в положении 2, синтезировали с применением методик, описанных на схеме (VI).



На схеме (VI) 2,3-дигалопиридины, замещенные в положении 5 (VI-1), такие как, только в качестве примера, (5,6-дихлорпиридин-3-ил)метанол, вначале превращаются в соответствующий нитрил (VI-2). Используя условия, опосредуемые палладием, как на схеме (I), производные нитрила (VI-2) конденсируют с бороновыми кислотами (I-1) (или боронатными эфирами (III-3) с получением бензонафтиридина (I-3).

В других вариантах осуществления некоторые соединения формулы (I) синтезировали с применением методик, описанных на схеме (VII).

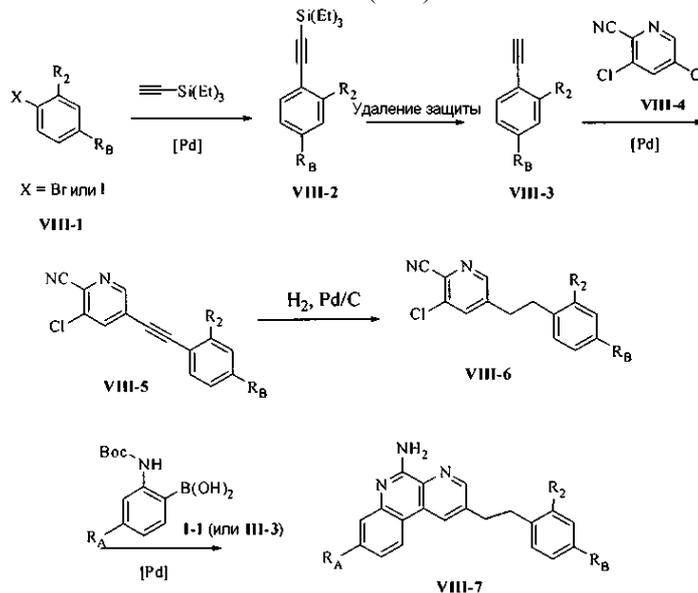
Схема (VII)



На схеме (VII) арилбромиды или арилийодиды (VII-1) конденсируют с триэтил(этинил)силаном (или его эквивалентами), используя условия, опосредуемые палладием, для получения (VII-2). После удаления защитной группы силила, производные ацетилена (VII-3) конденсируют с 3,5-дихлоропиколинонитрилом (VII-4), при использовании условий, опосредуемых палладием, для получения 3-хлор-2-цианопиридинов (VII-5). Производные (VII-5), такие как, только в качестве примера, 3-хлор-5-(фенилэтинил)пиколинонитрил, соединяются с бороновыми кислотами (I-1) (или боронатными эфирами (III-3) с получением бензонафтиридина (VII-6). Затем соединение (VII-6) подвергают гидрированию в соответствующих условиях с получением бензонафтиридинов (VII-7). R² имеет значения, определенные в настоящем описании и группы R_A и R_B бензонафтиридинов (VII-7) имеют значения, которые определены в описании для заместителей формулы (I) в соответствующих положениях, или группы R_A и R_B являются группами, которые дополнительно модифицируют для получения соответствующих заместителей формулы (I), которые определены в описании.

В других вариантах осуществления некоторые соединения формулы (I) синтезировали с применением методик, описанных на схеме (VIII).

Схема (VIII)

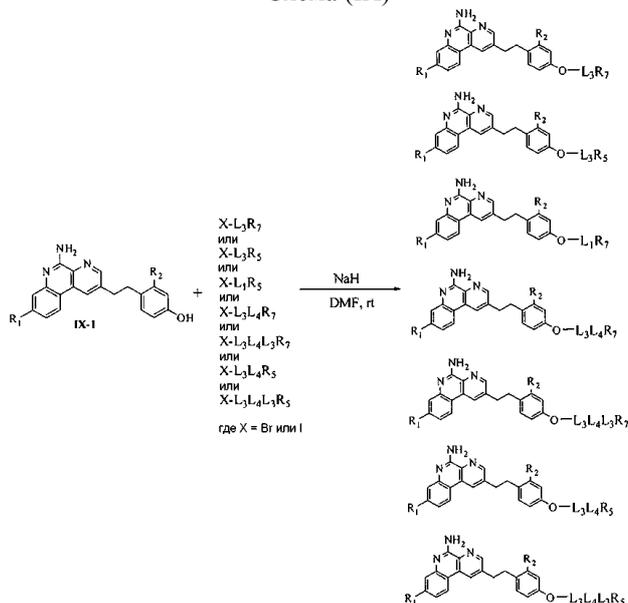


На схеме (VIII) арилбромиды или арилийодиды (VIII-1) соединяются с триэтил(этинил)силаном (или его эквивалентами), в условиях, опосредуемых палладием, с получением (VIII-2). После удаления защитной группы силила, производные ацетилена (VIII-3) соединяются с 3,5-дихлоропиколинонитрилом (VIII-4) в условиях, опосредуемых палладием, с получением 3-хлор-2-цианопиридинов (VIII-5). Производные (VIII-5), такие как, только в качестве примера, 3-хлор-5-(фенилэтинил)пиколинонитрил, восстанавливают до соответствующего 3-хлор-5-фенэтилпиколинонитрила (VIII-6) в условиях гидрирования. Соединение (VIII-6) соединяется с бороновыми кислотами (I-1) (или боронатными эфирами (III-3) с получением бензонафтиридинов (VIII-7). R² представляет собой, указанное в описании, и группы R_A и R_B бензонафтиридинов (VIII-7) являются такими, как указано в описании для заместителей формулы (I) в соответствующих положениях, или R_A и R_B являются группами, которые затем модифицируют для получения со-

ответствующих заместителей формулы (I), как описано здесь.

В других вариантах осуществления некоторые соединения формулы (I) синтезировали с применением методик, описанных на схеме (IX).

Схема (IX)



На схеме (IX) соединение (IX-1), несущее фенольную группу, алкилируют различными электрофилами, где R^1 , R^2 , L^1 , L^3 , L^4 , R^5 и R^7 имеют значения, определенные в настоящем описании. В некоторых примерах аналоги, содержащие алкоксизаместители в положении фенола, получают по способу, приведенному на схеме 1, где соединение, несущее фенольную группу, алкилируют фосфонатсодержащим электрофилом с получением защищенного фосфоната, который обрабатывают подходящим средством для удаления защитных групп, и получают фосфоновую кислоту.

Примеры, представляемые в описании, предложены в качестве иллюстрации, но не с целью ограничения представленных в описании соединений формулы (I) и получения таких соединений. Только в качестве примера, некоторые соединения формулы (I), содержащие заместители карбоновой кислоты в положении С-8, получали, например, как показано на схеме 2.

Только в качестве примера, некоторые соединения формулы (I) с заместителями α, α' -дифторфосфоновой кислоты в положении С-8 получали, как представлено на схеме 3, где первичный спирт окисляли до альдегида, и алкилирование указанного альдегида соответствующим фосфонатным реагентом давало в результате фосфонат. Дополнительно, в результате окисления бензильного спирта получали кетогруппу, и с помощью заключительного гидролиза получали конечное производное фосфоновой кислоты.

Только в качестве примера, некоторые соединения формулы (I), содержащие заместители фосфоновой кислоты в положении С-8, получали, как показано на схеме 4, где альдегид обрабатывали реагентом Виттига для получения винилфосфонатов. Гидролиз фосфоната, например, триметилсилилбромидом дает в результате фосфоновую кислоту. Альтернативно, гидрирование винильной группы давало алкилсвязанный фосфонат, который гидролизовали с получением алкилсвязанной фосфоновой кислоты.

Только в качестве примера, некоторые соединения формулы (I), содержащие группы арилфосфата, получали по схеме 5, где соединение, содержащее фенольную группу, обрабатывали 1-(бромметил)-3-йодобензолом и карбонатом цезия с получением промежуточного соединения, которое участвовало в реакции кросс-сочетания с триэтилфосфатом, катализируемой палладием, с последующим гидролизом с триметилсилилбромидом, с получением соединения содержащего фосфоновую кислоту.

Только в качестве примера, некоторые соединения формулы (I), содержащие заместители α -кетосфосфоновой кислоты в положении С-8, получали по способу, приведенному на схеме 6, где в результате обработки альдегида трис-(триметилсилил) фосфитом с последующим окислением IBX получали фосфоновую кислоту.

Фармакология и полезность.

Когда чужеродный антиген воздействует на иммунную систему, она отвечает, запуская защитную реакцию, которая характеризуется координированным взаимодействием врожденной иммунной системы и приобретенной иммунной системы. Указанные две взаимозависимые системы соответствуют двум взаимоисключающим требованиям: скорость (обеспечивается врожденной иммунной системой) и специфичность (обеспечивается адаптивной иммунной системой).

Врожденная иммунная система служит первой линией обороны против инвазивных патогенов, контролируя патоген, пока развиваются адаптивные реакции. Она срабатывает в первые минуты инфекции,

отвечая в антиген-независимой форме на широко распространенные консервативные структуры патогенов (хотя она не является неспецифической и может различать антигены собственного организма и патогены). Важно, что она также создает воспалительную и костимуляторную среду (иногда называемую сигналом опасности), которая усиливает действие адаптивной иммунной системы и направляет (или ориентирует) клеточный или гуморальный ответ для наиболее адекватного противодействия инфекционному агенту. Рассмотрено создание модуляторов TLR для терапевтического воздействия на врожденную иммунную систему (см. *Nature Medicine*. 2007, 13, 552-559; *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*, 2006, 3, 343-352 и *Journal of Immunology*. 2005, 174, 1259-1268).

Адаптивный ответ становится эффективным в течение дней или недель, но в конечном счете обеспечивает высокую антигенную специфичность, необходимую для полного устранения патогена и создания иммунологической памяти. Преимущественно он опосредуется Т- и В-клетками, которые подвергаются реаранжировке зародышевых генов и характеризуются специфичностью и долговременной памятью. Однако он также предусматривает участие врожденной иммунной системы, включающей "профессиональные" фагоциты (макрофаги, нейтрофилы и т.д.) и гранулоциты (базофилы, эозинофилы и т.д.), которые поглощают бактерии и даже относительно крупных протозойных паразитов. После созревания адаптивного иммунного ответа последующее воздействие на патоген приводит к его быстрому уничтожению благодаря тому, что были созданы высокоспецифичные клетки памяти, которые быстро активируются после воздействия на них узнаваемого антигена.

Аутоиммунные заболевания характеризуются (i) гуморальным ответом или наличием аутоантител на собственный антиген (пример, первичный гипертиреоз при наличии антител к рецептору TSH), или (ii) клеточным ответом, при котором иммунные клетки разрушают неиммунные клетки, из которых происходит собственный антиген (например, тироцит (тиреоидит Хашимото) или клетка β -островков поджелудочной железы (диабет 1-го типа). Многие аутоиммунные заболевания являются комбинацией обоих явлений, например тироидит Хашимото и диабет I типа также характеризуются наличием аутоантител, против тироидной пероксидазы (TPO) или против декарбоксилазы глутаминовой кислоты (GAD)/островковой клетки. Аутоиммунные заболевания часто характеризуются воспалительным компонентом, включая, но без ограничения повышение уровней молекул адгезии (например, молекула адгезии сосудистого эндотелия типа -1 (VCAM-1), и измененной лейкоцитарной адгезией в сосудистом русле, такой как, например, при колите, системной волчанке, системном склерозе, и при сосудистых осложнениях диабета.

Toll-подобные рецепторы (TLR) представляют собой трансмембранные белки типа I, отличающиеся внеклеточным N-концевым доменом, содержащим богатые лейцином повторы (LRR), за которым следует богатая цистеином область, TM-домен, и внутриклеточный (цитоплазматический) концевой сегмент, который содержит консервативный участок, называемый доменом Toll/IL-1 рецептора (TIR). TLR представляют собой паттернраспознающие рецепторы (PRR), которые экспрессируются, главным образом, на иммунных клетках включая, но без ограничения дендритные клетки, Т-лимфоциты, макрофаги, моноциты и естественные клетки-киллеры. Домен LRR является важным для связывания лигандов и ассоциированной со связыванием передачи сигнала, и является общим признаком PRR. Домен TIR является важным для белок-белковых взаимодействий и ассоциирован с врожденным иммунитетом. Домен TIR также относится к большому суперсемейству IL-1 R/TLR, которое состоит из трех подгрупп. Члены первой группы несут иммуноглобулиновые домены во внеклеточной области и включают в себя рецепторы IL-1 и IL-18 и аксессуарные белки, а также ST2. Вторая группа охватывает TLR. Третья группа включает внутриклеточные адапторные белки, важные для передачи сигналов.

TLR представляют собой группу паттернраспознающих рецепторов, которые связываются с патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (PAMPs) бактерий, грибов, простейших и вирусов и действуют как первая линия обороны против внедрившихся патогенов. TLRs незаменимы для индукции экспрессии генов, вовлеченных в воспалительные реакции, и TLR и врожденная иммунная система составляют критическую стадию в развитии антиген-специфического приобретенного иммунитета.

Приобретенный иммунитет (гуморальный или клеточно-опосредованный) ассоциирован с TLR-сигнальным механизмом врожденного иммунитета. Врожденный иммунитет представляет собой защитную реакцию иммунных клеток, которые быстро действуют против повреждающих факторов внешней среды, включая, но без ограничения бактериальные или вирусные агенты. Приобретенный иммунитет представляет собой более медленный ответ, который предусматривает дифференцировку и активацию "наивных" Т-лимфоцитов в клеточные типы Т-хелпер 1 (Th1) или Т-хелпер 2 (Th2). Клетки Th1 преимущественно обеспечивают клеточный иммунитет, тогда как клетки Th2, главным образом, поддерживают гуморальный иммунитет. Несмотря на то что врожденная иммунная система преимущественно представляет собой защитную систему хозяина, патологическая экспрессия сигналов врожденной иммунной системы, исходящих из TLR-пути, непосредственно связана с иницированием аутоиммунно-воспалительных заболеваний.

Все TLR, по-видимому, функционируют в виде гомодимера или гетеродимера при распознавании одной специфической молекулярной детерминанты или набора детерминант, представленных на патогенных организмах, включая бактериальные липополисахариды клеточной поверхности, липобелки, бак-

териальный флагеллин, ДНК бактерий и вирусов и вирусную РНК. Клеточный ответ на активацию TLR предусматривает активацию одного или более факторов транскрипции, приводящих к продукции и секреции цитокинов и костимуляторных молекул, таких как интерфероны, TNF-, интерлейкины, MIP-1 и MCP-1, которые участвуют в уничтожении и выведении патогенной инвазии.

Экспрессия TLR пространственно совпадает с системой взаимодействия хозяина со средой. В то время как у дрозофилы клонировали еще только несколько других Toll-подобных белков, семейство TLR человека состоит по меньшей мере из 11 членов, TLR1-TLR11, что позволяет сделать вывод о перекрытии, тем не менее, отличающихся биологических ответов с учетом различий в клеточной экспрессии и путях передачи сигнала, которые они инициируют. Каждый TLR экспрессируется на различных субпопуляциях лейкоцитов, и каждый TLR является специфичным по своим паттернам экспрессии и чувствительности к PAMP и обнаруживает различные субпопуляции патогенов, обеспечивая бдительный надзор иммунной системы.

Toll-подобный рецептор 1 (TLR1).

TLR1 картирован на хромосоме 4p14, и его последовательность кодирует предполагаемый белок из 786 аминокислот (aa) с 18 N-концевыми LRR и с рассчитанным молекулярным весом 84 кДа. TLR1 наиболее близок структурно к TLR6 и TLR10 с 68 и 48% идентичности общей (aa) последовательности соответственно.

mPНК TLR1 экспрессируется повсеместно и обнаруживается в более высоких концентрациях, чем другие TLR. Среди основных популяций лейкоцитов TLR1 экспрессируется в наиболее высоких количествах моноцитами, но также экспрессируется макрофагами, дендритными клетками, полиморфоядерными лейкоцитами, B-, T- и NK- клетками. *In vivo* обнаружены два транскрипта TLR1 различного размера, что указывает на альтернативный сплайсинг mPНК с образованием двух различных форм белка. *In vitro* экспрессия mPНК TLR1 и белка активируется в моноцитарных лейкоцитарных клетках (THP-1) после PMA-индуцированной дифференцировки. Экспрессия TLR1 активируется аутокринным IL-6, и также возрастает под влиянием IFN- γ , IL-10, и TNF- α . Однако уровень TLR1 остается без изменения при воздействии грамположительных и грамотрицательных бактерий. *Ex vivo* экспрессия TLR1 моноцитами и гранулоцитами снижается после воздействия грамотрицательных бактерий. TLR1 образует гетеродимер с TLR2. TLR1 также гетеродимеризуется с TLR4, что ингибирует активность TLR4.

Toll-подобный рецептор 2 (TLR2).

TLR2 картирован на хромосоме 4q31-32 и кодирует предполагаемый белок из 784 (aa) с 19 N-концевыми LRR, и с рассчитанным молекулярным весом 84 кДа. TLR2 наиболее близок структурно TLR6, с 31% идентичности общей (aa) последовательности.

Экспрессия mPНК TLR2 наблюдается в тканях мозга, сердца, легких и селезенки и является наиболее высокой в PBL, особенно в PBL миеломоноцитарного происхождения. *In vivo* обнаружены два транскрипта TLR2 различного размера, что позволяет предположить альтернативный сплайсинг mPНК. *In vitro* экспрессия mPНК TLR2 и белка активируется в моноцитарных лейкоцитарных клетках (THP-1) после PMA-индуцированной дифференцировки. TLR2 активируется посредством аутокринна IL-6 и TNF- α , IL-1 β и IL-10. Экспрессия mPНК TLR2 возрастает после воздействия грамположительных и грамотрицательных бактерий. TLR2 образует гетеродимеры с TLR1, TLR6, и возможно с TLR10, где каждый комплекс является индивидуально чувствительным к субпопуляциям TLR2-ассоциированных PAMP. Комплексы TLR2 распознают широкий диапазон PAMP, преимущественно из бактерий. Они включают, но без ограничения липоарабиноманнан (LAM), липополисахарид (LPS), липотейхоевую кислоту (LTA), пептидогликан (PGN) и другие гликолипиды, гликобелки и липобелки. Комплексы TLR2 также способны обнаруживать вирусы, включая, но без ограничения вирус кори (MV), цитомегаловирус человека (HCMV) и вирус гепатита C (HCV) и PAMP грибов, включая, но без ограничения зимозан. TLR2 распознает ряд липобелков/липопептидов из различных патогенов, таких как только в качестве примера, грамположительные бактерии, микобактерии, *Trypanosoma cruzi*, грибы и трепонема. Кроме того, TLR2 распознает препараты LPS, полученные не из энтеробактерий, таких как, только в качестве примера, *Leptospira interrogans*, *Porphyromonas gingivalis* и *Helicobacter pylori*. Комплексы TLR2 способны обнаруживать "чужие" паттерны и измененные "свои" паттерны, такие как паттерны, демонстрируемые некротическими клетками. TLR2 мобилизуется фагосомами и вовлекается в интернализацию микробных продуктов клетками.

Toll-подобный рецептор 3 (TLR3).

TLR3 картирован на хромосоме 4q35, и его последовательность кодирует предполагаемый белок из 904 (aa) с 24 N-концевыми LRR и с рассчитанным молекулярным весом 97 кДа. TLR3 наиболее близок структурно TLR5, TLR7, и TLR8, с каждым из которых он имеет 26% идентичности общей (aa) последовательности.

mPНК TLR3 экспрессируется с наиболее высокими уровнями в плаценте и поджелудочной железе. TLR3 экспрессируется дендритными клетками, T-клетками и NK-клетками. *In vivo* обнаружены два транскрипта TLR3 различного размера, что позволяет предположить альтернативный сплайсинг mPНК с образованием двух различных форм белка. *In vitro* TLR3 в PMA-дифференцированных клетках THP-1

умеренно активируется аутокринными IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-10 и TNF- α . мРНК TLR3 возрастает после воздействия грамотрицательных бактерий и в еще большей степени в ответ на грамположительные бактерии. *Ex vivo* экспрессия TLR3 возрастает в моноцитах и гранулоцитах под воздействием грамотрицательных бактерий. TLR3 образует гомодимер и распознает вирусную двухцепочечную РНК (дцРНК). Несмотря на то что в целом считают, что TLR экспрессируются на поверхности клеток, однако TLR, чувствительные к внутренним PAMP, таким как дцРНК в случае TLR3, локализуются внутриклеточно в лизосомальном компартменте.

Toll-подобный рецептор 4 (TLR4).

TLR4 картирован на хромосоме 9q32-33, и он проявляет высокую степень сходства с dToll на протяжении всей (aa) последовательности. Последовательность TLR4 кодирует 839 (aa) белок с 22 N-концевыми LRR-областями и рассчитанным молекулярным весом 90 кДа. TLR4 наиболее близок структурно TLR1 и TLR6, с каждым из которых он имеет 25% идентичности общей (aa) последовательности.

мРНК TLR4 экспрессируется *in vivo* в виде одноцепочечного транскрипта, и обнаруживается в наиболее высоких уровнях в селезенке и PBL. В популяциях PBL TLR4 экспрессируется В-клетками, дендритными клетками, моноцитами, макрофагами, гранулоцитами и Т-клетками. TLR4 также экспрессируется в миеломоноцитарных клетках и имеет наиболее высокие значения в мононуклеарных клетках. *In vitro* экспрессия мРНК TLR4 и белка активизируется в клетках THP-1 после PMA-индуцированной дифференцировки. TLR4 умеренно активируется аутокринными IFN- γ , IL-1 β . Экспрессия мРНК TLR4 в клетках THP-1 остается неизменной под воздействием грамположительных и грамотрицательных бактерий. *Ex vivo* экспрессия TLR4 гранулоцитами и моноцитами активируется под воздействием грамотрицательных бактерий.

TLR4 образует гомодимер и нуждается во внеклеточной ассоциации с дополнительным компонентом, MD-2. Хотя комплексы TLR2 способны распознавать липополисахарид (LPS), обычно TLR4 рассматривают, как рецептор LPS. Однако MD-2-ассоциированные гомодимеры TLR4 не связывают LPS непосредственно. Вначале LPS должен связаться с растворимым LPS-связывающим белком (LBP). Затем LBP связывается либо с растворимым, либо с GPI-связанным CD 14. Дополнительные, зависимые от типа клеток компоненты, необходимые для обнаружения LPS с помощью TLR4, включают CXCR4, GDF-5, CD55, различные белки теплового шока (HSP) и рецепторы комплемента (CR). Комплекс TLR4 также распознает некоторые другие бактериальные PAMP, включая LTA. Кроме того, комплекс TLR4 распознает вирусы, включая респираторный синцитиальный вирус (RSV), вирус гепатита С (HCV) и вирус опухоли молочной железы мышей (MMTV). Комплекс TLR4 также может распознавать эндогенные лиганды, например белки теплового шока (HSP60 и HSP70), фибриноген, домен А фибронектина, олигосахариды гиалуроновой кислоты, гепарансульфат, сурфактантный белок А (SP-A), и β -дефензины. TLR4 также образует гетеродимеры с TLR5, что увеличивает его активность, и также с TLR1, что ингибирует его активность.

Toll-подобный рецептор 5 (TLR5).

TLR5 картирован на хромосоме 1 q41-42, и ген кодирует предполагаемый белок 858 (aa) с рассчитанным молекулярным весом 91 кДа. Он наиболее близок структурно TLR3 с 26% идентичности общей (aa) последовательности.

In vivo мРНК TLR5 экспрессируется в виде одноцепочечного транскрипта в яичниках, предстательной железе, и в PBL. TLR5 экспрессируется несколькими популяциями PBL, при этом наиболее высокий уровень экспрессии обнаруживается в моноцитах. TLR5 также экспрессируется на базолатеральной стороне эпителиальных клеток кишечника и эндотелиальных клеток кишечника субэпителиального компартмента. *In vitro* TLR5 активируется в PMA-дифференцированных клетках THP-1 аутокринными IL-6, IL-10, и TNF- α , но также повышается под действием IFN- γ β . Экспрессия мРНК TLR5 увеличивается после воздействия грамположительных и грамотрицательных бактерий. *Ex vivo* экспрессия TLR5 в гранулоцитах и моноцитах снижается после воздействия грамотрицательных бактерий. TLR5 образует гомодимер, а также гетеродимер с TLR4. Оба комплекса выполняют функцию распознавания белка флагеллина жгутиковых бактерий. Экспрессия человеческого TLR5 в клетках CHO обеспечивает ответ на флагеллин, мономерный компонент бактериального жгутика. Флагеллин активирует эпителиальные клетки в легких, что вызывает продукцию воспалительных цитокинов. Полиморфизм в последовательности стоп-кодона TLR5 ассоциирован с предрасположенностью к пневмонии, вызываемой жгутиковой бактерией *Legionella pneumophila*.

Toll-подобный рецептор 6 (TLR6).

TLR6 картирован на хромосоме 4p14, и последовательность TLR6 кодирует белок из 796 (aa), содержащий 20 N-концевых LRR-мотивов с рассчитанным молекулярным весом 91 кДа. TLR6 наиболее близок структурно TLR1, TLR10, и TLR2 с 68, 46 и 31% общей (aa) идентичности последовательности соответственно.

In vivo транскрипт TLR6 обнаруживают в тимусе, селезенке и легких. Экспрессия мРНК TLR6 является наиболее высокой в В-клетках и моноцитах. *In vitro* экспрессия мРНК TLR6 активируется в клетках THP-1 после PMA-индуцированной дифференцировки. TLR6 умеренно активируется аутокринными

IFN- γ , IL-1 β . Однако экспрессия мРНК TLR6 в клетках THP-1 остается без изменения под воздействием грамположительных и грамотрицательных бактерий. *Ex vivo* экспрессия TLR6 моноцитами и гранулоцитами снижается под воздействием грамотрицательных бактерий. TLR6 образует гетеродимер с TLR2. Считают, что подобно TLR1, TLR6 конкретизирует или усиливает восприимчивость TLR2 к PAMP и обеспечивает возможность передачи сигнала TLR2 при помощи гетеродимеризации.

Toll-подобный рецептор 7 (TLR7).

TLR7 картирован на хромосоме человека Xp22, и последовательность TLR7 кодирует белок из 1049 (aa), содержащий 27 N-концевых LRR, с рассчитанным молекулярным весом 121 кДа. TLR7 наиболее близок структурно TLR8 и TLR9, с 43 и 36% идентичности общей (aa) последовательности соответственно.

In vivo мРНК TLR7 экспрессируется в плаценте, селезенке, лимфоузле и в миндалинной железе. Экспрессия мРНК TLR7 является наиболее высокой в моноцитах, В-клетках и в плазматикоидных дендритных клетках. *In vitro* экспрессия мРНК TLR7 активируется в клетках THP-1 после PMA-индуцированной дифференцировки. TLR7 активируется в высокой степени под влиянием IL-6 и в несколько меньшей степени под влиянием аутокринных IFN- γ , IL-1 β . Экспрессия мРНК TLR7 в клетках THP-1 возрастает после воздействия грамположительных и грамотрицательных бактерий. *Ex vivo* экспрессия TLR7 возрастает после воздействия грамположительных и грамотрицательных бактерий на моноциты, и в еще большей степени на гранулоциты. TLR7 экспрессируется в эндосоме. Роль TLR7 заключается в обнаружении присутствия "чужеродной" одноцепочечной РНК в клетке, как средства ответа на вирусную инвазию. TLR7 является структурно высококонсервативным белком, который распознает богатую гуанозином или уридином одноцепочечную РНК (оцРНК) вирусов, таких как вирус иммунодефицита человека, вирус везикулярного стоматита и вирус гриппа.

Toll-подобный рецептор 8 (TLR8).

TLR8 картирован на хромосоме Xp22, и последовательность TLR8 кодирует белок из 1041 (aa), содержащий 26 N-концевых LRR с рассчитанным молекулярным весом 120 кДа. TLR8 наиболее близок структурно TLR7 и TLR9 с 43 и 35% общей (aa) идентичности последовательности соответственно.

In vivo мРНК TLR8 экспрессируется в легких, плаценте, селезенке, лимфоузле, костном мозге и PBL, и наиболее высокий уровень экспрессии обнаружен в клетках миелоидного происхождения, таких как моноциты, гранулоциты и миелоидные дендритные клетки. *In vitro* экспрессия мРНК TLR8 активируется в клетках THP-1 после PMA-индуцированной дифференцировки. TLR8 активируется в высокой степени аутокринными IL-1 β , IL-6, IL-10, и TNF- α , и еще больше усиливается под воздействием IFN- γ . Экспрессия мРНК TLR8 в клетках THP-1 возрастает после воздействия грамположительных и грамотрицательных бактерий. *Ex vivo* экспрессия TLR8 моноцитами возрастает, в то время как экспрессия TLR8 гранулоцитами уменьшается под воздействием грамотрицательных бактерий. TLR8 экспрессируется в эндосоме. Роль TLR8 заключается в обнаружении присутствия "чужеродной" одноцепочечной РНК в клетке, как средства ответа на вирусную инвазию. TLR8 является структурно высоко консервативным белком, который распознает богатую гуанозином или уридином, одноцепочечную РНК (оцРНК) вирусов, таких как вирус иммунодефицита человека, вирус везикулярного стоматита и вирус гриппа.

Toll-подобный рецептор 9 (TLR9).

TLR9 картирован на хромосоме 3p21, и последовательность TLR9 кодирует 1032 (aa) белок, содержащий 27 N-концевых LRR, с рассчитанным молекулярным весом 116 кДа. TLR9 структурно наиболее близок TLR7 и TLR8, с 36 и 35% идентичности общей (aa) последовательности соответственно.

In vivo мРНК TLR9 экспрессируется в селезенке, лимфоузле, костном мозге и PBL. В частности, мРНК TLR9 экспрессируется с наиболее высокими уровнями в В-клетках и в дендритных клетках. *In vitro* TLR9 умеренно активируется аутокринными IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-10 и TNF- α в PMA-индуцированных клетках THP-1. Экспрессия мРНК TLR9 в клетках THP-1 не изменяется при воздействии грамположительных и грамотрицательных бактерий. *Ex vivo* экспрессия TLR9 в моноцитах и особенно в гранулоцитах снижается под влиянием грамотрицательных бактерий. TLR9 образует гомодимер и распознает метилированную бактериальную ДНК. TLR9 вовлечен в воспалительный ответ на бактериальную ДНК и олигонуклеотиды, которые содержат метилированные последовательности CpG ДНК. TLR9 локализуется внутри клетки, возможно в лизосомальном или эндоцитарном компартментах, где он скорее мог бы встретить PAMP, включая метилированные последовательности CpG ДНК.

TLR9 является рецептором для CpG ДНК и распознает бактериальные и вирусные CpG ДНК. Бактериальная и вирусная ДНК содержит метилированные CpG-мотивы, которые обеспечивают иммуностимуляторную активность. У позвоночных частота CpG-мотивов значительно снижена и остатки цитозина CpG-мотивов являются высокометилированными, что приводит к нейтрализации иммуностимуляторной активности. Структурно существуют по меньшей мере два типа CpG ДНК: В/К-тип CpG ДНК является мощным индуктором воспалительных цитокинов, таких как IL-12 и TNF- α ; А/Д-тип CpG ДНК обладает более высокой способностью вызывать продукцию IFN- α в плазматикоидных дендритных клетках (PDC). TLR9 также вовлечен в патогенез аутоиммунных заболеваний, и может быть важен в развитии диффузного токсического зоба и в продукции ревматоидного фактора аутореактивными В-

клетками. Аналогичным образом, интернализация под влиянием Fc-рецептора может вызвать TLR9-опосредованную индукцию PDC IFN- α с помощью иммунных комплексов, содержащих IgG и хроматин, которые вовлечены в патогенез системной красной волчанки (SLE). TLR9 вовлечен в патогенез некоторых аутоиммунных заболеваний благодаря своей способности распознавать структуру хроматина.

Toll-подобный рецептор 10 (TLR10).

Последовательность TLR10 кодирует предполагаемый белок из 811 (aa) с молекулярным весом 95 кДа. TLR10 наиболее близок структурно TLR1 и TLR6 с 48 и 46% общей (aa) идентичности соответственно.

In vivo экспрессия мРНК TLR10 является наиболее высокой в тканях, относящихся к иммунной системе, включая селезенку, лимфоузел, тимус, и миндалевидную железу. мРНК TLR10 наиболее высоко экспрессируется на В-клетках и на плазмацитоидных дендритных клетках (PDC). In vitro TLR10 умеренно активируется аутокринным IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-10, и TNF- α в PMA-дифференцированных клетках THP-1. Экспрессия мРНК TLR10 в клетках THP-1 увеличивается после воздействия грамположительных и грамотрицательных бактерий. Ex vivo экспрессия TLR10 моноцитами возрастает, наряду с тем, что экспрессия TLR10 гранулоцитами падает под воздействием грамотрицательных бактерий.

Toll-подобный рецептор 11 (TLR11).

TLR11 экспрессируется в эпителиальных клетках мочевого пузыря и опосредует устойчивость к инфицированию уропатогенными бактериями у мыши.

Как показано выше, TLR2 и TLR4 распознают продукты клеточной стенки грамположительных и грамположительных бактерий соответственно; TLR5 распознает структурный эпитоп бактериального флагеллина; TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9 распознают различные формы нуклеиновой кислоты микробного происхождения.

Домены TIR взаимодействуют с несколькими TIR домен-содержащими адапторными молекулами (MyD88), TIR домен-содержащим адапторным белком (TIRAP), TIR домен-содержащим адаптор индуцирующий IFN- β (TRIF), и TRIF-связанной адапторной молекулой (TRAM), которые активируют каскад событий, приводящих к индукции фактора транскрипции.

Сигнальные пути TLR.

TLR располагаются по всей клетке. TLR1, TLR2, TLR3 и TLR4 экспрессируются на клеточной поверхности, тогда как TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9 экспрессируются во внутриклеточных компартментах, таких как эндосомы. TLR3-, TLR7- или TLR9-опосредованное распознавание лигандов предусматривает созревание эндосом и процессинг. Когда макрофаги, моноциты, дендритные клетки или неиммунные клетки, которые становятся антиген-презентирующими клетками, захватывают бактерии путем фагоцитоза, бактерии разрушаются, и ДНК CpG высвобождается в фагосомы-лизосомы или в эндосомы-лизосомы, где они могут взаимодействовать с TLR9, который привлекается из эндоплазматического ретикулума при неспецифическом захвате ДНК CpG. Кроме того, когда вирусы поражают клетки путем рецептор-опосредованного эндоцитоза, содержимое вирусов выходит в цитоплазму при слиянии вирусной мембраны с эндосомальной мембраной. Это приводит к воздействию лигандов TLR, таких как дцПНК, оц-RNA и ДНК CpG на TLR9 в фагосомальном/лизосомальном или эндосомальном/лизосомальном компартментах.

В сигнальных путях, расположенных ниже домена TIR, TIR доменсодержащий адаптор, MyD88, является незаменимым для индукции синтеза воспалительных цитокинов, таких как TNF- α и IL-12, при помощи всех TLR. Хотя TIR доменсодержащие адапторные молекулы (MyD88) являются общими для всех TLR, сигнальные пути отдельных TLR различаются, и активация специфических TLR приводит к нескольким различающимся примерам профилей генной экспрессии. Только в качестве примера, активация сигнальных путей TLR3 и TLR4 приводит к индукции синтеза интерферонов (IFNs) типа I, в то время как активация TLR2- и TLR5-опосредуемых путей не приводит. Однако, активация сигнальных путей TLR7, TLR8 и TLR9 также приводит к индукции IFN типа I, хотя указанная активация происходит при участии механизмов, отличающихся от TLR3/4-опосредованной индукции.

При стимуляции TLR инициируют каскад реакций сигнальной трансдукции, приводящий к активации NF κ B с помощью адапторного белка гена 88 первичного ответа миелоидной дифференциации (MyD88) и рекрутинга киназы, ассоциированной с рецептором IL-1 (IRAK). MyD88-зависимый путь аналогичен передаче сигнала с помощью рецепторов IL-1, и считают, что MyD88, содержащий C-концевой домен TIR и N-концевой домен смерти, ассоциирован с TIR-доменом TLR. После стимуляции MyD88 рекрутирует IRAK-4 в TLR путем взаимодействия доменов смерти обеих молекул, и способствует IRAK-4-опосредованному фосфорилированию IRAK-1. Фосфорилирование IRAK-1 далее приводит к рекрутированию фактора 6, ассоциированного с TNF-рецептором (TRAF6), что вызывает активацию двух различных сигнальных путей. Один путь приводит к активации факторов транскрипции AP-1 с помощью активации MAP-киназ. Другой путь активирует комплекс TA1/TAB, что увеличивает активность комплекса I κ B-киназы (IKK). После активации IKK-комплекс индуцирует фосфорилирование и последующую деградацию NF κ B-ингибитора I κ B, что приводит к внутриядерной транслокации фактора транскрипции NF κ B и инициации транскрипции генов, промоторы которых содержат сайты связывания

NFKB, таких как гены цитокинов. MyD88-зависимый путь играет ключевую роль и является незаменимым для продукции воспалительных цитокинов при помощи всех TLR.

Стимуляция TLRs-экспрессирующих клеток, таких как PBMC, приводит к продукции высоких уровней IL-12, IFN- γ , IL-1, TNF- α , IL-6 и других воспалительных цитокинов. Аналогично, стимуляция TLR7-экспрессирующих клеток, таких как плазмацитоидные дендритные клетки, приводит к продукции высоких уровней интерферон- α (IFN α) и низких уровней воспалительных цитокинов. Таким образом, предполагается, что путем активации дендритных клеток и других антиген-представляющих клеток, вовлечения TLR7, TLR8 или TLR9 и продукции цитокинов приводятся в действие различные механизмы врожденного и приобретенного иммунного ответа, приводящие к деструкции патогенов, инфицированных клеток или опухолевых клеток.

Соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, фармацевтические композиции, и/или комбинации, представленные в настоящем описании, являются агонистами активности Toll-подобного рецептора 7, и применяются в лечении заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с указанными рецепторами TLR7.

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, фармацевтические композиции, и/или комбинации, представленные в настоящем описании, применяются в лечении респираторных заболеваний и/или нарушений, включая, но без ограничения такие заболевания как астма, бронхиальная астма, аллергическая астма, эндогенная астма, экзогенная астма, астма напряжения, лекарственная астма (включая аспириновую и NSAID-индуцированную) и астма, вызванная пылью, хроническое обструктивное легочное заболевание (COPD); бронхит, включая инфекционный и эозинофильный бронхит; эмфизема; бронхоэктаз; кистозный фиброз; саркоидоз; аллергический альвеолит у сельскохозяйственных рабочих; и связанные заболевания; гиперчувствительный пневмонит; фиброз легких, включая криптогенный фиброзирующий альвеолит, идиопатическая интерстициальная пневмония, фиброзное осложнение антинеопластической терапии и хроническая инфекция, включая туберкулез и аспергиллез и другие грибковые инфекции; осложнения трансплантации легких; васкулитные и тромботические нарушения сосудов легких и легочная гипертензия; противокашлевая активность, включая лечение хронического кашля, ассоциированного с воспалительными и секреторными условиями дыхательных путей, и ятрогенный кашель; острый и хронический ринит, включая медикаментозный ринит, и вазомоторный ринит; постоянный и сезонный аллергический ринит, включая неврогенный ринит (сенная лихорадка); полипоз носа; острая вирусная инфекция, включая вирусную инфекцию верхних дыхательных путей, и инфекцию, вызванную респираторным синцитиальным вирусом, гриппом, коронавирусом (включая SARS) и аденовирусом.

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, фармацевтические композиции, и/или комбинации, представленные в настоящем описании, применяются в лечении дерматологических заболеваний, включая, но без ограничения псориаз, атопический дерматит, контактный дерматит или другие экзематозные дерматозы, и реакции гиперчувствительности замедленного типа; фито- и фотодерматит; себорейный дерматит, дерматит герпетиморфный, красный плоский лишай, склеротический атрофический лишай, гангренозная пиодермия, кожный саркоид, базальноклеточная карцинома, актинический кератоз, дисконидная красная волчанка, пузырчатка, пемфигоид, буллезный эпидермолиз, крапивница, болезнь Квинке, васкулиты, токсические эритемы, кожные эозинофилии, очаговая алопеция, зальсины, синдром Свита, синдром Вебера-Крисчена, полиморфная эритема; целлюлит, инфекционный и неинфекционный; панникулит; кожные лимфомы, немеланомный рак кожи и другие диспластические повреждения; медикаментозные нарушения, включая сегментарную медикаментозную сыпь.

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, фармацевтические композиции, и/или комбинации, представленные в настоящем описании, применяются в лечении глазных заболеваний и/или нарушений, включая, но без ограничения блефарит; конъюнктивит, включая постоянный и весенний аллергический конъюнктивит; ирит; передний и задний увеит; хориоидит; аутоиммунные, дегенеративные или воспалительные нарушения, поражающие сетчатку; офтальмит, включая симпатический офтальмит; саркоидоз; инфекции, включая вирусные, грибковые и бактериальные.

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, фармацевтические композиции и/или комбинации, представленные в настоящем описании, применяются в лечении заболеваний и/или нарушений мочеполовой системы, включая, но без ограничения нефрит, включая интерстициальный и гломерулонефрит; нефротический синдром; цистит, включая острый и хронический (интерстициальный) цистит и хроническую язву мочевого пузыря; острый и хронический уретрит, простатит, эпидидимит, оофорит и сальпингит; вульво-вагинит; болезнь Пейрони; эректильная дисфункция (мужская и женская).

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, фармацевтические композиции, и/или комбинации, представленные в настоящем описании, применяются в лечении отторжения аллотрансплантата, вклю-

чая, но без ограничения острое и хроническое отторжение, например, после трансплантации почки, сердца, печени, легкого, костного мозга, кожи или роговицы или после переливания крови; или хроническую реакцию трансплантат против хозяина.

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, фармацевтические композиции, и/или комбинации, представленные в настоящем описании, применяются в лечении других аутоиммунных и аллергических нарушений, включая, но без ограничения ревматоидный артрит, синдром раздраженной толстой кишки, системная красная волчанка, рассеянный склероз, тиреоидит Хашимото, Болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника (IBD), болезнь Грейвса, болезнь Аддисона, сахарный диабет, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, атонический фасциит, гипер-IgE-синдром, антифосфолипидный синдром и синдром Сезари.

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, фармацевтические композиции, и/или комбинации, представленные в настоящем описании, применяются в лечении рака, включая, но без ограничения, рак предстательной железы, молочной железы, легких, яичников, поджелудочной железы, кишечника и толстой кишки, желудка, кожи и опухоли мозга, и злокачественные новообразования поражающие костный мозг (включая лейкемии) и лимфопролиферативную систему, такие как Ходжкинская и неходжкинская лимфома; включая предотвращение и лечение метастазирования и рецидивов опухолей, и паранеопластических синдромов. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, и фармацевтические композиции, представленные в настоящем описании, являются полезными в качестве модуляторов активности Toll-подобного рецептора, и применяются в лечении неоплазий, включая, но без ограничения базальноклеточную карциному, плоскоклеточную карциному, актинический кератоз, меланому, карциномы, саркомы, лейкемии, почечноклеточный рак, саркому Капоши, миелогенную лейкемию, хронический лимфолейкоз и множественную миелому.

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, фармацевтические композиции, и/или комбинации, представленные в настоящем описании, применяются в лечении инфекционных заболеваний, включая, но без ограничения вирусные заболевания, такие как остроконечные кондиломы, простые бородавки, подошвенные бородавки, респираторный синцитиальный вирус (RSV), гепатит B, гепатит C, вирус денге, вирус простого герпеса (только в качестве примера, HSV-I, HSV-II, CMV, или VZV), контагиозный моллюск, коровья оспа, натуральная оспа, лентивирус, вирус иммунодефицита человека (HIV), вирус иммунодефицита человека (HPV), цитомегаловирус (CMV), вирус ветряной оспы (VZV), риновирус, энтеровирус, аденовирус, коронавирусы (например, SARS), грипп, парагрипп, вирус эпидемического паротита, вирус кори, паповавирус, гепаднавирус, флавивирус, ретровирус, аренавирус (только в качестве примера, LCM, вирус Хунин, вирус Мачупо, вирус Гуанарито и лихорадка Ласса) и филовирусы (только в качестве примера, вирус Эбола или вирус Марбург).

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, фармацевтические композиции, и/или комбинации, представленные в настоящем описании, применяются в лечении бактериальных, грибковых, и протозойных инфекций, включая, но без ограничения, туберкулез и микобактерии, проказа; *Pneumocystis carinii*, криптоспоридиоз, гистоплазмоз, токсоплазмоз, трипаносомальную инфекцию, лейшманиоз, инфекции, вызванные бактериями рода *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* и *Chlamydia*, и грибковые инфекции, такие как кандидоз, аспергиллез, гистоплазмоз, криптококковый менингит.

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры применяют в качестве иммуностимуляторов. В некоторых вариантах осуществления соединения, представленные в настоящем описании, включают в иммуногенные композиции или применяют в комбинации с иммуногенными композициями. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции являются полезными в качестве вакцин, и соединение представлено в количестве, достаточном, чтобы усилить иммунный ответ на вакцину, или на антиген, смешанный с соединением. Вакцина содержит по меньшей мере один антиген, который может представлять собой бактериальный антиген или рак-ассоциированный антиген или вирусный антиген. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, и фармацевтические композиции, представленные в настоящем описании, включают в терапевтические вакцины или применяют в комбинации с терапевтическими вакцинами. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры, и фармацевтические композиции, представленные в настоящем описании, включают в профилактические вакцины или применяют в комбинации с профилактическими вакцинами. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры и фармацевтические композиции, представленные в настоящем описании, включают или применяют в комбинации с

терапевтическими противовирусными вакцинами. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, N-оксиды, пролекарства и изомеры и фармацевтические композиции, представленные в настоящем описании, включают или применяют в комбинации с противораковыми вакцинами.

В других вариантах осуществления соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, описанные здесь, являются полезными для лечения поврежденной или стареющей кожи, например рубцов и морщин.

Введение и фармацевтические композиции.

Для терапевтических применений соединений формулы (I), или их фармацевтически приемлемых солей, сольватов, N-оксидов, пролекарств и изомеров, описанных здесь, такие соединения вводят в терапевтически эффективных количествах, либо отдельно, либо в виде части фармацевтической композиции. Таким образом, в описании предоставляются фармацевтические композиции, которые содержат по меньшей мере одно соединение формулы (I), предоставляемое здесь, его фармацевтически приемлемые соли и/или сольваты, и один или более фармацевтически приемлемых носителей, разбавителей, или вспомогательных веществ. Кроме того, такие соединения и композиции вводят по отдельности или в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами. Способ введения таких соединений и композиций включает, но без ограничения пероральное введение, ректальное введение, парентеральное введение, внутривенное введение, введение в стекловидное тело, внутримышечное введение, ингаляционное введение, интраназальное введение, местное введение, глазное введение или ушное введение.

Терапевтически эффективное количество будет изменяться, помимо прочего, в зависимости от показанного заболевания, тяжести заболевания, возраста и относительного состояния здоровья субъекта, эффективности вводимого соединения, способа введения и желаемого лечения. В некоторых вариантах осуществления убедительные результаты показывают, что дневная доза соединения формулы (I), которая должна вводиться систематически, составляет приблизительно от 0,03 до 2,5 мг/кг веса тела. В некоторых вариантах осуществления дневная доза соединения формулы (I), вводимая с помощью ингаляции, находится в диапазоне от 0,05 мкг на 1 кг веса тела, мкг/кг) до 100 мкг на 1 кг веса тела, мкг/кг). В других вариантах осуществления дневная доза соединения формулы (I), вводимая перорально, находится в диапазоне от 0,01 мкг на 1 кг веса тела, мкг/кг) до 100 мг на 1 кг веса тела (мг/кг). Показанная дневная доза для крупных млекопитающих, например для человека, находится в диапазоне приблизительно от 0,5 до 100 мг соединения формулы (I), удобно вводимых, например, отдельными дозами до четырех раз в день или в форме контролируемого высвобождения. В конкретном варианте осуществления дозированные лекарственные формы для перорального введения содержат приблизительно 1-50 мг соединения формулы (I).

Другие аспекты, представленные в настоящем описании, представляют собой способы получения фармацевтической композиции, которая содержит по меньшей мере одно соединение формулы (I), предоставляемое здесь, или его фармацевтически приемлемые соли и/или сольваты. В некоторых вариантах осуществления такие способы включают смешивание соединения формулы (I), предоставляемого здесь, и его фармацевтически приемлемых солей и сольватов с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, разбавителями или вспомогательными веществами. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие соединение формулы (I) в свободной форме или в форме фармацевтически приемлемой соли или сольвата, в ассоциации по меньшей мере с одним фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или вспомогательным веществом производят с помощью способов смешивания, гранулирования и/или покрытия. В других вариантах осуществления указанные композиции необязательно содержат вспомогательные вещества, такие как консерванты, стабилизаторы, смачивающие реагенты или эмульгирующие вещества, усилители растворимости, соли для регуляции осмотического давления и/или буферы. В других вариантах осуществления указанные композиции стерилизуют.

Пероральные лекарственные формы.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), вводят перорально в виде дискретных лекарственных форм, где такие лекарственные формы включают, но без ограничения капсулы, желатиновые капсулы, капли, таблетки, жевательные таблетки, порошки, гранулы, сиропы, ароматизированные сиропы, растворы или суспензии в водных или неводных жидкостях, съедобные пены или взбитые массы и жидкие эмульсии масло-в-воде или жидкие эмульсии вода-в-масле.

Капсулы, желатиновые капсулы, капли, таблетки, жевательные таблетки, порошки или гранулы, применяемые для перорального введения по меньшей мере одного соединения формулы (I), получают путем смешивания по меньшей мере одного соединения формулы (I) (активный ингредиент) по меньшей мере с одним вспомогательным веществом, с применением стандартных методов составления фармацевтических смесей. Неограничивающие примеры вспомогательных веществ, используемых в пероральных лекарственных формах, описанных здесь, включают, но без ограничения связующие вещества, наполнители, разрыхлители, лубриканты, абсорбенты, окрашивающие вещества, вкусоароматические добавки,

консерванты и подсластители.

Неограничивающие примеры таких связующих веществ включают, но без ограничения кукурузный крахмал, картофельный крахмал, крахмальный клейстер, прежелатинизированный крахмал или другие крахмалы, сахара, желатин, натуральные и синтетические смолы, такие как камедь, альгинат натрия, альгиновая кислота, другие альгинаты, трагакант, гуаровая камедь, целлюлоза и ее производные (только в качестве примера, этил целлюлоза, ацетатцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза кальция, карбоксиметилцеллюлоза натрия, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза и микрокристаллическая целлюлоза), алюмосиликат магния, поливинилпирролидон и их комбинации.

Неограничивающие примеры таких наполнителей включают, но без ограничения тальк, карбонат кальция (например, гранулы или порошок), микрокристаллическую целлюлозу, целлюлозу в порошке, декстраны, каолин, маннит, кремниевую кислоту, сорбит, крахмал, прежелатинизированный крахмал и их смеси. В некоторых вариантах осуществления связующее вещество или наполнитель в фармацевтических композициях, представленных здесь, представлены в количестве приблизительно 50-99 вес.% фармацевтической композиции или лекарственной формы.

Неограничивающие примеры таких разрыхлителей включают, но без ограничения агар-агар, альгиновую кислоту, альгинат натрия, карбонат кальция, карбонат натрия, микрокристаллическую целлюлозу, кроскармеллозу натрия, кросповидон, полакрилин натрия, натрия гликолят крахмала, картофельный или маниоковый крахмал, прежелатинизированный крахмал, другие крахмалы, глину, другие альгины, другие виды целлюлозы, смолы, и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления количество разрыхлителя, используемого в фармацевтических композициях представленные в настоящем описании, составляет приблизительно 0,5-15 вес.% разрыхлителя, тогда как в других вариантах осуществления количество составляет приблизительно от 1 до 5 вес.% разрыхлителя.

Неограничивающие примеры таких лубрикантов включают, но без ограничения стеарат натрия, стеарат кальция, стеарат магния, стеариновую кислоту, минеральное масло, светлое минеральное масло, глицерин, сорбит, маннит, полиэтиленгликоль, другие гликоли, лаурилсульфат натрия, тальк, гидрогенизированное растительное масло (только в качестве примера, арахисовое масло, хлопковое масло, подсолнечное масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло), стеарат цинка, олеат натрия, этилолеат, этиллауреат, агар, кремнезем, силоид силикагель (AEROSIL 200, производства фирмы W.R. Grace Co. of Baltimore, Md.), коагулированный аэрозоль синтетического кремнезема (продаваемого фирмой Degussa Co. of Piano, Tex.), CAB-O-SIL ((пирогенный продукт диоксида кремния фирмы Cabot Co. of Boston, Mass.) и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления количество лубрикантов, используемое в фармацевтических композициях, представленных здесь, составляет менее чем 1 процент по весу фармацевтических композиций или лекарственных форм.

Неограничивающие примеры таких разбавителей включают, но без ограничения лактозу, декстрозу, сахарозу, маннит, сорбит, целлюлозу, глицин или их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления таблетки и капсулы получают путем равномерного смешивания по меньшей мере одного соединения формулы (I) (активные ингредиенты) с жидкими носителями, мелкоизмельченными твердыми носителями, или с ними обоими, и затем придание продукту желаемой формы, если необходимо. В некоторых вариантах осуществления таблетки получают прессованием. В других вариантах осуществления таблетки получают формованием.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение формулы (I) вводят перорально, в виде лекарственной формы с контролируемым высвобождением. Такие лекарственные формы применяют для обеспечения медленного или контролируемого высвобождения одного или более соединений формулы (I). Контролируемое высвобождение получают, например, с использованием гидроксипропилметилцеллюлозы, других полимерных матриц, гелей, проницаемых мембран, осмотических систем, многослойных покрытий, микрочастиц, липосом, микросфер, или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления лекарственные формы с контролируемым высвобождением используют, чтобы продлить активность соединения формулы (I), уменьшить кратность применения лекарственного препарата, и улучшить соблюдение больным режима и схемы лечения.

Для введения соединений формулы (I) в виде пероральных жидкостей, таких как раствор, сиропы и эликсиры, их готовят в дозированных лекарственных формах, так что заданное количество раствора, сиропов или эликсиров содержит заранее установленное количество соединения формулы (I). Сиропы готовят растворением соединения в подходящем ароматизированном водном растворе, тогда как эликсиры готовят с применением нетоксической спиртовой среды для лекарства. Суспензии создают диспергированием соединения в нетоксической среде для лекарства. Неограничивающие примеры вспомогательных веществ, используемых в пероральных жидкостях для перорального введения включают, но без ограничения солиubilизаторы, эмульгаторы, вкусовые добавки, консерванты и окрашивающие вещества. Неограничивающие примеры солиubilизаторов и эмульгаторов включают, но без ограничения воду, гликоли, масла, спиты, этоксилированный изостеариловый спирт и эфиры полиоксиэтиленсорбита. Неограничивающие примеры консервантов включают, но без ограничения, бензоат натрия. Неограничивающие примеры вкусоароматических добавок включают, но без ограничения, мятное масло или натуральные подслащивающие вещества или сахарин или другие искусственные подслащивающие вещества.

Парентеральные лекарственные формы.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), вводят парентерально различными путями, включая, но без ограничения подкожное, внутривенное (включая болюсную инъекцию), внутримышечное, и внутриаартериальное введение.

Такие парентеральные лекарственные формы вводят в форме стерильных или стерилизуемых инъекционных растворов, суспензий, сухих и/или лиофилизированных продуктов, готовых к растворению или суспендированию в фармацевтически приемлемой среде для инъекции (восстанавливаемые порошки), и эмульсий. Среда для лекарства, применяемые в таких лекарственных формах, включают, но без ограничения воду для инъекций USP; водные среды для лекарства, такие как, но без ограничения физиологический раствор для инъекций, раствор Рингера, декстроза для инъекций, раствор декстрозы и хлорида натрия для инъекций и лактатный раствор Рингера для инъекций; смешивающиеся с водой среды для лекарства, такие как, но без ограничения этиловый спирт, полиэтиленгликоль и полипропиленгликоль; и неводные среды для лекарств, такие как, но без ограничения кукурузное масло, хлопковое масло, арахисовое масло, кунжутное масло, этилолеат, изопропилмиристал и бензилбензоат.

Трансдермальные лекарственные формы.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), вводят трансдермально. Такие трансдермальные лекарственные формы включают пластыри "резервуарного типа" или "матричного типа", которые помещают на кожу и носят в течение определенного периода времени, чтобы обеспечить проникновение желаемого количества соединения формулы (I). Только в качестве примера, такие трансдермальные устройства имеют форму бандаж, включающего поддерживающий элемент, резервуар, содержащий соединение, необязательно с носителями, необязательно барьер, контролирующей скорость, для поступления соединения к коже хозяина с контролируемой и заранее заданной скоростью в течение длительного периода времени, и средства для фиксации устройства на коже. В других вариантах осуществления используются матриксные трансдермальные препараты.

Препараты для трансдермальной доставки соединения формулы (I) содержат эффективное количество соединения формулы (I), носитель и разбавитель по выбору. Носитель включает, но без ограничения абсорбируемые фармакологически приемлемые растворители для облегчения прохождения через кожу хозяина, такие как вода, ацетон, этанол, этиленгликоль, пропиленгликоль, бутан-1,3-диол, изопропилмиристал, изопропилпальмитат, минеральное масло, и их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления такие системы трансдермальной доставки включают вещества, способствующие проникновению, для облегчения доставки одного или более соединений формулы (I) в ткань. Такие вещества, способствующие проникновению, включают, но без ограничения ацетон; различные спирты, такие как этанол, олеил и тетрагидрофурил; алкилсульфоксиды, такие как диметилсульфоксид; диметилацетамид; диметилформамид; полиэтиленгликоль; пирролидоны, такие как поливинилпирролидон; виды коллидона (повидон, поливидон); мочевины; и различные водорастворимые или нерастворимые сложные эфиры сахаров, такие как Tween 80 (полисорбат 80) и Span 60 (сорбитан моностеарат).

В других вариантах осуществления значение pH такой трансдермальной фармацевтической композиции или лекарственной формы, или ткани, на которую наносят фармацевтическую композицию или лекарственную форму, корректируют для улучшения поступления одного или более соединений формулы (I). В других вариантах осуществления корректируют полярность растворителя-носителя, его ионную силу или тоничность улучшения поступления. В других вариантах осуществления соединения, такие как стеараты, добавляют для предпочтительно изменения гидрофильности или липофильности одного или более соединений формулы (I) для того, чтобы улучшить поступление лекарства. В некоторых вариантах осуществления такие стеараты служат в качестве липидной среды для препарата, в качестве эмульгирующего агента или суфракта, и в качестве агента, увеличивающего поступление или способствующего проникновению. В других вариантах осуществления используют различные соли, гидраты или сольваты соединений формулы (I) для дополнительной корректировки свойств получаемой композиции.

Топические лекарственные формы.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение формулы (I) вводят путем местного применения фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение формулы (I) в форме лосьонов, гелей, мазей, растворов, эмульсий, суспензий или кремов. Подходящие препараты для местного применения на коже представляют собой водные растворы, мази, кремы или гели, тогда как препараты для глазного введения являются водными растворами. Такие препараты необязательно содержат солюбилизаторы, стабилизаторы, вещества, повышающие тоничность, буферы и консерванты.

Такие топические препараты включают по меньшей мере один носитель и необязательно по меньшей мере один разбавитель. Такие носители и разбавители включают, но без ограничения воду, ацетон, этиловый спирт, этиленгликоль, пропиленгликоль, бутан-1,3-диол, изопропилмиристал, изопропилпальмитат, минеральное масло и их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления такие топоческие препараты включают вещества, способствующие проникновению, для облегчения поступления одного или более соединений формулы (I) в ткани. Такие вещества, способствующие проникновению, включают, но без ограничения ацетон; различные спирты, такие как этиловый спирт, олеил и тетрагидрофурил; алкилсульфоксиды, такие как диметилсульфоксид; диметилацетамид; диметилформамид; полиэтиленгликоль; пирролидоны, такие как поливинилпирролидон; виды коллидона (повидон, поливидон); мочевины; и различные водорастворимые или нерастворимые сложные эфиры сахаров, такие как Tween 80 (полисорбат 80) и Span 60 (сорбитан моностеарат).

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), вводят с помощью ингаляции. Лекарственные формы для ингаляционного введения создают в виде аэрозолей или сухих порошков. Аэрозольные препараты для ингаляционного введения содержат раствор или тонкодисперсную суспензию по меньшей мере одного соединения формулы (I) в фармацевтически приемлемом водном или неводном растворителе. Кроме того, такие фармацевтические композиции необязательно содержат порошковую основу, такую как лактоза, глюкоза, трегалоза, маннит или крахмал и необязательно модификатор поведения, такой как L-лейцин или другая аминокислота, и/или соли металлов стеариновой кислоты, такие как стеарат магния или стеарат кальция.

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) вводят непосредственно в легкие ингаляцией с применением дозирующего ингалятора ("MDI"), в котором используются кассеты, которые содержат подходящий пропеллент с низкой температурой кипения, например дихлордифторметан, трихлорфторметан, дихлортетрафторэтан, диоксид углерода или другой подходящий газ, или с применением устройства порошкового ингалятора (DPI), в котором используется выброс газа для создания внутри контейнера облака сухого порошка, которое затем ингалируется пациенту. В некоторых вариантах осуществления создают капсулы и картриджи из желатина для применения в ингаляторе или инсуффляторе, содержащие порошкообразную смесь соединения формулы (I) и порошковую основу, такую как лактоза или крахмал. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) доставляются в легкие с применением устройства для жидкого спрея, где в указанных устройствах используются очень маленькие сопловые отверстия, чтобы перевести в аэрозольное состояние жидкие лекарственные препараты, которые затем могут ингалироваться непосредственно в легкие. В других вариантах осуществления соединения формулы (I) доставляются в легкие с помощью устройства небулайзера, где небулайзеры создают аэрозоли из жидких лекарственных препаратов с помощью ультразвуковой энергии с образованием тонкодисперсных частиц, которые можно легко ингалировать. В других вариантах осуществления соединения формулы (I) доставляются в легкие с применением электрогидродинамического ("ЭНД") аэрозольного устройства, где в указанных ЭНД аэрозольных устройствах используется электрическая энергия, чтобы перевести в аэрозольное состояние жидкие лекарственные растворы или суспензии.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемые соли и сольваты, описанные здесь, также содержит один или более усилителей абсорбции. В некоторых вариантах осуществления такие усилители абсорбции включают, но без ограничения гликохолат натрия, каприновокислый натрий, N-лаурил-p-D-мальтопиранозид, ЭДТА и смешанные мицеллы.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), вводят назально. Лекарственные формы для назального введения создаются в виде аэрозолей, растворов, капель, гелей или сухих порошков.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), вводят ректально в форме суппозитория, клизм, мазей, кремов, ректальных пен или ректальных гелей. В некоторых вариантах осуществления такие суппозитории получают из жирных эмульсий или суспензий, масло какао или других глицеридов.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), вводят офтальмически в виде глазных капель. Указанные препараты являются водными растворами, которые необязательно содержат солюбилизаторы, стабилизаторы, вещества, регулирующие тоничность, буферы и консерванты.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), вводят в ухо в виде ушных капель. Такие препараты являются водными растворами, которые необязательно содержат солюбилизаторы, стабилизаторы, агенты, увеличивающие тоничность, буферы и консерванты.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), создают в виде депо-препарата. Такие препараты вводят с помощью имплантации (например, подкожной или внутримышечной) или внутримышечной инъекции. В некоторых вариантах осуществления такие препараты содержат полимерные или гидрофобные вещества (например, в виде эмульсии в приемлемом масле) или ионообменные смолы, или в виде труднорастворимых производных, например в виде труднорастворимой соли.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтические композиции, содержащие по мень-

шей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для перорального введения для лечения вирусных заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с активностью TLR7.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для перорального введения для лечения инфекционных заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с активностью TLR7.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для перорального введения для лечения бактериальных заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с TLR7.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для перорального введения для лечения грибковых заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с TLR7.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для перорального введения для лечения рака, ассоциированного с TLR7.

В дополнительном варианте осуществления, фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для внутривенного введения для лечения рака, ассоциированного с TLR7.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для перорального введения для лечения заболеваний отторжения аллотрансплантата и/или нарушений, ассоциированных с TLR7.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для перорального введения для лечения заболеваний и/или нарушений мочеполовой системы, ассоциированных с TLR7.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для введения в виде глазных капель для лечения глазных заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с TLR7.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для местного введения для лечения дерматологических заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с TLR7.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для местного введения для лечения актинического кератоза. В дополнительном варианте осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для местного введения в виде крема для лечения актинического кератоза.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для местного введения для лечения базальноклеточной карциномы. В дополнительном варианте осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для местного введения в виде крема для лечения базальноклеточной карциномы.

В дополнительном варианте осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), адаптируют для введения с помощью ингаляции для лечения респираторных заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с TLR7. В некоторых вариантах осуществления респираторное заболевание является аллергической астмой.

В описании предоставляются соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли и сольваты и фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), и/или его фармацевтически приемлемые соли и сольваты, для активации TLR7, и, таким образом, используются для предотвращения или лечения заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с активностью TLR7. Такие соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли и сольваты, и фармацевтические композиции представляют собой агонисты TLR7.

Также здесь предоставляются способы лечения субъекта, имеющего заболевание и/или нарушение, ассоциированное с активностью TLR7, где способы включают введение субъекту эффективного количества соединения формулы (I) или фармацевтически приемлемой соли, сольвата, либо отдельно, либо в виде части фармацевтической композиции, как описано здесь.

В описании предоставляется применение соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, в получении лекарственного средства для лечения заболевания или нарушения, ассоциированного с активностью TLR7.

Комбинированное лечение.

В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I), предоставляемое здесь, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, или фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно соединение формулы (I), предоставляемое здесь, вводят отдельно (без дополнительного терапевтического агента) для лечения одного или более заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с активностью TLR, описанных здесь.

В других вариантах осуществления соединение формулы (I) предоставляемое здесь, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, или фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно соединение формулы (I), предоставляемое здесь, вводят в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими агентами для лечения одного или более заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с активностью TLR7, описанного здесь.

В других вариантах осуществления соединения формулы (I) представленные в настоящем описании, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, или фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно соединение формулы (I), предоставляемое здесь, включают в состав в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими агентами и вводят для лечения одного или более заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с активностью TLR7, описанных здесь.

Соединение формулы (I), предоставляемое здесь, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, или фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно соединение формулы (I), предоставляемое здесь, вводят последовательно с одним или более дополнительными терапевтическими агентами для лечения одного или более заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с активностью TLR7, описанных здесь.

В других вариантах осуществления виды комбинированного лечения, представленные в настоящем описании, включают введение соединения формулы (I) предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I), перед введением одного или более дополнительных терапевтических агентов для лечения одного или более заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с активностью TLR7, описанных здесь.

В других вариантах осуществления виды комбинированного лечения, представленные в настоящем описании, включают введение соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I), после введения одного или более дополнительных терапевтических агентов для лечения одного или более заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с активностью TLR7, описанных здесь.

В некоторых вариантах осуществления виды комбинированного лечения, представленные в настоящем описании, включают введение соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I), одновременно с одним или более дополнительными терапевтическими агентами для лечения одного или более заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с активностью TLR7, описанных здесь.

В некоторых вариантах осуществления виды комбинированного лечения, представленные в настоящем описании, включают введение соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I), в составе с одним или более дополнительными терапевтическими агентами для лечения одного или более заболеваний и/или нарушений, ассоциированных с активностью TLR7, описанных здесь.

В некоторых вариантах осуществления видов комбинированного лечения, описанных здесь, соединения формулы (I), или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты являются агонистами активности TLR7.

В некоторых вариантах осуществления видов комбинированного лечения, описанных здесь, соединения формулы (I), представленные в настоящем описании, или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты, и дополнительный терапевтический агент(ы) действует аддитивно. В некоторых вариантах осуществления видов комбинированного лечения, описанных здесь, соединения формулы (I), представленные в настоящем описании, или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты, и дополнительный терапевтический агент(ы) действует синергически.

В других вариантах осуществления соединения формулы (I), предоставляемое здесь, или его фармацевтически приемлемые соли или сольваты, или фармацевтическую композицию, содержащую соединение формулы (I), вводят пациенту, который ранее не получал или который не получает в настоящее время лечение другим терапевтическим агентом.

Дополнительные терапевтические агенты, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом включают, но без ограничения антибиотики или антибактериальные средства, противорвотные средства, противогрибковые средства, противовоспалительные средства, противовирусные средства, иммуномодуляторные средства, цитокины, антидепрессанты, гормоны, алкилирующие агенты, антитаболиты, противоопухолевые антибиотики, антимитотические агенты, ингибиторы топоизомеразы, цитостатические агенты, противоинвазивные средства, антиангиогенные средства, ингибиторы функции фактора роста, ингибиторы вирусной репликации, ингибиторы вирусных ферментов, противораковые агенты, α -интерфероны, β -интерфероны, рибавирин, гормоны, цитокины, и другие модуляторы Toll-подобных рецепторов.

Антибиотики или антибактериальные средства, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью

или сольватом, включают, но без ограничения гидрохлорид валганцикловира, метронидазол, бета-лактамы, макролиды (такие как, только в качестве примера, азитромицин, тобрамицин (ТОБИ™)), цефалоспорины (такие как, только в качестве примера, цефаклор, цефадроксил, цефалексин, цефрадин, цефамандол, цефатризин, сефазедон, цефиксим, цефозопран, цефпимизол, цефуроксим, цефпирамид, цефпрозил, цефпиром, KEFLEX™, VELOSEF™, CEFTIN™, CEZIL™, SECLOR™, SUPRAX™ и DURICEF™), кларитромицин (такой как, только в качестве примера, кларитромицин и ВІАХІN™), эритромицин (такой как, только в качестве примера, эритромицин и ЕМУСІN™), ципрофлоксацин, СІРРО™, норфлоксацин (такой как, только в качестве примера, NOROXIN™), аминогликозидные антибиотики (такие как, только в качестве примера, апрамицин, арбекацин, бамбермицин, бутиросин, дибекацин, неомицин, ундециленат, нетилимицин, паромомицин, рибостамицин, сизомицин, и спектиномицин), антибиотики группы амфеникола (такие как, только в качестве примера, азидамфеникол, хлорамфеникол, флорфеникол, и тиамфеникол), анзамициновые антибиотики (такие как, только в качестве примера, рифамид и рифампин), карбацефемы (такие как, только в качестве примера лоракарбеф), карбапенемы (такие как, только в качестве примера, биापенем и имипенем), цефамицины (такие как, только в качестве примера, цефбуперазон, цефметазол и цефминокс), монобактамы (такие как, только в качестве примера азтреонам, карумонам, и тигемонам), оксацефемы (такие как, только в качестве примера, фломексеф и москалактамы), пенициллины (такие как, только в качестве примера, амдиноциллин, амдиноциллин пиваксил, амоксициллин, бакampiциллин, бензилпенициллиновая кислота, бензилпенициллин натрия, эпициллин, фенбенициллин, флоксациллин, пенамциллин, пенетамата гидройодид, О-бенетамин пенициллин, пенициллин О, пенициллин V, пенициллин V бензатин, пенициллин V гидрабамин, пенимепициклин, фенцихициллин натрия, V-CILLIN K™ и PEN VEE K™), линкозамиды (такие как, только в качестве примера, клиндамицин и линкомицин), амфомицин, бацитрацин, капреомицин, колистин, эндурацидин, энвиомицин, тетрациклины (такие как, только в качестве примера, апициклин, хлортетрациклин, кломотициклин и демеклоциклин), 2,4-диаминопиримидины (такие как, только в качестве примера, бродимоприм), нитрофураны (такие как, только в качестве примера, фуралтадон и хлорид фуразолина), хинолоны и их аналоги (такие как, только в качестве примера, фторхинолон, офлоксацин, цинноксацин, клинафлоксацин, флумеквин, грепафлоксацин и FLOXIN™), сульфаниламиды (такие как, только в качестве примера, ацетилсульфаметоксипиразин, бензилсульфамид, ноприлсульфамид, фталилсульфацетамид, сульфахризидин и сульфацин), сульфоны (такие как, только в качестве примера диатимосульфон, глюкоосульфон натрия и солаосульфон), циклосерин, мупироцин, туберин и их комбинации.

Противорвотные средства, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом, включают, но без ограничения метоклопромид, домперидон, прохлорперазин, прометазин, хлорпромазин, триметобензамид, ондансетрон, гранизетрон, гидроксизин, ацетхиллеуцин моноэтаноламин, ализаприд, азацетрон, бензквинамид, биэтанаутин, бромоприд, буклизин, клебоприд, циклизин, дименгидрилат, дифенидол, долазетрон, меклизин, металлалат, метопимазин, набилон, оксиперндил, пипамазин, скополамин, сульпирид, тетрагидроканнабинолы, тиэтилперазин, тиопроперазин, тропизетрон и их комбинации.

Противогрибковые агенты, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом, включают, но без ограничения амфотерицин В, итрасоназол, кетосоназол, флуконазол, фосфлуконазол, интраатекал, флуцитосин, миконазол, бутконазол, итраконазол, клотримазол, нистатин, терконазол, тиоконазол, вориконазол, циклопирокс, эконазол, галопротрин, нафтифин, тербинафин, ундециленат и гризофулвин.

Противовоспалительные средства, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом, включают, но без ограничения нестероидные противовоспалительные препараты, такие как салициловая кислота, ацетилсалициловая кислота, метилсалицилат, дифлунизал, салсалат, олсалазин, сульфасалазин, ацетаминофен, индометацин, сулиндак, этодолак, мефенамовая кислота, меклофеномат натрия, толметин, кеторолак, диклофенак, ибупрофен, напроксен, напроксен натрия, фенпрофен, кетопрофен, флурбинпрофен, оксaproзин, пироксикам, мелоксикам, ампиросикам, дроксикам, пивоксикам, теноксикам, набуметом, фенилбутазон, оксифенбутазон, антипирин, аминопирин, апазон и нимесулид, антагонисты лейкотриена, включая, но без ограничения zileuton, ауртиоглюкоза, ауртиомалат натрия и ауранофин, стероиды, включая, но без ограничения алклометазона дипропионат, амцинонид, беклометазона дипропионат, бетаметазон, бетаметазона бензоат, бетаметазона дипроприонат, бетаметазона натрия фосфат, бетаметазона валерат, клобетазола проприонат, клокортолона пивалат, гидрокортизон, производные гидрокортизона, дезонид, дезоксиматазон, дексаметазон, флунизолид, флукоксинолид, флурандренолид, халцинонид, медризон, метилпреднизолон, метилпреднизолон ацетат, сукцинат метилпреднизолон натрия, мометазона фураат, параметазона ацетат, преднизолон, преднисолон ацетат, фосфат преднизолон натрия, преднизолон тебуатат, преднизон, триамцинолон, триамцинолона ацетонид, триамцинолона диацетат и триамцинолона гексацетонид и другие противовоспалительные агенты, включая, но без

ограничения метотрексат, колхицин, аллопуринол, пробенецид, талидомид или его производные, 5-аминосалициловая кислота, ретиноид, дитхранол или калципотриол, сулфинпиразон и бензбромарон.

Противовирусные средства, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом, включают, но без ограничения ингибиторы протеазы, нуклеозидные/нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы (NRTIs), ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (NNRTIs), антагонист CCR1, антагонисты CCR5 и нуклеозидные аналоги. Противовирусные средства включают, но без ограничения фомивирсен, дидинозин, ламивудин, ставудин, залцитабин, зидовудин, ацикловир, фамцикловир, валацикловир, ганцикловир, гангцикловир, цидофовир, занамивир, оселтамавир, видарабин, идоксуридин, трифлюридин, левовирин, вирамидин и рибавирин, а также фоскарнет, амантадин, римантадин, саквинавир, индинавир, нелфинавир, ампренавир, лопинавир, ритонавир α -интерфероны; β -интерфероны; адефовир, клевадин, энтекавир, плеконарил, HCV-086, EMZ702, эмтрицитабин, селгосивир, валопицитабин, ингибиторы протеазы HCV, такие как BILN 2061, SCH-503034, ITMN-191 или VX-950, ингибиторы полимеразы NS5B, такие как NM107 (и его пролекарство NM283), R1626, R7078, BILN 1941, GSK625433, GILD9128 или HCV-796, эфавиренз, HBY-097, невирапин, TMC-120 (дапивирин), TMC-125, BX-471, этравирин, делавирин, DPC-083, DPC-961, каправирин, рилпивирин, 5- $\{[3,5$ -диэтил-1-(2-гидроксиэтил)-1H-пиразол-4-ил]окси $\}$ изофталонитрил, GW-678248, GW-695634, MIV-150, каланолид, TAK-779, SC-351125, анкривирок, викривирок, маравирок, PRO-140, аплавирок 40, Оно-4128, АК-602), AMD-887 CMPD-167, метил 1-эндо- $\{8-[(3S)$ -3-(ацетиламино)-3-(3-фторфенил)пропил]-8-азадицикло $[3.2.1]$ окт-3-ил $\}$ -2-метил-4,5,6,7-тетрагидро-1H-имидазо $[4,5-c]$ пиридин-5-карбоксилат, метил-3-эндо- $\{8-[(3S)$ -3-(ацетамидо)-3-(3-фторфенил)пропил]-8-азабицикло $[3.2.1]$ окт-3-ил $\}$ -2-метил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо $[4,5-c]$ пиридин-5-карбоксилат, этил 1-эндо- $\{8-[(3S)$ -3-(ацетиламино)-3-(3-фторфенил)пропил]-8-азабицикло $[3.2.1]$ окт-3-ил $\}$ -2-метил-4,5,6,7-тетрагидро-1H-имидазо $[4,5-c]$ пиридин-5-карбоксилат и N- $\{(1S)$ -3-[3-эндо-(5-изобутирил-2-метил-4,5,6,7-тетрагидро-1H-имидазо $[4,5-c]$ пиридин-1-ил)-8-азабицикло $[3.2.1]$ окт-8-ил]-1-(3-фторфенил)пропил]ацетамид), BMS-806, BS-488043, 5- $\{(1S)$ -2- $[(2R)$ -4-бензоил-2-метил-пиперазин-1-ил]-1-метил-2-оксо-этокси $\}$ -4-метоксипиридин-2-карбоновой кислоты метиламид и 4- $\{(1S)$ -2- $[(2R)$ -4-бензоил-2-метил-пиперазин-1-ил]-1-метил-2-оксо-этокси $\}$ -3-метокси-N-метил-бензамид, энфувиртид (T-20), сифувиртид SP-01 A, T1249, PRO 542, AMD-3100, растворимый CD4, ингибиторы HMG CoA редуктазы, аторвастатин, 3-O-(3'3'-диметилсукцинил)бетулиновая кислота (также известная как PA-457) и α HGA.

Иммуномодуляторные средства, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом включают, но без ограничения азатиоприн, такролимус, циклоспорин, метотрексат, лефлуноמיד, кортикостероиды, циклофосфамид, циклоспорин А, циклоспорин G, микофенолата мофетил, аскомицин, рапамицин (сиролимус), F-506, мизорибин, деоксиспергуалин, бреквинар, микофеноловая кислота, малонитриламида (такие как, только в качестве примера, лефлунамид), модуляторы T-клеточных рецепторов и модуляторы цитокиновых рецепторов, пептидные миметик и антитела (такие как, только в качестве примера, человеческие, гуманизированные, химерные, моноклональные, поликлональные, Fvs, ScFvs, Fab или F(ab)² фрагменты или эпитоп-связывающие фрагменты), молекулы нуклеиновой кислоты (такие как, только в качестве примера, антисмысловые молекулы нуклеиновой кислоты и трехнитевые спирали), малые молекулы, органические соединения и неорганические соединения. Примеры модуляторов T-клеточного рецептора включают, но без ограничения антитела против T-клеточного рецептора (такие как, только в качестве примера, антитела anti-CD4 (такие как, только в качестве примера, cM-T412 (Boehringer), IDEC-CE9.1^(TM) (IDEC и SKB), mAb 4162W94, Orthoclone и OKTcdr4a (Janssen-Cilag)), антитела anti-CD3 (такие как, только в качестве примера, Nuvion (Product Design Labs), OT3 (Johnson & Johnson), или Rituxan (IDEC)), антитела anti-CD5 (такие как, только в качестве примера, ридинсвязанный иммуноконъюгат anti-CD5), антитела anti-CD7 (такие как, только в качестве примера, СНН-380 (Novartis)), антитела anti-CD8, моноклональные антитела к лиганду anti-CD40 (такие как, только в качестве примера, IDEC-131 (IDEC)), антитела anti-CD52 (такие как, только в качестве примера, CAMPATH 1H (Hex)), антитела anti-CD2, антитела anti-CD 11a (такие как, только в качестве примера, Xanelim (Genentech)), антитела anti-B7 (такие как, только в качестве примера, IDEC-1 14 (IDEC)), CTLA4-иммуноглобулин и другие toll-рецептор-подобные (TLR) модуляторы. Примеры модуляторов цитокиновых рецепторов включают, но без ограничения, растворимые цитокиновые рецепторы (такие как, только в качестве примера, внеклеточный домен рецептора TNF- α или его фрагмент, внеклеточный домен рецептора IL-1 β или его фрагмент, и внеклеточный домен рецептора IL-6 или его фрагмент), цитокины или их фрагменты (такие как, только в качестве примера, интерлейкин (IL)-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-15, TNF- α , интерферон (IFN)- α , IFN- β , IFN- γ , и GM-CSF), антитела против цитокиновых рецепторов (такие как, только в качестве примера, антитела против рецептора IFN, антитела против рецептора IL-2 (такие как, только в качестве примера, Zenarax (Protein Design Labs)), антитела против рецептора IL-4, антитела против рецептора IL-6, антитела против рецептора IL-10, и антитела против рецептора IL-12), антицитокиновые антитела (такие как, только в качестве примера, антитела anti-IFN, антитела anti-TNF-

α , антитела anti-IL-1 β , антитела anti-IL-6, антитела anti-IL-8 (такие как, только в качестве примера, АВХ-IL-8 (Abgenix)) и антитела anti-IL-12).

Цитокины или модуляторы функции цитокинов, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом, включают, но без ограничения интерлейкин-2 (IL-2), интерлейкин-3 (IL-3), интерлейкин-4 (IL-4), интерлейкин-5 (IL-5), интерлейкин-6 (IL-6), интерлейкин-7 (IL-7), интерлейкин-9 (IL-9), интерлейкин-10 (IL-10), интерлейкин-12 (IL-12), интерлейкин 15 (IL-15), интерлейкин 18 (IL-18), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), эритропоэтин (Epo), эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста фибробластов (FGF), гранулоцитарно-моноцитарный стимулирующий фактор (GM-CSF), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF), пролактин, альфа-, бета-, и гамма-интерферон, интерферон β -1a, интерферон β -1b, интерферон α -1, интерферон α -2a (роферон), интерферон α -2b, пегилированные интерфероны (только в качестве примера, пегинтерферон α -2a и пегинтерферон α -2b), интрон, пегинтрон, Пегасис, конценсусный интерферон (инферген), альбумин-интерферон и альбуферон.

Антидепрессанты, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом, включают, но без ограничения бинедалин, кароксазон, циталопрам, диметазан, фенкамин, индалпин, инделоксазина гидрохлорид, нефопам, номифенсин, окситриптан, оксипертин, пароксетин, сертралин, тиазесим, тразодон, бенмоксин, эхинопсида йодид, этриптамин, ипроклозид, ипрониазид, изокарбоксазид, мебаназин, метфендразин, ниаламид, паргилин, октамоксин, фенелзин, фенипразин, феноксипропазин, пивгидразин, сафразин, селегилин, 1-депренил, котинин, ролициприн, ролипрам, мапротилин, метралиндол, миансерин, миртазепин, адиназолам, амитриптилин, амитриптилинноксид, амоксапин, бутриптилин, кломипрамин, демексиптилин, дезипрамин, дибензепин, диметакрин, дотиепин, докседин, флауазин, имипрамин, имипрамина N-оксид, иприндол, лофепрамин, мелитрацен, метапрамин, нортриптилин, ноксиптилин, опипрамол, пизотилин, пропизепин, протриптилин, квиупрамин, тианептин, тримипрамин, адрафинил, бенактизин, бупропион, бутацетин, диоксадрол, дулоксетин, этоперидон, фебарбамат, фемоксетин, фенпентадиол, флуоксетин, флувоксамин, гематопорпирин, гиперидин, левофачетоперан, медифоксамин, милнаципран, минаприн, моклобемид, нефазодон, оксафлоран, пибералин, пролинтан, пирисукцидеанол, ритансерин, роксиндол, рубидия хлорид, сульпирид, тандоспирон, тозалинон, тофенацин, толосатон, транилципромин, L-триптофан, венлафаксин, виллоксазин и зимелдин.

В некоторых вариантах осуществления антидепрессанты, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом являются ингибиторами MAO, включая, но без ограничения бенмоксин, эхинопсида йодид, этриптамин, ипроклозид, ипрониазид, изокарбоксазид, мебаназин, метфендразин, моклобамид, ниаламид, паргилин, фенелзин, фенипразин, феноксипропазин, пивгидразин, сафразин, селегилин, 1-депренил, толосатон и транилципромин.

Гормоны, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом, включают, но без ограничения рилизинг-фактор лутеинизирующего гормона (LHRH), гормон роста (GH), гормон, высвобождающий гормон роста, АСТН, соматостатин, соматотропин, соматомедин, паратиреоидный гормон, гипоталамические рилизинг-факторы, инсулин, глюкагон, энкефалины, вазопрессин, кальцитонин, гепарин, низкомолекулярные гепарины, гепариноиды, тимостимулин, синтетические и натуральные опиоиды, инсулиноподобные факторы роста, стимулирующие щитовидную железу, и эндорфины.

Алкилирующие агенты, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом включают, но без ограничения, азотистые иприты, этиленимины, метилмеламины, алкилфосфонаты, нитрозомочевина, кармустин, ломустин, триазены, мелфалан, мехлорэтамин, цис-платин, оксалиплатин, сарбоплатин, циклофосфамид, ифосфамид, мелфалан, хлорамбуцил, гексаметилмелаин, тиотепа, бусульфид, кармустин, стрептозоцин, дацарбазин и темозоломид.

Антиметаболиты, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом, включают, но без ограничения цитарабил, гемцитабин и антифолаты, такие как, только в качестве примера, фторпиримидины (только в качестве примера 5-фторурацил и тегафур), ралтитрексед, метотрексат, цитосина арабинозид и гидроксимочевина.

Противоопухолевые антибиотики в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом включают, но без ограничения антрациклины, блеомицин, доксорубин, дауномицин, эпирубицин, идарубицин, митомицин-C, дактиномицин и митрамицин.

Антимитотические агенты, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом, включают, но без ограничения алкалоиды барвинка (только в качестве примера винкристин, винбластин,

виндезин и винорелбин), таксоиды (только в качестве примера, таксол, паклитаксел и таксотере) и ингибиторы полокиназы.

Ингибиторы топоизомеразы, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом, включают, но без ограничения эпипофиллотоксины, только в качестве примера, этопозид и тенипозид, амсакрин, топотекан, иринотекан и кампротecin.

Цитостатические агенты, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом включают, но без ограничения антиэстрогены (такие как, только в качестве примера тамоксифен, фулвестрант, торемифен, ралоксифен, дролоксифен и йодоксифен), антиандрогены (такие как, только в качестве примера, бикалутамид, флутамид, нилутамид и ацетат ципротерона), антагонисты LHRH или агонисты LHRH (такие как, только в качестве примера, гозерелин, лепрорелин, лепролид и бусерелин), прогестероны (такие как, только в качестве примера ацетат мегестрола), ингибиторы ароматазы (такие как, только в качестве примера, анастрозол, летрозол, воразол и экземестан) и ингибиторы 5 α -редуктазы (такие как, только в качестве примера, финастерид).

Противоинвазивные средства, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом включают, но без ограничения, ингибиторы семейства киназы c-Src (такие как, только в качестве примера 4-(6-хлор-2,3-метилendioксанилино)-7-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]-5-тетрагидропиран-4-ил-оксихиназолин (AZD0530) и N-(2-хлор-6-метилфенил)-2-{6-[4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-ил]-2-метилпиримидин-4-ил-амино}тиазол-5-карбоксамид (дазатиниб, BMS-354825)), и ингибиторы металлопротеазы (такие как, только в качестве примера, маримастат, ингибиторы функции урокиназы рецептора активатора плазминогена и антитела к гепараназе).

Антиангиогенные средства, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом, включают, но без ограничения средства, которые ингибируют эффекты фактора роста эндотелия сосудов, пример, антитело против фактора роста эндотелия сосудов бевацизумаб (AVASTIN™) и ингибиторы рецептора VEGF тирозинкиназы, такие как 4-(4-бром-2-фторанилино)-6-метокси-7-(1-метилпиперидин-4-илметокси)хиназолин (ZD6474), 4-(4-фтор-2-метилиндол-5-илокси)-6-метокси-7-(3-пирролидин-1-илпропокси)хиназолин (AZD2171), ваталаниб (PT 787) и SU1 1248 (сунитилиб), линомид, и ингибиторы $\alpha\text{v}\beta 3$ функции интегрин и ангиостатин.

Ингибиторы функции фактора роста, применяемые в комбинации по меньшей мере с одним соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом включают, но без ограничения антитела к фактору роста и антитела к рецептору фактора роста (например, антитело anti-erbB2 трастузумаб (HERCEPTIN™), антитело anti-EGFR панитумумаб, антитело anti-erbB1 цетуксимаб (Erbix, C225), ингибиторы тирозинкиназы, такие как, только в качестве примера ингибиторы семейства эпидермального фактора роста (например, ингибиторы тирозинкиназа семейства EGFR, такие как, например, N-(3-хлор-4-фторфенил)-7-метокси-6-(3-орфоинопропокси) хиназолин-4-амин (гефитиниб, ZD1 839), N-(3-этинилфенил)-6,7-бис-(2-метоксиэтокси) хиназолин-4-амин (эрлотиниб, OSI-774) и 6-акриламидо-N-(3-хлор-4-фторфенил)-7-(3-морфоинопропокси)-хиназолин-4-амин (CI 1033), ингибиторы erbB2-тирозинкиназы, такие как, например, лапатиниб, ингибиторы семейства фактора роста гепатоцитов, ингибиторы семейства тромбозитарного фактора роста, такие как иматиниб, GLEEVEC™, ингибиторы серин/треонин киназ (такие как, только в качестве примера, ингибиторы сигнального пути Ras-Raf, такие как ингибиторы фарнезилтрансферазы, например сорафениб (BAY 43-9006)), ингибиторы клеточных сигнальных путей с участием ME- и/или AKT-киназы, ингибиторы семейства фактора роста гепатоцитов, ингибиторы c-kit, ингибиторы abl-киназы, ингибиторы киназы IGF-рецептора (инсулин-подобного фактора роста); ингибитор киназы Aurora (например, AZD1 152, PH739358, VX-680, MLv8054, R763, MP235, MP529, VX-528 AND AX39459) и ингибиторы циклин-зависимой киназы, такие как ингибиторы CDK2 и/или CDK4.

В других вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение формулы (I), предоставляемое здесь, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват применяют в комбинации со средствами, разрушающими сосуды, такими как, только в качестве примера комбретаcтатин A4.

В других вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение формулы (I), предоставляемое здесь, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват используют в комбинации с антисмысловыми препаратами, такими как, только в качестве примера, ISIS 2503, антисмысловой anti-ras.

В других вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение формулы (I), предоставляемое здесь, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват применяют в комбинации с генно-терапевтическими подходами, включая, например, подходы с замещением абберантных генов, таких как абберантный p53 или абберантные BRCA1 или BRCA2, GDEPT (ген-направленная ферментная пролекарственная терапия), подходы, такие как подходы с применением цитозиндеаминазы, тимидинкиназы или бактериального фермента нитроредуктазы, и подходы, направленные на повышение переносимости

пациентом химиотерапии или радиотерапии, такие как генная терапия мультилекарственной резистентности.

В других вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение формулы (I) предоставляемое здесь, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват применяют в комбинации с иммунотерапевтическими подходами, включая, например, подходы *ex-vivo* и *in-vivo* для повышения иммуногенности опухолевых клеток пациента, например трансфекция цитокинами, такими как интерлейкин-2, интерлейкин-4 или гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, подходы со снижением Т-клеточной нечувствительности, подходы с применением трансфицированных иммунных клеток, таких как цитокин-трансфицированные дендритные клетки, подходы с применением цитокин-трансфицированных опухолевых клеточных линий и подходы с применением анти-идиотипических антител.

В других вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение формулы (I), предоставляемое здесь, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват применяют в комбинации с другими методами лечения, включая, но без ограничения, хирургическое вмешательство и лучевую терапию (γ -облучение, нейтронная лучевая терапия, электронная лучевая терапия, протонная терапия, брахитерапия, и радиоактивные изотопы системного действия).

В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), представленные в настоящем описании или их фармацевтически приемлемые соли и сольваты вводят или включают в состав в комбинации с усилителем абсорбции, включая, но без ограничения, гликохолат натрия, каприлат натрия, N-лаурил- β -D-мальтопиранозид, EDTA, и смешанные мицеллы. В некоторых вариантах осуществления, также усилители абсорбции воздействуют на лимфатическую систему.

В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент(ы), применяемый в комбинации терапии, описанной здесь, включает, но без ограничения агенты, такие как ингибиторы фактора некроза опухоли альфа (TNF- α) (такие как моноклональные антитела anti-TNF (только в качестве примера, ремикейд, CDP-870 и адалимумаб) и иммуноглобулиновые молекулы рецептора TNF (только в качестве примера, энбрел)); неселективные ингибиторы циклооксигеназы COX-1/COX-2 (только в качестве примера, пироксикам, диклофенак, пропионовые кислоты, такие как напроксен, флурбипрофен, фенпрофен, кетопрофен и ибупрофен, фенаматы, такие как мефенамовая кислота, индометацин, сулиндак, азапропазон, пиразолоны, такие как фенилбутазон, салицилаты, такие как аспирин), ингибиторы COX-2 (только в качестве примера, мелоксикам, целококсиб, рофекоксиб, валдекоксиб, лумарококсиб, парекоксиб и эторикококсиб); глюкокортикостероиды; метотрексат, лефуномид; гидроксихлорохин, d-пеницилламин, ауранофин или другие парентеральные или пероральные препараты золота.

В других вариантах осуществления комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата с ингибитором биосинтеза лейкотриена, с ингибитором 5-липоксигеназы (5-LO) или антагонистом активирующего белка 5-липоксигеназы (FLAP), такими как; зилеутон; АВТ-761; фенлеутон; тепоксалин; Abbott-79175; Abbott-85761; N-(5-замещенный)-тиофен-2-алкилсульфонамид; 2,6-ди-трет-бутилфенолгидразоны; метокситетрагидропираны, такие как Zeneca ZD-2138; соединение SB-210661; пиридинил-замещенное соединение 2-цианофталеина, такое как L-739,010; соединение 2-цианохинолина, такое как L-746,530; или соединение индола или хинолина, такое как МК-591, МК-886, и ВАУх1005.

В других вариантах осуществления комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата с антагонистом рецептора лейкотриенов (LT B₄, LTC₄, LTD₄, и LTE₄), выбранным из группы, состоящей из фенотиазина-3-Is, таких как L-651,392; амидиносоединений, таких как CGS-25019c; бензоксаламинов, таких как онтазолост; бензолкарбоксимидамидов, таких как ВИЛ 284/260; и соединений, таких как зафирлукаст, аблукаст, монтелукаст, SINGULAIR™, пранлукаст, верлукаст (МК-679), RG-12525, Ro-245913, иралукаст (CGP 45715A) и ВАУх7195.

В других вариантах осуществления комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата с ингибитором фосфодиастеразы (PDE), таким как метилксантин, включая теофиллин и аминофиллин; с селективным ингибитором изофермента PDE, включая ингибитор PDE₄, включая, но без ограничения циломилласт или рофлумиласт, ингибитор изоформы PDE_{4D}, или ингибитор PDE₅.

В других вариантах осуществления комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата с антагонистом рецептора гистамина 1-го типа, таким как цетиризин, лоратадин, деслоратадин, фексофенадин, акривастин, терфенадин, астемизол, азеластин, левокабастрин, хлорфенирамин, прометазин, циклизин, или мизоластрин.

В других вариантах осуществления комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата с гастропротективным антагонистом рецептора гистамина 2-го типа. В других вариантах осуществления

комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, описанных здесь, с антагонистом рецептора гистамина типа 4.

В других вариантах осуществления комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, с сосудосуживающим симпатомиметическим средством, агонистом адренорецепторов альфа-1/альфа-2, таким как пропилгекседрин, фенилэфрин, фенилпропаноламин, эфедрин, псевдоэфедрин, гидрохлорид нафазолина, гидрохлорид оксиметазолина, гидрохлорид тетрагидрозолина, гидрохлорид ксилометазолина, гидрохлорид трамазолина или гидрохлорид этилнорэпинефрина.

В других вариантах осуществления комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, с антихолинергическим агентом, включая антагонисты мускариновых рецепторов (M1, M2 и M3), такие как атропин, гиосцин, гликопирролат, бромид ипратропия, бромид тиотропия, бромид окситропия, пирензепин или телензепин.

В других вариантах осуществления комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, с агонистом бета-адренорецептора (включая подтипы бета-адренорецептора 1-4) таким как изопреналин, сальбутамол, альбутерол, формотерол, сальметерол, тербуталин, орципреналин, битолтерол мезилат и пирбутерол.

В других вариантах осуществления комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата с хромоном, таким как кромогликат натрия или недокромил натрия.

В других вариантах осуществления комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, с миметиком инсулин-подобного фактора роста типа I (IGF-I).

В других вариантах осуществления комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, с глюкокортикоидом, таким как флунизолит, ацетонид триамцинолона, дипропионат беклометазона, будезонид, пропионат флутиказона, циклезонид или фуروات мометазона.

В других вариантах осуществления комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата с ингибитором матриксных металлопротеаз (ММР), таких как стромелизины, коллагеназы, желатиназы, а также агреканы; в особенности коллагеназа-1 (ММР-1), коллагеназа-2 (ММР-8), коллагеназа-3 (ММР-13), стромелизин-1 (ММР-3), стромелизин-2 (ММР-10) и стромелизин-3 (ММР-11) и ММР-9 и ММР-12.

В других вариантах осуществления комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I), предоставляемого здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата с модуляторами функции гемокиновых рецепторов, такими как антагонисты CCR1, CCR2, CCR2A, CCR2B, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10 и CCR11 (для семейства C-C); CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4 и CXCR5 (для семейства C-X-C), и CX3CR1 для семейства C-X3-C.

В других вариантах осуществления комбинации, описанные здесь, включают комбинацию соединения формулы (I) предоставляемую здесь, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата с иммуноглобулином (Ig), гамма-глобулином, препаратом Ig или с антагонистом или антителом, модулирующим функцию Ig, таким как anti-IgE (омализумаб).

Соединения формулы (I) в качестве иммуностимуляторов.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), предоставляемое здесь, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват представляют собой иммуногенные композиции. В некоторых вариантах осуществления такие иммуногенные композиции являются полезными в качестве вакцин. В некоторых вариантах осуществления такие вакцины являются профилактическими (т.е. для предотвращения инфекции), тогда как в других вариантах осуществления такие вакцины являются терапевтическими (т.е. для лечения инфекции).

В других вариантах осуществления соединения (соединения) формулы (I), представленные в настоящем описании, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват являются иммуностимуляторами и обеспечивают иммуностимуляторный эффект при введении по сравнению с иммуногенными препаратами, которые не содержат соединения (соединения) формулы (I). В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) обеспечивают иммуностимулирующий эффект при введении, когда они включены в иммуногенную композицию, содержащую один или более иммунорегуляторных агентов, тогда как в других вариантах осуществления соединения формулы (I) обеспечивают иммуностимулирующий эффект при введении, когда они включены в иммуногенную композицию в отсутствие других иммунорегуляторных агентов.

Имуностимулирующий эффект, указанный в описании, часто представляет собой усиление эффекта иммуногенной композиции. В некоторых вариантах осуществления увеличение эффективности иммуногенной композиции составляет по меньшей мере 10% по сравнению с эффектом иммуногенной

композиции в отсутствие иммуностимулятора. В некоторых вариантах осуществления увеличение эффективности иммуногенной композиции составляет по меньшей мере 20% по сравнению с эффектом иммуногенной композиции в отсутствие иммуностимулятора. В некоторых вариантах осуществления увеличение эффективности иммуногенной композиции составляет по меньшей мере 30% по сравнению с эффектом иммуногенной композиции в отсутствие иммуностимулятора. В некоторых вариантах осуществления увеличение эффективности иммуногенной композиции составляет по меньшей мере 40% по сравнению с эффектом иммуногенной композиции при отсутствии иммуностимулятора. В некоторых вариантах осуществления увеличение эффективности иммуногенной композиции составляет по меньшей мере 50% по сравнению с эффектом иммуногенной композиции в отсутствие иммуностимулятора. В некоторых вариантах осуществления увеличение эффективности иммуногенной композиции составляет по меньшей мере 60% по сравнению с эффектом иммуногенной композиции в отсутствие иммуностимулятора. В некоторых вариантах осуществления увеличение эффективности иммуногенной композиции составляет по меньшей мере 70% по сравнению с эффектом иммуногенной композиции в отсутствие иммуностимулятора. В некоторых вариантах осуществления увеличение эффективности иммуногенной композиции составляет по меньшей мере 80% по сравнению с эффектом иммуногенной композиции в отсутствие иммуностимулятора. В некоторых вариантах осуществления увеличение эффективности иммуногенной композиции составляет по меньшей мере 90% по сравнению с эффектом иммуногенной композиции в отсутствие иммуностимулятора. В некоторых вариантах осуществления увеличение эффективности иммуногенной композиции составляет по меньшей мере 100% по сравнению с эффектом иммуногенной композиции в отсутствие иммуностимулятора.

В некоторых вариантах осуществления увеличение эффекта иммуногенной композиции измеряют в соответствии с повышением эффективности иммуногенной композиции при достижении ее защитных эффектов. В некоторых вариантах осуществления указанное повышение эффективности измеряют в виде снижения вероятности того, что субъект, получающий иммуногенную композицию, будет испытывать состояние, по отношению к которому иммуногенная композиция считается протективной, или снижения продолжительности или тяжести эффектов такого состояния. В других вариантах осуществления указанную повышенную эффективность измеряют в виде повышения титра антитела, вызываемого иммуногенной композицией у субъекта, получающего лечение.

Наряду с одним или более соединением формулы (I), предоставляемым здесь, или с его фармацевтически приемлемой солью или сольватом, такие иммуногенные композиции содержат эффективное количество одного или более антигенов и фармацевтически приемлемый носитель. Такие носители включают, но без ограничения белки, полисахариды, полимолочные кислоты, полигликолевые кислоты, полимерные аминокислоты, синтетические полипептиды, сахарозу, трегалозу, лактозу, липидные агрегаты (такие как капельки масла или липосомы), и инактивированные вирусные частицы. Иммуногенные композиции обычно также содержат разбавители, такие как вода, физиологический раствор и глицерин, и необязательно содержат другие вспомогательные вещества, такие как смачивающие реагенты или эмульгирующие реагенты, и pH-буферные вещества.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции необязательно содержат один или более иммунорегуляторных агентов. В некоторых вариантах осуществления один или более иммунорегуляторных агентов включают один или более адъювантов. Указанные адъюванты включают, но без ограничения, адъювант ТН1 и/или адъювант ТН2, дополнительно рассматриваемые ниже. В некоторых вариантах осуществления адъюванты, используемые в иммуногенных композициях, представленных здесь, содержат, но без ограничения:

- A) минералсодержащие композиции;
- B) масляные эмульсии;
- C) препараты сапонины;
- D) виросомы и вирусоподобные частицы;
- E) бактериальные или микробные производные;
- F) иммуномодуляторы человека;
- G) биоадгезивы и мукоадгезивы;
- H) микрочастицы;
- I) липосомы;
- J) простой эфир полиоксиэтилена и препараты сложного эфира полиоксиэтилена;
- K) полифосфазен (PCPP);
- L) мурамилпептиды.
- M. Имидазоксихинолоновые соединения.

Минералсодержащие композиции, пригодные для применения в качестве адъювантов содержат, но без ограничения минеральные соли, такие как соли алюминия и соли кальция. Только в качестве примера, такие минеральные соли включают гидроксиды (например, оксигидроксиды, включая гидроксиды алюминия и оксигидроксиды алюминия), фосфаты (например, гидроксифосфаты и ортофосфаты, включая фосфаты алюминия, гидроксифосфаты алюминия, ортофосфаты алюминия и фосфат кальция), сульфаты (например, сульфат алюминия), или смеси различных минеральных соединений. Такие минераль-

ные соли имеют любую подходящую форму, такую как, только в качестве примера гель, кристаллическая, аморфная формы. В некоторых вариантах осуществления такие минералсодержащие композиции включают в состав в виде частицы соли металла. В некоторых вариантах осуществления компоненты иммуногенных композиций, описанных здесь, адсорбируют на такие минеральные соли. В некоторых вариантах осуществления адъювант гидроксида алюминия и/или фосфата алюминия используют в иммуногенных композициях, описанных здесь. В других вариантах осуществления антигены, применяемые в иммуногенной композиции, описанной здесь, адсорбируют на указанные адъюванты гидроксида алюминия и/или фосфата алюминия. В некоторых вариантах осуществления, адъювант фосфата кальция используют в иммуногенных композициях, описанных здесь. В других вариантах осуществления антигены, используемые в иммуногенной композиции, описанной здесь, адсорбируют на такие адъюванты фосфата кальция.

В некоторых вариантах осуществления фосфаты алюминия используют в качестве адъюванта в иммуногенных композициях, описанных здесь. В других вариантах осуществления фосфаты алюминия используют в качестве адъюванта в иммуногенных композициях, описанных здесь, где такие композиции содержат сахаридный антиген *H.influenzae*. В некоторых вариантах осуществления адъювант является аморфным гидроксифосфатом алюминия с молярным отношением PO_4/Al от 0,84 до 0,92, включенном в количестве 0,6 мг $Al^{3+}/мл$. В других вариантах осуществления используется адсорбция с низкой дозой фосфата алюминия, только в качестве примера от 50 до 100 мкг Al^{3+} на конъюгат на дозу. Если в композиции содержится более чем один конъюгат, не все конъюгаты необходимо адсорбировать.

Масляные эмульсии, пригодные для применения в качестве адъювантов, включают, но без ограничения, сквален-водные эмульсии (такие как MF59 (5% сквален, 0,5% Tween 80 и 0,5% Span 85, составленные в виде субмикронных частиц с применением микрораспылителя), полный адъювант Фрейнда (CFA) и неполный адъювант Фрейнда (IFA).

Сапонины представляют собой гетерологичную группу стеринных гликозидов и тритерпеновых гликозидов, обнаруженных в коре, листьях, стеблях и даже цветах широкого ряда видов растений. Сапониновые составы, пригодные для применения в качестве адъювантов, содержат, но без ограничения сапонины из коры дерева *Quillaja saponaria* Molina, из *Smilax ornata* (сарсапарель), *Gypsophilla paniculata* (фата невесты) и *Saponaria officianalis* (мыльный корень). В некоторых вариантах осуществления сапониновые составы, пригодные для применения в качестве адъювантов содержат, но без ограничения, очищенные составы, включая, но без ограничения QS7, QS17, QS18, QS21, QH-A, QH-B и QH-C. QS21 продают как STIMULOM™. В других вариантах осуществления сапониновые составы содержат стеринные, холестеринные и липидные составы, такие как уникальные частицы, образованные комбинациями сапонинов и холестеринных, называемыми иммуностимулирующими комплексами (ISCOM). В некоторых вариантах осуществления, ISCOM также содержат фосфолипид, такой как фосфатидилэтаноламин или фосфатидилхолин. Любой известный сапонин можно использовать в ISCOM. В некоторых вариантах осуществления ISCOM содержит один или более QuilA, QHA & QHC. В других вариантах осуществления ISCOMS необязательно свободны от дополнительных детергентов.

Виросомы и вирусоподобные частицы (VLP), подходящие для применения в качестве адъювантов, включают, но без ограничения, один или более белков вируса, необязательно сочетаемых или формулированных с фосфолипидом. Как правило, указанные виросомы и VLP непатогенные, нереплицирующиеся и, как правило, не содержат никакого нативного вирусного генома. В некоторых вариантах осуществления вирусные белки продуцируют рекомбинантно, тогда как в других вариантах осуществления вирусные белки выделяют из целых вирусов.

Вирусные белки, подходящие для применения в виросомах или VLP, включают, но без ограничения, белки, полученные из вируса гриппа (такие как HA или NA), вируса гепатита B (такие как ядерные или капсидные белки), вируса гепатита E, вируса кори, вируса Sindbis, ротавируса, вируса ящура, ретровируса, вируса Norwalk, вируса папилломы человека, HIV, РНК-содержащих фагов, фага QP (такие как белки оболочки), фага GA, фага fr, фага AP205 и Ty (такие, как белок p1 ретротранспозона Ty).

Бактериальные или микробные производные, подходящие для применения в качестве адъювантов, включают, но без ограничения, бактериальные или микробные производные, такие как нетоксичные производные липополисахарида (LPS) энтеробактерий, производные липида A, иммуностимуляторные олигонуклеотиды и АДФ-рибозилирующие токсины и их детоксифицированные производные.

Нетоксичные производные LPS включают, но без ограничения монофосфориллипид A (MPL) и 3-О-деацелированный MPL (3dMPL). 3dMPL представляет собой смесь 3 де-О-ацелированного монофосфорил липида A с 4, 5 или 6 ацилированными цепями. Такие нетоксичные производные LPS включают в себя мимики монофосфорил липида A, такие как производные аминоалкилглюкозаминидфосфата (например, RC-529). Производные липида A включают, но без ограничения производные липида A из *Escherichia coli* (например, OM-174).

Имуностимулирующие олигонуклеотиды, применяемые в качестве адъювантов, включают, но без ограничения нуклеотидные последовательности, содержащие мотив CpG (динуклеотидная последовательность, содержащая метилированный цитозин, связанный фосфатной связью с гуанозином). Такие последовательности CpG могут быть двухцепочечными или одноцепочечными. В некоторых вариантах

осуществления такие нуклеотидные последовательности представляют собой двухцепочечные РНК или олигонуклеотиды, содержащие палиндромные или poly(dG) последовательности. В других вариантах осуществления CpG включают нуклеотидные модификации/аналоги, такие как фосфоротиоатные модификации.

В некоторых вариантах осуществления последовательность CpG направлена на TLR9, и в некоторых вариантах осуществления мотив представляет собой GTCGTT или TTCGTT. В некоторых вариантах осуществления последовательность CpG специфична для индукции иммунного ответа Th1, такая как, только в качестве примера, CpG-A ODN, или в других вариантах осуществления последовательность CpG является более специфичной для индукции В-клеточного ответа, такая как, только в качестве примера, CpG-B ODN. В некоторых вариантах осуществления CpG представляет собой CpG-A ODN.

В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид CpG сконструирован таким образом, что 5'-конец доступен для рецепторного узнавания. В других вариантах осуществления две олигонуклеотидные последовательности CpG необязательно скреплены своими 3'-концами с образованием "иммуномеров".

Особенно полезный адъювант на основе иммуностимулирующих олигонуклеотидов известен как IC31™. В некоторых вариантах осуществления адъювант, используемый с иммуногенными композициями, описанными здесь, включает смесь (i) олигонуклеотида (такого как, только в качестве примера, из 15-40 нуклеотидов), содержащего по меньшей мере один (и предпочтительно несколько) мотивов Cp1 (таких как, только в качестве примера, цитозин, связанный с инозином, с образованием динуклеотида), и (ii) поликатионного полимера, такого как, только в качестве примера, олигопептид (такой как, только в качестве примера, из 5-20 аминокислот), содержащий по меньшей мере одну (и предпочтительно несколько) трипептидную последовательность(-ти) Lys-Arg-Lys. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид является деоксинуклеотидом, содержащим 26-мер последовательность 5'-(IC)₁₃-3' (SEQ ID NO: 7). В других вариантах осуществления поликатионный полимер представляет собой пептид, содержащий 11-мер аминокислотную последовательность KLLK γ LLKLLK (SEQ ID NO: 8).

В некоторых вариантах осуществления бактериальные АДФ-рибозилирующие токсины и их детоксифицированные производные используют в качестве адъювантов в иммуногенных композициях, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления такие белки получают из *E. coli* (термолабильный энтеротоксин *E. coli* "LT"), холерных вибрионов ("СТ") или коклюшных бактерий ("РТ"). В других вариантах осуществления токсин или анатоксин находится в форме голотоксина, содержащего субъединицы А и В. В других вариантах осуществления субъединица А содержит детоксифицирующую мутацию; тогда как субъединица В не мутирована. В других вариантах осуществления адъювант представляет собой детоксифицированный мутант LT, такой как LT-K63, LT-R72 и LT-G192.

Иммуномодуляторы человека, пригодные для применения в качестве адъювантов, включают, но без ограничения, цитокины, такие как, только в качестве примера, интерлейкины (IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12), интерфероны (такие как, только в качестве примера, интерферон- γ), макрофагальный колониестимулирующий фактор и фактор некроза опухоли.

Биоадгезивы и мукоадгезивы, применяемые в качестве адъювантов в иммуногенных композициях, описанных здесь, включают, но без ограничения микросферы эстерифицированной гиалуроновой кислоты, и производные поли(акриловой кислоты), поливинилового спирта, поливинилпирролидона, полисахаридов и карбоксиметилцеллюлозы с поперечной межмолекулярной связью. В некоторых вариантах осуществления хитозан и его производные используют в качестве адъювантов в композициях вакцин, описанных здесь.

Микрочастицы, подходящие для применения в качестве адъювантов, включают, но без ограничения, микрочастицы, образованные из материалов, поддающихся биодegradации и нетоксичных (например, поли(альфа-гидроксикислота), полигидроксимасляной кислоты, полиортоэфира, полиангирида, поликапролактона и т.д.), с сополимером лактида с гликолидом, где предпочтительными являются поли(лактидогликолиды). В некоторых вариантах осуществления, такие микрочастицы обрабатывают для получения отрицательно заряженной поверхности (например, SDS) или положительно заряженной поверхности (например, катионными детергентами, такими как СТАВ). Микрочастицы, подходящие для применения в качестве адъювантов, имеют диаметр частицы приблизительно от 100 нм до 150 мкм в диаметре. В некоторых вариантах осуществления диаметр частицы составляет приблизительно от 200 нм до 30 мкм, и в других вариантах осуществления диаметр частицы составляет приблизительно от 500 нм до 10 мкм.

Эфир полиоксиэтилена и препараты эфира полиоксиэтилена, подходящие для применения в качестве адъювантов, включают, но без ограничения, сурфактанты сложных эфиров сорбита и полиэтиленоксида в сочетании с октоксинолом, как сурфактанты алкиловых простых или сложных эфиров полиэтиленоксида в сочетании по меньшей мере с одним дополнительным неионным сурфактантом, таким как октоксинол. В некоторых вариантах осуществления простые эфиры полиоксиэтилена выбирают из полиэтилен-9-лаурилового эфира (laureth 9), полиэтилен-9-стеарилового эфира, полиэтилен-8-стеарилового эфира, полиэтилен-4-лаурилового эфира, полиэтилен-35-лаурилового эфира и полиэтилен-23-лаурилового эфира.

Мурамиловые пептиды, подходящие для применения в качестве адъювантов, включают, но без ограничения N-ацетилмурамил-L-треонил-D-изоглутамин (thr-MDP), N-ацетил-нормурамил-L-аланил-D-изоглутамин (nor-MDP) и N-ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглутаминил-L-аланин-2-(1'-2'-дипальмитоил-sn-глицеро-3-гидроксифосфорилокси)этиламин (MTP-PE).

В некоторых вариантах осуществления одно или более соединений формулы (I), используемых в качестве иммуностимулятора, включают в композиции, содержащие комбинации одного или более адъювантов, установленных выше. Такие комбинации включают, но без ограничения:

- (1) сапонин и эмульсия масло-в-воде;
- (2) сапонин (например, QS21)+нетоксическое производное LPS (например, 3dMPL);
- (3) сапонин (например, QS21)+нетоксическое производное LPS (например, 3dMPL)+холестерин;
- (4) сапонин (например, QS21)+3dMPTL+IL-12 (необязательно включая стерол);
- (5) комбинации 3dMPL, например с QS21 и/или с эмульсиями масло-в-воде;
- (6) SAF, содержащий 10% сквален, 0,4% Tween 80. ТМ., 5% блоксополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена L121, и thr-MDP, или обработанный на микрофлюидизере с получением субмикронной эмульсии или перемешанный на вортексе для получения эмульсии с частицами большего размера;
- (7) Адъювантная система RIBI™ (RAS), (Ribi Immunochem), содержащая 2% сквален, 0,2% Tween 80 и один или более компонентов бактериальной клеточной стенки из группы, состоящей из монофосфориллипида А (MPL), димиколата трегалозы (TDM), и каркаса клеточной стенки (CWS), предпочтительно MPL+CWS (Detox. ТМ.);
- (8) одну или более минеральных солей (таких как соль алюминия)+нетоксическое производное LPS (такое как 3dMPL).

В других вариантах осуществления комбинации адъювантов используемые в иммуногенных комбинациях, представленных здесь, включают комбинации адъювантов Th1 и Th2, таких как, только в качестве примера, CpG и алюминиевые квасцы или резиквимод и алюминиевые квасцы.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, представленные в настоящем описании, вызывают клеточно-опосредованный иммунный ответ и гуморальный иммунный ответ. В других вариантах осуществления иммунный ответ индуцирует образование долговременных (например, нейтрализующих) антител и клеточно-опосредованный иммунитет, который обеспечивает быстрый ответ на воздействие инфекционного агента.

Считают, что, как правило, необходимо два типа Т-клеток, клетки CD4 и CD8, для инициации и/или усиления клеточно-опосредованного иммунитета и гуморального иммунитета. Т-клетки CD8 могут экспрессировать корецептор CD8 и обычно обозначаются как цитотоксические Т-лимфоциты (CTL). Т-клетки CD8 способны распознавать или взаимодействовать с антигенами, представленными на молекулах МНС класса I.

Т-клетки CD4 могут экспрессировать корецептор CD4 и обычно обозначаются как клетки Т-хелперы. Т-клетки CD4 способны распознавать антигенные пептиды, связанные с молекулами МНС класса II. После взаимодействия с молекулой МНС класса II, клетки CD4 могут секретировать факторы, такие как цитокины.

Указанные секретлируемые цитокины могут активировать В-клетки, цитотоксические Т-клетки, макрофаги и другие клетки, которые участвуют в иммунном ответе. Клетки Т-хелперы или клетки CD4+ можно далее разделить на две функционально отличающихся субпопуляции: фенотип TH1 и фенотип TH2, которые отличаются по своей цитокиновой и эффекторной функции.

Активированные клетки TH1 повышают клеточный иммунитет (включая увеличение продукции антиген-специфических CTL) и соответственно имеют определенное значение в ответе на внутриклеточные инфекции. Активированные клетки TH1 могут секретировать одно или более из IL- α , IFN- γ и TNF- β . Иммунный ответ TH1 может вызывать местные воспалительные реакции посредством активации макрофагов, клеток NK (натуральных киллеров), и цитотоксических Т-клеток CD8 (CTL). Иммунный ответ TH1 также может действовать по расширению иммунного ответа путем стимуляции роста В- и Т-клеток с помощью IL-12. TH1-стимулированные В-клетки могут секретировать IgG2a.

Активированные клетки TH2 усиливают продукцию антител и, следовательно, имеют значение в ответе на внеклеточные инфекции. Активированные TH2-клетки могут секретировать одно или более из IL-4, IL-5, IL-6 и IL-10. Иммунный ответ TH2 может приводить к продукции IgG1, IgE, IgA и В-клеток памяти для защиты в будущем.

Повышенный иммунный ответ может включать одно или более из повышенного TH1-иммунного ответа и TH2-иммунного ответа.

Иммунный ответ TH1 может включать одно или более из перечисленного: увеличение CTL, увеличение одного или более цитокинов, ассоциированных с иммунным ответом TH1 (таким как IL-2, IFN- γ и TNF- β), увеличение активированных макрофагов, увеличение активности NK или активности продукции IgG2a. Предпочтительно повышенный TH1 иммунный ответ будет включать повышение продукции IgG2a.

Адъюванты TH1 можно использовать для получения иммунного ответа TH1. Адъювант TH1 будет

вызывать, в целом, повышение уровней продукции IgG2a по сравнению с иммунизацией антигеном без адьюванта. Адьюванты TH1, подходящие для применения в иммуногенных композициях, представленных здесь, включают, но без ограничения препараты сапонина, виросомы и вирусоподобные частицы, нетоксические производные энтеробактериального липополисахарида (LPS), иммуностимулирующие олигонуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления иммуностимулирующие олигонуклеотиды, применяемые в качестве TH1 в иммуногенных композициях, представленных здесь, содержат мотив CpG.

Иммунный ответ TH2 может включать одно или более из перечисленного: увеличение одного или более из цитокинов, ассоциированных с TH2-иммунным ответом (таких как IL-4, IL-5, IL-6 и IL-10), или увеличение продукции IgG1, IgE, IgA и В-клеток памяти. Предпочтительно повышенный иммунный ответ TH2 будет включать увеличение продукции IgG1.

Адьюванты TH2 можно использовать, чтобы вызвать иммунный ответ TH2. Адьювант TH2 будет в целом вызывать повышенные уровни продукции IgG1 по сравнению с иммунизацией антигеном без адьюванта. Адьюванты TH2, подходящие для применения в иммуногенных композициях, представленных здесь, включают, но без ограничения минералсодержащие композиции, масляные эмульсии, АДФ-рибозилирующие токсины и их детоксифицированные производные. В некоторых вариантах осуществления минералсодержащие композиции, применяемые в качестве адьювантов TH2 в иммуногенных композициях, представленных здесь, являются солями алюминия.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, представленные в настоящем описании, включают адьювант TH1 и адьювант TH2. В других вариантах осуществления такие композиции вызывают повышенный ответ TH1 и повышенный ответ TH2, такой как повышение продукции IgG1 и IgG2a по сравнению с иммунизацией без адьюванта. В других вариантах осуществления такие композиции, содержащие комбинацию адьювантов TH1 и TH2, вызывают повышенный TH1 и/или повышенный TH2 иммунный ответ по сравнению с иммунизацией одним адьювантом (т.е. по сравнению с иммунизацией только одним адьювантом TH1 или иммунизацией только одним адьювантом TH2).

В некоторых вариантах осуществления иммунный ответ представляет собой один или оба из иммунного ответа TH1 и ответа TH2. В других вариантах осуществления иммунный ответ обеспечивает один или оба повышенный ответ TH1 и повышенный ответ TH2.

В некоторых вариантах осуществления повышенный иммунный ответ представляет собой один или оба из системного и мукозного иммунного ответа. В других вариантах осуществления иммунный ответ обеспечивает один или оба повышенный системный и повышенный мукозный иммунный ответ. В некоторых вариантах осуществления мукозный иммунный ответ является иммунным ответом TH2. В некоторых вариантах осуществления мукозный иммунный ответ включает повышение продукции IgA.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, представленные в настоящем описании, применяют в качестве вакцин, где такие композиции содержат иммунологически эффективное количество одного или более антигенов.

Антигены для применения в иммуногенных композициях, представленных здесь, могут быть предоставлены в эффективном количестве (например, количество, эффективное для применения в терапевтических, профилактических или диагностических методах). Например, иммуногенные композиции избрения можно использовать для лечения или предотвращения инфекций, вызываемых любым из перечисленных ниже патогенов.

Антигены для применения в иммуногенных композициях, представленных здесь, обычно представляют собой макромолекулы (например, полипептиды, полисахариды, полинуклеотиды), которые являются чужеродными для хозяина, и включают, но без ограничения один или более из антигенов, указанных ниже, или антигенов, полученных из одного или более патогенов указанных ниже.

Бактериальные антигены.

Бактериальные антигены, подходящие для применения в иммуногенных композициях, представленных здесь, включают, но без ограничения белки, полисахариды, липополисахариды, полинуклеотиды и везикулы наружной мембраны, которые выделяют, очищают или получают из бактерий. В некоторых вариантах осуществления бактериальные антигены включают бактериальные лизаты и инактивированные бактериальные препараты. В некоторых вариантах осуществления бактериальные антигены получают с помощью рекомбинантного экспрессирования. В некоторых вариантах осуществления бактериальные антигены включают эпитопы, которые представлены на поверхности бактерий во время по меньшей мере одной стадии их жизненного цикла. Бактериальные антигены предпочтительно сохраняются в нескольких серотипах. В некоторых вариантах осуществления бактериальные антигены включают антигены, полученные из одной или более бактерий, упомянутых ниже, а также конкретные примеры антигенов, указанные ниже.

Neisseria meningitidis: антигены возбудителей менингита включают, но без ограничения белки, сахараиды (включая полисахарид, олигосахарид, липоолигосахарид или липополисахарид), или везикулы наружной мембраны, выделенные или полученные из серогруппы N. *Meningitidis*, такие как A, C, W135, Y, X и/или B. В некоторых вариантах осуществления белковые антигены возбудителей менингита выбирают из адгезинов, автотранспортеров, токсинов, белков, ответственных за захват Fe, и мембраноассо-

цированных белков (предпочтительно интегральный белок наружной мембраны).

Streptococcus pneumoniae: антигены *Streptococcus pneumoniae* включают, но без ограничения сахарид (включая полисахарид или олигосахарид) и/или белок *Streptococcus pneumoniae*. Сахарид может представлять собой полисахарид, размер которого обусловлен способом выделения сахара из бактерии, или он может представлять собой олигосахарид, полученный путем фрагментации указанного полисахарида. В 7-валентном продукте PREVAR™, например, 6 сахаридов представлены в виде интактных полисахаридов, тогда как один (серотип 18С) представлен в виде олигосахарида. В некоторых вариантах осуществления сахаридные антигены выбирают из одного или более следующих пневмококковых серотипов 1, 2, 3, 4, 5, 6А, 6В, 7F, 8, 9N, 9V, 10А, 11А, 12F, 14, 15В, 17F, 18С, 19А, 19F, 20, 22F, 23F и/или 33F. Иммуногенная композиция может содержать несколько серотипов, например 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или более серотипов. В данной области техники уже известны 7-валентная, 9-валентная, 10-валентная, 11-валентная и 13-валентная конъюгированные комбинации, как существует 23-валентная неконъюгированная комбинация. Например, 10-валентная комбинация может содержать сахарид серотипов 1, 4, 5, 6В, 7F, 9V, 14, 18С, 19F и 23F. 11-валентная комбинация может содержать, кроме того, сахарид серотипа 3. 12-валентная комбинация может добавлять к 10-валентной смеси: серотипы 6А и 19А; 6А и 22F; 19А и 22F; 6А и 15В; 19А и 15В; 12F и 15В. 13-валентная комбинация может добавлять к 11-валентной смеси: серотипы 19А и 22F; 8 и 12F; 8 и 15В; 8 и 19А; 8 и 22F; 12F и 15В; 12F и 19А; 12F и 22F; 15В и 19А; 15В и 22F. и т.д. В некоторых вариантах осуществления белковые антигены могут быть выбраны из белка, указанного в международных патентах WO98/18931, WO98/18930, патентах США US6699703, US6800744, в международных патентах WO97/43303, WO97/37026, WO02/079241, WO02/34773, WO00/06737, WO00/06738, WO00/58475, WO2003/082183, WO00/37105, WO02/22167, WO02/22168, WO2003/104272, WO02/08426, WO01/12219, WO99/53940, WO01/81380, WO2004/092209, WO00/76540, WO2007/116322, в публикациях LeMieux et al, Infect. Imm. (2006) 74:2453-2456, Hoskins et al, J. Bacteriol. (2001) 183:5709-5717, Adamou et al, Infect. Immun. (2001) 69 (2) :949-958, Briles et al, J. Infect. Dis. (2000) 182: 1694-1701, Talkington et al, Microb. Pathog. (1996) 21(1):17-22, Bethe et al, FEMS Microbiol. Lett. (2001) 205 (1): 99-104, Brown et al, Infect. Immun. (2001) 69:6702-6706, Whalen et al, FEMS Immunol. Med. Microbiol. (2005) 43:73-80, Jomaa et al, Vaccine (2006) 24(24):5133-5139. В других вариантах осуществления белки *Streptococcus pneumoniae* могут быть выбраны из белков полигистидинового триадного семейства (PhtX), семейства холинсвязывающих белков (CbpX), укороченных CbpX, LytX-семейства, укороченных LytX, химерных белков укороченный CbpX - укороченный LytX, пневмолизина (Ply), PspA, PsaA, Sp128, Sp101, Sp130, Sp125, Sp133, субъединиц пневмококкового пилуса.

Streptococcus pyogenes (стрептококк группы А): антигены стрептококка группы А включают, но без ограничения белок, указанный в международном патенте WO02/34771 или WO2005/032582 (включая GAS 40), слияния фрагментов белков GAS М (включая описанные в международном патенте WO02/094851, и в публикации Dale, Vaccine (1999) 17: 193-200, и Dale, Vaccine 14(10): 944-948), фибриноктин-связывающий белок (SfbI), стрептококковый гемм-ассоциированный белок (Shp), и стрептолизин S (SagA).

Moraxella catarrhalis: антигены моракселлы включают, но без ограничения антигены, указанные в международном патенте WO02/18595 и WO99/58562, белковые антигены внешней мембраны (HMW-OMP), С-антиген и/или LPS.

Bordetella pertussis: антигены коклюша включают, но без ограничения, голотоксин коклюша (PT) и филаментный гемагглютинин (FHA) из *B. pertussis*, необязательно также в комбинации с пертактином и/или агглютиногенами 2 и 3.

Burkholderia: антигены *Burkholderia* включают, но без ограничения антигены, полученные из *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei* и *Burkholderia cepacia*.

Staphylococcus aureus: антигены *Staph. aureus* включают, но без ограничения полисахарид и/или белок *S. aureus*. Полисахариды *S. aureus* включают, но без ограничения капсульные полисахариды типа 5 и типа 8 (CP5 и CP8) необязательно конъюгированные с нетоксическим рекомбинантным экзотоксином А *Pseudomonas aeruginosa*, такие как *Staph VAX™*, полисахариды типа 336 (336PS), полисахаридные межклеточные адгезины (PIA, также известный, как PNAG). Белки *S. aureus* включают, но без ограничения антигены, полученные из поверхностных белков, инвазинов (лейкоцидин, киназы, гиалуронидаза), поверхностных факторов, которые ингибируют фагоцитарное поглощение (капсульные белки, протеин А), каротиноидов, продуктов действия каталазы, протеина А, коагулазы, фактора свертывания крови, и/или повреждающих мембраны токсинов (необязательно детоксифицированных), которые лизируют мембраны эукариотических клеток (гемолизин, лейкотоксин, лейкоцидин). В некоторых вариантах осуществления антигены *S. aureus* могут быть выбраны из белка, указанного в международных патентах WO02/094868, WO2008/019162, WO02/059148, WO02/102829, WO03/011899, WO2005/079315, WO02/077183, WO99/27109, WO01/70955, WO00/12689, WO00/12131, WO2006/032475, WO2006/032472, WO2006/032500, WO2007/113222, WO2007/113223, WO2007/113224. В других вариантах осуществления антигены *S. aureus* могут быть выбраны из IsdA, IsdB, IsdC, SdrC, SdrD, SdrE, ClfA, ClfB, SasF, SasD,

SasH (AdsA), Spa, EsaC, EsxA, EsxB, Emp, HlaH35L, CP5, CP8, PNAG, 336PS.

Staphylococcus epidermidis: антигены *S. epidermidis* включают, но без ограничения антиген слизи (SAA).

Clostridium tetani (столбняк): антигены столбняка включают, но без ограничения, столбнячный токсин (ТТ). В некоторых вариантах осуществления такие антигены применяют в качестве белка-носителя в соединении/конъюгированного с иммуногенными композициями, предоставляемыми здесь.

Clostridium perfringens: антигены включают, но без ограничения эпсилон-токсин, выделяемый из *Clostridium perfringens*.

Clostridium botulinum (ботулизм): антигены ботулизма включают, но без ограничения, антигены полученные из *C. botulinum*.

Corynebacterium diphtheriae (дифтерия): антигены дифтерии включают, но без ограничения, дифтерийный токсин, предпочтительно детоксифицированный, такие как CRM 197. Кроме того, антигены, способные модулировать, ингибировать или ассоциировать с АДФ-рибозилированием рассматриваются для комбинации/совместного введения/конъюгирования с иммуногенными композициями, предоставляемыми здесь. В некоторых вариантах осуществления дифтерийные токсиниды применяют в качестве белков-носителей.

Haemophilus influenzae B (Hib): антигены Hib включают, но без ограничения, сахаридный антиген Hib.

Pseudomonas aeruginosa: антигены псевдомонас включают, но без ограничения эндотоксин А, белок Wzz, LPS P. *aeruginosa*, LPS, выделенный из PAO1 (серотип 05), и/или белки внешней мембраны, включая белки F внешней мембраны (OprF).

Legionella pneumophila: бактериальные антигены, полученные из *Legionella pneumophila*.

Coxiella burnetii: бактериальные антигены, полученные из *Coxiella burnetii*.

Brucella: бактериальные антигены, полученные из рода *Brucella*, включая, но без ограничения *B. abortus*, *B. canis*, *B. melitensis*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. suis* и *B. pinnipediae*.

Francisella: бактериальные антигены, полученные из рода *Francisella*, включая, но без ограничения *F. novicida*, *F. philomiragia* и *F. tularensis*.

Streptococcus agalactiae (стрептококк группы В): антигены стрептококка группы В включают, но без ограничения белковый или сахаридный антиген, указанный в международных патентах WO02/34771, WO03/093306, WO04/041157, или WO2005/002619 (включая белки GBS 80, GBS 104, GBS 276 и GBS 322, и включая сахаридные антигены, полученные из серотипов 1a, 1b, 1a/c, II, III, IV, V, VI, VII и VIII).

Neisseria gonorrhoeae: антигены гонореи включают, но без ограничения белок Por (или порин), такой как PorB (см. Zhu et al., Vaccine (2004) 22:660-669), трансферринсвязывающий белок, такой как TbpA и TbpB (см. Price et al., Infection and Immunity (2004) 71(1):277-283), белок мутности (такой как Opa), восстановительно-изменяемый протеин (Rmp) и препараты везикул наружной мембраны (OMV) (см. Plante et al., J Infectious Disease (2000) 182:848-855), также см., например, международные патенты WO99/24578, WO99/36544, WO99/57280, WO02/079243).

Chlamydia trachomatis: антигены *Chlamydia trachomatis* включают, но без ограничения антигены, полученные из серотипов A, B, Ba и C (возбудители трахомы, вызывают слепоту), серотипы L1, L2 & L3 (ассоциированы с Lymphogranuloma venereum), и серотипы D. В некоторых вариантах осуществления антигены *Chlamydia trachomatis* включают, но без ограничения антиген, указанный в международных патентах WO00/37494, WO03/049762, WO03/068811 или WO05/002619, включая RepA (CT045), LcrE (CT089), ArtJ (CT381), DnaK (CT396), CT398, OmpH-like (CT242), L7/L12 (CT316), OmcA (CT444), AtosS (CT467), CT547, Eno (CT587), HrtA (CT823) и MurG (CT761).

Treponema pallidum (сифилис): антигены сифилиса включают, но без ограничения антиген TmpA.

Haemophilus ducreyi (вызывает мягкий шанкр): антигены *Ducreyi* включают, но без ограничения белок внешней мембраны (DsrA).

Enterococcus faecalis или *Enterococcus faecium*: антигены включают, но без ограничения трисахаридный повтор или другие антигены, полученные из энтерококка.

Helicobacter pylori: антигены *H. pylori* включают, но без ограничения Cag, Vac, Nap, HopX, HopY и/или антиген уреазы.

Staphylococcus saprophyticus: антигены включают, но без ограничения, гемагглютинин 160 кДа антигена *S. saprophyticus*.

Yersinia enterocolitica: антигены включают, но без ограничения LPS.

E. coli: антигены *E. coli* могут быть получены из энтеротоксигенной *E. coli* (ETEC), энтероагрегативной *E. coli* (EAggEC), диффузно адгезирующей *E. coli* (DAEC), энтеропатогенной *E. coli* (EPEC), некишечно-патогенной *E. coli* (ExPEC) и/или энтерогеморрагической *E. coli* (EHEC). Антигены ExPEC включают, но без ограничения дополнительный фактор колонизации (orf3526), orf353, бактериальный белок Ig-подобного домена (группы 1) (orf405), orf1 364, эффлюксный переносчик липопroteина фактора наружной мембраны семейства NodT (orf1 767), gspK (orf3515), gspJ (orf3516), tonB-зависимый рецептор сидерофора (orf3597), фимбриальный белок (orf3613), урес-948, урес-1232, предшественник цепи А фимбриального белка типа 1 (урес-1875), гомолог уар Н (урес-2820), и гемолизин А (геср-3768).

Bacillus anthracis (сибирская язва): антигены *B. anthracis* включают, но без ограничения А-компоненты (фактор летальности (LF) и фактор, вызывающий отек (EF)), которые оба имеют общий В-компонент, известный как протективный антиген (РА). В некоторых вариантах осуществления антигены *B. anthracis* необязательно детоксифицированы.

Yersinia pestis (чума): антигены чумы включают, но без ограничения капсульный антиген F1, LPS, антиген V *Yersinia pestis*.

Mycobacterium tuberculosis: антигены туберкулеза включают, но без ограничения липобелки, LPS, антигены BCG, гибридный белок антигена 85B (Ag85B), ESAT-6 необязательно в составе катионных липидных везикул, антигены *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), ассоциированные с изоцитратдегидрогеназой, и антигены MPT51.

Rickettsia: антигены включают, но без ограничения белки внешней мембраны, включая белок А и/или В (OmpB) внешней мембраны, LPS, и поверхностный белковый антиген (SPA).

Listeria monocytogenes: бактериальные антигены включают, но без ограничения, антигены, полученные из *Listeria monocytogenes*.

Chlamydia pneumoniae: антигены включают, но без ограничения антигены, указанные в международном патенте WO02/02606.

Vibrio cholerae: антигены включают, но без ограничения антигены протеазы, LPS, в особенности липополисахариды *Vibrio cholerae* II, 01 Inaba О-специфические полисахариды, *V. cholera* 0139, антигены вакцины IEM108 и токсин *Zonula occludens* (Zot).

Salmonella typhi (брюшной тиф): антигены включают, но без ограничения капсульные полисахариды, предпочтительно конъюгаты (Vi, т.е. vax-TyVi).

Borrelia burgdorferi (болезнь Лайма): антигены включают, но без ограничения липобелки (такие как OspA, OspB, OspC и OspD), другие поверхностные белки, такие как OspE-родственные белки (Egps), декорин-связывающие белки (такие как DbpA) и антигенно вариабельные белки VI, такие как антигены, ассоциированные с P39 и P13 (интегральный мембранный белок, белок антигенной изменчивости VlsE).

Porphyromonas gingivalis: антигены включают, но без ограничения белок внешней мембраны P. *gingivalis* (OMP).

Klebsiella: антигены включают, но без ограничения OMP, включая OMP A, или полисахарид, необязательно конъюгированный с токсидом столбняка.

Другие бактериальные антигены, применяемые в иммуногенных композициях, представленных здесь, включают, но без ограничения капсульные антигены, полисахаридные антигены, белковые антигены или полинуклеотидные антигены любого из возбудителей, перечисленных выше. Другие бактериальные антигены, применяемые в иммуногенных композициях, представленных здесь, включают, но без ограничения, препараты везикул наружной мембраны (OMV). Кроме того, другие бактериальные антигены, применяемые в иммуногенных композициях, представленных здесь, включают, но без ограничения живые, ослабленные и/или очищенные версии любой из вышеупомянутых бактерий. В некоторых вариантах осуществления бактериальные антигены, применяемые в иммуногенных композициях, представленных здесь, получают из грамположительных бактерий, тогда как в других вариантах осуществления их получают из грамотрицательных бактерий. В некоторых вариантах осуществления бактериальные антигены, применяемые в иммуногенных композициях, представленных здесь, получают из аэробных бактерий, тогда как в других вариантах осуществления их получают из анаэробных бактерий.

В некоторых вариантах осуществления любой из перечисленных выше сахаридов бактериального происхождения (полисахариды, LPS, LOS или олигосахариды) конъюгируют с другим агентом или антигеном, таким как белок-носитель (например, CRJVI₁₉₇). В некоторых вариантах осуществления указанные реакции конъюгирования являются реакциями прямого конъюгирования, осуществляемыми с помощью восстановительного аминирования карбонильных группировок сахара с аминокетильными группами белка. В других вариантах осуществления сахариды конъюгируют через линкер, например, с помощью сукцинамида или других линкеров, представленных в публикации Bioconjugate Techniques, 1996 и CRC, Chemistry of Protein Conjugation and Cross-Linking, 1993.

В некоторых вариантах осуществления полезные для лечения или предотвращения инфекции *Neisseria* и связанных заболеваний и нарушений рекомбинантные белки из *N. meningitidis* для применения в иммуногенных композициях, представленных здесь, можно найти в международных патентах WO99/24578, WO99/36544, WO99/57280, WO00/22430, WO96/29412, WO01/64920, WO03/020756, WO04/048404 и WO04/032958. Такие антигены можно использовать по отдельности или в комбинациях. Если комбинируют несколько очищенных белков, то целесообразно использовать смесь из 10 или менее (например, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2) очищенных антигенов.

Особенно полезная комбинация антигенов для применения в иммуногенных композициях, представленных здесь, раскрыта в публикации Giuliani et al. (2006) Proc Natl Acad Sci USA 103(29): 10834-9 и WO2004/032958, и такая иммуногенная композиция может содержать 1, 2, 3, 4 или 5 из: (1) белок 'NadA' белок (также называемый GNA 1994 и NMB 1994); (2) белок 'HBP' (также называемый '741', LP2086, GNA1870, и NMB 1870); (3) белок '936' (также называемый GNA2091 и NMB2091); (4) белок '953' (также называемый GNA1030 и NMB 1030); и (5) белок '287' (также называемый GNA2132 и NMB2132). Другие

возможные антигенные комбинации содержат трансферрин-связывающий белок (например, TbpA и/или TbpB) и антиген Hsf. Другие возможные очищенные антигены для применения в иммуногенных композициях, представленных здесь, включают белки, состоящие из одной из следующих последовательностей аминокислот: SEQ ID NO: 650 из WO99/24578; SEQ ID NO:878 из WO99/24578; SEQ ID NO:884 из WO99/24578; SEQ ID NO: 4 из WO99/36544; SEQ ID NO: 598 из WO99/57280; SEQ ID NO:818 из WO99/57280; SEQ ID NO:864 из WO99/57280; SEQ ID NO:866 из WO99/57280; SEQ ID NO: 1196 из WO99/57280; SEQ ID NO:1272 из WO99/57280; SEQ ID NO: 1274 из WO99/57280; SEQ ID NO:1640 из WO99/57280; SEQ ID NO: 1788 из WO99/57280; SEQ ID NO:2288 из WO99/57280; SEQ ID NO:2466 из WO99/57280; SEQ ID NO:2554 из WO99/57280; SEQ ID NO:2576 из WO99/57280; SEQ ID NO:2606 из WO99/57280; SEQ ID NO:2608 из WO99/57280; SEQ ID NO:2616 из WO99/57280; SEQ ID NO:2668 из WO99/57280; SEQ ID NO:2780 из WO99/57280; SEQ ID NO:2932 из WO99/57280; SEQ ID NO:2958 из WO99/57280; SEQ ID NO:2970 из WO99/57280; SEQ ID NO:2988 из WO99/57280 (каждая из упомянутых выше аминокислотных последовательностей включена посредством ссылки на цитируемый документ), или полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая: (a) имеет 50% идентичности или более (например, 60, 70, 80, 90, 95, 99% или более) с указанными последовательностями; и/или (b) содержит фрагмент по меньшей мере из n следующих подряд аминокислот из указанных последовательностей, где n равно 7 или более (например, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 или более). Предпочтительные фрагменты для (b) содержат эпитоп из соответствующей последовательности. Более чем один (например, 2, 3, 4, 5, 6) из указанных полипептидов может быть включен в иммуногенные композиции.

Антиген fHBP подразделяется на три различных варианта (WO2004/048404). Вакцина серогруппы N. meningitidis на основе иммуногенных композиций, раскрытых здесь, с применением одного из соединений, раскрытых здесь, может содержать один вариант fHBP, но более практично, если она содержит fHBP двух или всех трех вариантов. Таким образом, иммуногенная композиция может содержать комбинацию из двух или трех различных очищенных fHBP, выбранных из: (a) первого белка, содержащего аминокислотную последовательность, характеризующуюся, по меньшей мере, a% идентичности последовательности с SEQ ID NO:1 и/или содержащего аминокислотную последовательность, состоящую из фрагмента, по меньшей мере, из x смежных аминокислот SEQ ID NO: 1; (b) второго белка, содержащего аминокислотную последовательность, характеризующуюся, по меньшей мере, b% идентичности последовательности с SEQ ID NO:2 и/или содержащего аминокислотную последовательность, состоящую из фрагмента, по меньшей мере, из y смежных аминокислот SEQ ID NO: 2; и/или (c) третьего белка, содержащего аминокислотную последовательность, характеризующуюся, по меньшей мере, c% идентичности последовательности с SEQ ID NO:3 и/или содержащего аминокислотную последовательность, состоящую из фрагмента, по меньшей мере, из z смежных аминокислот SEQ ID NO: 3

SEQ ID NO: 1

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLNKDKVSRFDFIRQIEV
DGQLITLESGEFQYKQSHSALTAFTQTEQIQDSEHSGKMKVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLEGGGRATYRGTAFGSDD
AGGKLTYYTIDFAAKQGGNGKIEHLKSPENLVDLAAADIKPDGKRHAVISGSLVYNQAEKGSYSLGIFFGGAQEVAGSA
EVKTVNGIRHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 2

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLNKDKVSRFDFIRQIEV
DGQLITLESGEFQYKQDHSVAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSLGGGHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDA
GGKLTYYTIDFAAKQGGNGKIEHLKTPQNVELAAAEKKADEKSHAVILGDTRYGSEKGTYNHLALFGDRAQEIAGSAT
VKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 3

VAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLSAQAQGAEKTFKAGDKDNLNTGKLNKDKISRDFVQK
IEVDGQTIITLASGEFQYKQNHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSLGGGHTAFNQLPFGGKAEYHGKAFSS
DDPNGLRHYSIDFTKQGYGRIEHLKTEQNVELAAAEKKADEKSHAVILGDTRYGSEKGTYNHLALFGDRAQEIAG
SATVKIGEKVHEIGIAGKQ.

Значение a составляет по меньшей мере 85, например, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5, или более. Значение b составляет по меньшей мере 85, например 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5, или более. Значение c составляет по меньшей мере 85, например 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5, или более. Значения a, b и c не связаны, по существу, друг с другом.

Значение x составляет по меньшей мере 7, например 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 225, 250). Значение y составляет по меньшей мере 7, например 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 225, 250). Значение z составляет по меньшей мере 7, например 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 225, 250). Значения x, y и z не связаны, по существу, друг с другом.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, которые раскрыты здесь, будут включать белок (белки) fHBP, которые липидизируют, например, по N-концевому цистеину. В других вариантах осуществления они могут быть не липидизированы.

Полезная иммуногенная композиция, раскрытая в описании, содержит очищенные белки, включает

смесь: (i) первого полипептида, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; (ii) второго полипептида, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; и (iii) третьего полипептида, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; см. Giuliani et al. (2006) Proc Natl Acad Sci USA 103(29):10834-9 и международный патент WO2004/032958. Полезная иммуногенная композиция, которая раскрыта в описании, содержит очищенные белки, включает смесь: (i) первого полипептида, характеризующегося, по меньшей мере, а% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4; (ii) второго полипептида, характеризующегося, по меньшей мере, b% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5; и (iii) третьего полипептида, характеризующегося, по меньшей мере, а% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6.

SEQ ID NO: 4

```
MASPDVKSADTLSPAAPVSEKETEAKEDAPQAGSQGQGFSAQGGQDMAAVSEENTGNGGAAATDKPKNEDEBGAQ
NDMPQNAADTDSLTPNHTPASNMPAGNMPENQAFDAGESEQPANQPDMAANTADGMQDDPSAGGENAGNTAAQGTNQA
ENNQTAGSQNPASSTNPSATNSGGDFGRNTVNGNSVVIDGSPQNI TLTHCKGSDSCSNFLDEEVQLKSEFEKLSADAD
KISNYKKDGNKNDKFKVGLVADSVQMKGINQYII FYKPKPTS FARFRRSARSRRLPAEMPLI PVNQADTLIVDG
EAVSLTGHSGNI FAPEGNYRILTYGAEKLPGGSYALRVQGEPSKGEMLAGTAVYNGEVLHFHFTENGRFSPSRGRFAA
KVDGSKSVDI IDSGDGLHMGTKFKFAAIDGNGFKGTWTEGGGVDVSGKFGYPAGEVAGKYSYRPTDAEKGFGV
FAGKKEQDGGGGATYKVDYHANAARFAIDHFNTSTNVGGPYGLTGSVEFDQAKRDGKIDITIPVANLQSGSQHFT
DHLKSADIFDAAQYVDIRFVSTKFNFNKGLVSDGNLTMHGKTA PVKLAEKFNQYQSPMAKTEVCGGDFSTIDR
TKWGVVYLVNVMGTMKSVRIIDIQIEAAKQ
```

SEQ ID NO: 5

```
MVSAVIGSAAVGAKS AVDRRTTGAQTDDNVMALRIETTARSYL RQNNQTKGYTPQISVVGYNRHLLLLGQVATEGEK
QFVGGIARSEQAAGVYNYITVASLPRTAGDIAGDTWNTSKVRATLLGLSPATQARVKIVTYGNVTVVMGILTPPEEQ
AQITQKVTITVGVQKVI TLTYQNYVQRGSGGGVAADIGAGLADAL TAPLDHDKKGLQSLTLDQSVR KNEKLLAAQG
AEKTYNGDLSLNTGKLNKDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTAFTQTEQIQDSEHSGKMWAKRF
RIGDIAGEHTSFDKLP EGGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYYTIDFAAKQGGNKIEHLKSP ELNVDLAAADIKPDGKRHA
VISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGKAQEVAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQ
```

SEQ ID NO: 6

```
ATNDDDVKKAATVAIAAAYMNGQEI NGFKAGETIYDIDEDGTITTKDATAADVEADDFKGLGKVVNTLTKTVNEN
KQNVDAKVKAAESEIEKLTTLADTDAALADTDAALDATTNALNKLGENITTFAEETKNTNIVKIDEKLEAVADTVDK
HAEAFNDIADSLDETNTKADEAVKTA NEAKQTAEETKQNVDAKVKAAETAAGKAEAAAGTANTAADKAEVAAVKVD
IKADIATNKDNIAKKANSADVYTR EESDSKFVRIDGLNATTEKLDTRLASAEKS IADHDTRELNGLDKTVSDLRKETR
QGLAEQAALSGLFQYVNVG.
```

Антигены бактериальных везикул.

Иммуногенные композиции, раскрытые в описании, могут содержать везикулы наружной мембраны. Такие везикулы наружной мембраны можно получить из широкого ряда патогенных бактерий и использовать в качестве антигенных компонентов иммуногенных композиций, раскрытых в описании. Везикулы для применения в качестве антигенных компонентов таких иммуногенных композиций включают любую протеолипосомную везикулу, получаемую при разрушении бактериальной наружной мембраны с формированием везикул, которые содержат белковые компоненты наружной мембраны. Таким образом, термин включает OMV (иногда называемых "пузырьками"), микровезикул (MV, см., например, WO02/09643) и native OMV ("NOMV" см., например, Katial et al. (2002) Infect. Immun. 70:702-707). Иммуногенные композиции, раскрытые в описании, которые содержат везикулы из одной или более патогенных бактерий, можно использовать в лечении или профилактике инфекции, вызываемой такими патогенными бактериями, и связанных заболеваний и нарушений.

MV и NOMV представляют собой естественные мембранные везикулы, которые образуются спонтанно во время бактериального роста и высвобождаются в культуральную среду. MV можно получить с помощью культивирования бактерий, таких как *Neisseria*, в бульонной культуральной среде, отделения целых клеток от более мелких MV в бульонной культуральной среде (например, помощью фильтрации или низкоскоростного центрифугирования, чтобы осадить только клетки, не осадить более мелкие везикулы), и затем сбора MV из клеточно-истощенной среды (например, с помощью фильтрации, дифференциального осаждения или агрегации MV, с помощью высокоскоростного центрифугирования для осаждения MV). Штаммы для применения в получении MV обычно можно выбрать, исходя из количества MV, произведенного в культуре (см., например, патент США US6180111 и международный патент WO01/34642, описывающие штамм *Neisseria* с высокой продукцией MV).

OMV получают искусственным образом из бактерий, и они могут быть получены с помощью обработки детергентом (например, дезоксихолом), или недетергентными средствами (см., например, международный патент WO04/019977). Способы получения подходящих препаратов OMV хорошо известны в данной области. Методики формирования OMV включают обработку бактерий детергентом на основе солей желчных кислот (например, соли литохолевой кислоты, хенодезоксихолевой кислоты, урсодезоксихолевой кислоты, дезоксихолевой кислоты, холевой кислоты, урсохолевой кислоты и т.д., с дезоксихолом натрия (EP0011243 и Fredriksen et al. (1991) NIPH Ann. 14(2):67-80) являются предпочтительными для обработки штамма *Neisseria*) при значении pH достаточно высоким, чтобы не осадить детергент (см., например, международный патент WO01/91788). Другие методики могут быть выполнены, по существу, без детергента (см., например, международный патент WO04/019977) с применением технических приемов, таких как обработка ультразвуком, гомогенизация, микрофлюидизация, кавитация, осмотический шок, измельчение, "французский жим", перемешивание и т.д. Методы без использования детергента или с использованием слабого детергента могут сохранить полезные антигены, такие как NspA в OMV из

бактерий *Neisseria*. Таким образом, в методе можно использовать буфер для экстракции OMV с содержанием дезоксихолата приблизительно 0,5% или ниже, например приблизительно 0,2%, приблизительно 0,1%, <0,05% или без дезоксихолата.

Полезный способ получения OMV описан в международном патенте WO05/004908, и он включает ультрафильтрацию неочищенных OMV, вместо высокоскоростного центрифугирования. Способ может включать стадию ультрацентрифугирования после проведения ультрафильтрации.

Везикулы можно получить из любого патогенного штамма, например *Neisseria meningitidis* для применения с настоящим изобретением. Везикулы из *Neisseria meningitidis* серогруппы В могут быть получены из любого серотипа (например, 1, 2a, 2b, 4, 14, 15, 16 и т.д.), любого сероподтипа, и любого иммунотипа (например, L1; L2; L3; L3,3,7; L10 и т.д.). Менингококки могут представлять собой менингококки любой подходящей линии, включая гиперинвазивные и гипервирулентные линии, например, любой из следующих семи гипервирулентных линий: подгруппа I; подгруппа III; подгруппа IV 1; комплекс ET 5; комплекс ET 37; кластер A4; линия 3. Указанные линии определяли с помощью мультилокусного ферментного электрофореза (MLEE), но мультилокусное типирование последовательностей (MLST) также использовали для классификации менингококков, например комплекс ET 37 является комплексом ST 11 согласно MLST, комплекс ET 5 является ST-32 (ET-5), линия 3 является ST 41/44 и т.д. Везикулы можно приготовить из штаммов одного из следующих подтипов: P1.2; P1.2,5; P1.4; P1.5; P1.5,2; P1.5,c; P1.5c,10; P1.7,16; P1.7,16b; P1.7h,4; P1.9; P1.15; P1.9,15; P1.12,13; P1.13; P1.14; P1.21,16; P1.22,14.

Везикулы, включенные в иммуногенные композиции, раскрытые в описании, можно получить из патогенных штаммов дикого типа, таких как штаммы *N. meningitidis* или из мутантных штаммов. Например, международный патент WO98/56901 раскрывает препараты везикул, полученные из *N. meningitidis* с модифицированным геном *fur*. В международном патенте WO02/09746 указано, что следует активировать экспрессию *nspA* с одновременным нокаутом *PorA* и *cps*. Дополнительные нокаутные мутанты *N. meningitidis* для получения OMV раскрыты в международных патентах WO02/0974, WO02/062378, и WO04/014417. Международный патент WO06/081259 раскрывает везикулы, в которых активирован *fHBP*. Claassen et al. (1996) 14(10):1001-8, раскрывают конструкцию везикул из модифицированных штаммов, экспрессирующих шесть различных подтипов *PorA*. Мутант *Neisseria* с низкими уровнями эндотоксина, достигаемыми с помощью нокаута ферментов, вовлеченных в биосинтез LPS, также можно использовать (см., например, международный патент WO99/10497 и публикацию Steeghs et al (2001) 120:6937-6945). Указанные или другие мутанты можно использовать в настоящем изобретении.

Таким образом, штаммы *N. meningitidis* серогруппы В, содержащиеся в иммуногенных композициях, раскрытых в описании, в некоторых вариантах осуществления могут экспрессировать более чем один подтип *PorA*. Ранее были созданы шестивалентные и девятивалентные *PorA* штаммы. Штамм может экспрессировать 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 подтипов *PorA*: P1.7,16; P1.5-1,2-2; P1.19, 15-1; P1.5-2, 10; P1.12 1,13; P1.7-2,4; P1.22,14; P1.7-1,1 и/или P1.18-1,3,6. В других вариантах осуществления в штамме может быть подавлена экспрессия *PorA*, например, в котором количество *PorA* снижено по меньшей мере на 20% (например, >30, >40, >50, >60, >70, >80, >90, >95% и т.д.), или даже ген может быть инактивирован, по сравнению с уровнями активности в штамме дикого типа (например, по сравнению со штаммом H44/76, как раскрыто в международном патенте WO03/105890).

В некоторых вариантах осуществления штаммы *N. meningitidis* серогруппы В могут экспрессировать в повышенных количествах (по сравнению с соответствующим штаммом дикого типа) определенные белки. Например, штамм может экспрессировать в повышенном количестве *NspA*, белок 287 (WO01/52885 - также обозначаемый как NMB2132 и GNA2132), один или более *fHBP* (WO06/081259 и патентная публикация США U.S.2008/0248065 - также обозначаемый как белок 741, NMB1870 и GNA1870), *TbpA* и/или *TbpB* (WO00/25811), *Cu,Zn-супероксиддисмутазу* (WO00/25811) и т.д.

В некоторых вариантах осуществления штаммы *N. meningitidis* серотипа В могут содержать одну или более нокаутных мутаций и/или мутаций, приводящих к повышенной экспрессии.

Предпочтительные гены для супрессии и/или нокаута включают: (a) *Cps*, *CtrA*, *CtrB*, *CtrC*, *CtrD*, *FrpB*, *GalE*, *HtrB/MsbB*, *LbpA*, *LbpB*, *Lpx*, *Opa*, *Opc*, *PilC*, *PorB*, *SiaA*, *SiaB*, *SiaC*, *SiaD*, *TbpA*, и/или *TbpB* (международный патент WO01/09350); (b) *CtrA*, *CtrB*, *CtrC*, *CtrD*, *FrpB*, *GalE*, *HtrB MsbB*, *LbpA*, *LbpB*, *LpxK*, *Opa*, *Opc*, *PhoP*, *PilC*, *PmrE*, *PmrF*, *SiaA*, *SiaB*, *SiaC*, *SiaD*, *TbpA*, и/или *TbpB* (международный патент WO02/09746); (c) *ExbB*, *ExbD*, *rmpM*, *CtrA*, *CtrB*, *CtrD*, *GalE*, *LbpA*, *LpbB*, *Opa*, *Opc*, *PilC*, *PorB*, *SiaA*, *SiaB*, *SiaC*, *SiaD*, *TbpA*, и/или *TbpB* (международный патент WO02/062378); и (d) *CtrA*, *CtrB*, *CtrD*, *FrpB*, *OpA*, *OpC*, *PilC*, *PorB*, *SiaD*, *SynA*, *SynB*, и/или *SynC* (международный патент WO04/014417).

В случае использования мутантного штамма, в некоторых вариантах осуществления он может обладать одной или более, или всеми из следующих характеристик: (i) супрессированный или нокаутный *LgtB* и/или *GalE* с получением усеченного менингококкового LOS; (ii) активированный *TbpA*; (iii) активированный *Hsf*; (iv) активированный *Omp85*; (v) активированный *LbpA*; (vi) активированный *NspA*; (vii) нокаутный *PorA*; (viii) супрессированный или нокаутный *FrpB*; (ix) супрессированный или нокаутный *Opa*; (x) супрессированный или нокаутный *Opc*; (xii) удаленный комплекс гена *cps*. Усеченный LOS может представлять собой LOS, который не содержит сиалил-лакто-N-неотетраозного эпитопа, например, может представлять собой галактозодефицитный LOS. LOS может не иметь цепи.

Если LOS присутствует в везикуле, то можно обработать везикулу, чтобы связать LOS и белковые компоненты (конъюгация "внутри пузырька" (международный патент WO04/014417)).

Иммуногенные композиции, раскрытые в описании, могут содержать смеси везикул из различных штаммов. Например, международный патент WO03/105890 раскрывает вакцину, содержащую мультивалентные композиции менингококковых везикул, содержащие первую частицу, полученную из менингококкового штамма с серотипом распространенным в стране применения, и вторую частицу, полученную из штамма, которая не должна иметь серотип, распространенный в стране применения. В международном патенте WO06/024946 раскрыты полезные комбинации различных везикул. В некоторых вариантах осуществления может использовать комбинацию везикул из штаммов из каждого из иммунотипов L2 и L3.

Антигены на основе везикул можно получить из серогрупп *N. meningitidis* других, чем серогруппа В (например, международный патент WO01/91788 раскрывает способ для серогруппы А). Иммуногенные композиции, раскрытые в описании, соответственно могут содержать везикулы, полученные из других серогрупп, чем В (например, А, С, W135 и/или Y) и из других бактериальных патогенов, чем *Neisseria*.

Вирусные антигены.

Вирусные антигены, подходящие для применения в иммуногенных композициях, представленных здесь, включают, но без ограничения инактивированный (или убитый) вирус, ослабленный вирус, препараты из расщепленных вирусных частиц, препараты из очищенных вирусных субъединиц, вирусные белки, которые можно выделить, очистить или получить из вируса, вирусоподобные частицы (VLP) и полинуклеотидные антигены, которые можно выделить, очистить или получить из вируса или синтезировать рекомбинантным путем. В некоторых вариантах осуществления вирусные антигены получают из вирусов, культивируемых на клеточной культуре или на другом субстрате. В других вариантах осуществления вирусные антигены экспрессируют рекомбинантно. В некоторых вариантах осуществления вирусные антигены предпочтительно содержат эпитопы, которые представлены на поверхности вируса, по меньшей мере, во время одной стадии их клеточного цикла. Вирусные антигены предпочтительно сохраняются у нескольких серотипов или изолятов. Вирусные антигены, подходящие для применения в иммуногенных композициях, представленных здесь, включают, но без ограничения антигены, полученные из одного или более вирусов, указанных ниже, а также примеры конкретных антигенов, указанных ниже.

Ортомиксовирус: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из ортомиксовируса, такие как вирусы гриппа А, В и С. В некоторых вариантах осуществления антигены ортомиксовируса выбирают из одного или более вирусных белков, включая гемагглютинин (HA), нейраминидазу (NA), нуклеопротеин (NP), матриксный белок (M1), мембранный белок (M2), один или более компонентов транскриптазы (PB1, PB2 и PA). В некоторых вариантах осуществления вирусный антиген включает HA и NA. В некоторых вариантах осуществления антигены гриппа получают из интерпандемических (годовых) штаммов гриппа, тогда как в других вариантах осуществления антигены гриппа получают из штаммов, способных вызвать вспышку пандемии (т.е. штаммы гриппа с новым гемагглютинином, по сравнению с гемагглютинином циркулирующих в настоящее время штаммов, или из штаммов гриппа, которые являются патогенными для птиц и способны передоидаться горизонтально в человеческой популяции, или из штаммов гриппа, которые патогенны для людей).

Вирусы семейства Paramyxoviridae: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из вирусов семейства Paramyxoviridae, таких как пневмовирусы (RSV), парамиксовирусы (PIV), метапневмовирусы и морбиллвирусы (корь).

Пневмовирус: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из пневмовируса, такого как респираторный синцитиальный вирус (RSV), коровий респираторный синцитиальный вирус, вирус пневмонии мышей, и вирус ринотрахеита индеек. Предпочтительно пневмовирус является RSV. В некоторых вариантах осуществления, антигены пневмовируса выбирают из одного или более следующих белков, включая поверхностные белки слияния (F), гликопротеин (G) и малый гидрофобный белок (SH), матриксные белки M и M2, нуклеокапсидные белки N, P и L и неструктурные белки NS1 и NS2. В других вариантах осуществления антигены пневмовируса включают антигены F, G и M. В некоторых вариантах осуществления антигены пневмовируса также включают в состав или получают из химерных вирусов, таких как, например, химерные вирусы RSV/PIV, содержащие компоненты RSV и PIV.

Парамиксовирус: вирусные антигены включают, но без ограничения, антигены, полученные из парамиксовируса, такого как вирус парагриппа типов 1-4 (PIV), вирус инфекционного паротита, вирусы Сендай, вирус Simian 5, вирус бычьего парагриппа, вирус Нипах, вирус *Henipavirus* и вирус псевдочумы птиц. В некоторых вариантах осуществления парамиксовирус представляет собой вирус PIV или вирус инфекционного паротита. В некоторых вариантах осуществления антигены парамиксовируса выбирают из одного или более из следующих белков: гемагглютинин-нейраминидаза (HN), белки слияния F1 и F2, нуклеопротеин (NP), фосфопротеин (P), большой белок (L), и матриксный белок (M). В других вариантах осуществления белки парамиксовируса включают HN, F1 и F2. В некоторых вариантах осуществления антигены парамиксовируса также включают в состав в виде или получают из химерных вирусов, таких как, например, химерные вирусы RSV/PIV, содержащие компоненты RSV и PIV. Коммерчески доступные вакцины против инфекционного паротита содержат живой ослабленный вирус инфекционного паротита.

тата, в моновалентной форме или в комбинации с вакцинами против кори и краснухи (MMR). В других вариантах осуществления парамиксовирус является вирусом Нипах или *Henipavirus*, и антигены выбирают из одного или более следующих белков: белок слияния (F), гликопротеин (G), матриксный белок (M), нуклеокапсидный белок (N), большой белок (L) и фосфопротеин (P).

Вирусы семейства *Poxviridae*: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из ортопоксвируса, такого как вирус натуральной оспы, включая, но без ограничения вирус черной оспы и вирус белой оспы.

Метапневмовирус: вирусные антигены включают, но без ограничения метапневмовирус, такой как человеческий метапневмовирус (hMPV) и птичий метапневмовирус (aMPV). В некоторых вариантах осуществления антигены метапневмовируса выбирают из одного или более следующих белков, включая поверхностные белки слияния (F), гликопротеин (G) и малый гидрофобный белок (SH), матриксные белки M и M2, нуклеокапсидные белки N, P и L. В других вариантах осуществления антигены метапневмовируса включают F, G и M. В некоторых вариантах осуществления антигены метапневмовируса также включают в состав в виде или получают из химерных вирусов.

Морбилливирусы: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из морбилливируса, например вируса кори. В некоторых вариантах осуществления антигены морбилливируса выбирают из одного или более следующих белков: гемагглютинин (H), гликопротеин (G), фактор слияния (F), большой белок (L), нуклеопротеин (NP), фосфопротеин полимеразы (P) и матриксный белок (M). Коммерчески доступные вакцины против кори содержат живой ослабленный вирус кори, обычно в комбинации с вирусом инфекционного паротита и краснухи (MMR).

Пикорнавирус: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из пикорнавирусов, таких как энтеровирусы, риновирусы, гепатитовирус, кардиовирусы и афтовирусы. В некоторых вариантах осуществления, антигены получают из энтеровирусов, тогда как в других вариантах осуществления энтеровирус является вирусом полиомиелита. В других вариантах осуществления антигены получают из риновирусов. В некоторых вариантах осуществления антигены включают в состав в вирусоподобных частицах (VLP).

Энтеровирус: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из энтеровируса, такого как вирус полиомиелита типов 1, 2 или 3, вирус коксаки А типов 1-22 и 24, вирус коксаки В типов 1-6, эховирус (ECHO) типов 1-9, 11-27 и 29-34 и энтеровирус 68-71. В некоторых вариантах осуществления антигены получают из энтеровирусов, тогда как в других вариантах осуществления энтеровирус является вирусом полиомиелита. В некоторых вариантах осуществления антигены энтеровируса выбирают из одного или более следующих капсидных белков VP0, VP1, VP2, VP3 и VP4. Коммерчески доступные вакцины против полиомиелита включают инактивированную полиовакцину (IPV) и пероральную вакцину вируса полиомиелита (OPV). В некоторых вариантах осуществления антигены включают в состав в вирусоподобных частицах.

Буньявирус: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из ортобуньявируса, такого как вирус калифорнийского энцефалита, флеховирус, такой как вирус лихорадки долины Рифт, или найровирус, такой как вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки.

Риновирус: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из риновируса. В некоторых вариантах осуществления антигены риновируса выбирают из одного или более следующих капсидных белков: VP0, VP1, VP2, VP2 и VP4. В некоторых вариантах осуществления антигены включают в состав в вирусоподобных частицах (VLP).

Гепарнавирус: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из гепарнавирусов, такие как, только в качестве примера, вирус гепатита А (HAV). Коммерчески доступные вакцины HAV включают инактивированную вакцину HAV.

Тогавирус: вирусные антигены включают, но без ограничения, антигены, полученные из тогавируса, такого как рубивирус, альфавирус, или артеривирус. В некоторых вариантах осуществления антигены получают из рубивируса, такого как, только в качестве примера, вирус краснухи. В некоторых вариантах осуществления антигены тогавируса выбирают из E1, E2, E3, С, NSP-1, NSP-2, NSP-3 или NSP-4. В некоторых вариантах осуществления антигены тогавируса выбирают из E1, E2 или E3. Коммерчески доступные вакцины против краснухи содержат живой холодоадаптированный вирус, обычно в комбинации с вакцинами против инфекционного паротита и кори (MMR).

Флавивирус: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из флавивируса, такого как вирус клещевого энцефалита (TBE), вирус лихорадки денге (типы 1, 2, 3 или 4), вирус желтой лихорадки, вирус японского энцефалита, вирус киасанурской лихорадки, вирус энцефалита Западного Нила, вирус энцефалита Сент-Луиса, вирус русского весенне-летнего энцефалита, вирус энцефалита Повассан. В некоторых вариантах осуществления антигены флавивируса выбирают из PrM, M, С, E, NS-1, NS-2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, and NS5. В некоторых вариантах осуществления антигены флавивируса выбирают из PrM, M и E. Коммерчески доступная вакцина TBE включает инактивированные вирусные вакцины. В некоторых вариантах осуществления антигены включают в состав в вирусоподобных частицах (VLP).

Пестивирус: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из пестиви-

руса, такого как вирус бычьей диареи (BVDV), классической лихорадки свиней (CSFV) или пограничная болезнь овец (BDV).

Гепаднавирус: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из гепаднавируса, такого как вирус гепатита В. В некоторых вариантах осуществления антигены гепаднавируса выбирают из поверхностных антигенов (L, M и S), коровых антигенов (HBc, HBe). Коммерчески доступные вакцины HBV включают субъединичные вакцины, содержащие поверхностный антиген белок S.

Вирус гепатита С: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из вируса гепатита С (HCV). В некоторых вариантах осуществления антигены HCV выбирают из одного или более полипротеинов E1, E2, E1/E2, NS345, ядерного полипротеина NS 345, ядерных пептидов и/или пептидов из неструктурных областей. В некоторых вариантах осуществления антигены вируса гепатита С включают одно или более из перечисленного ниже: белки HCV E1 и/или E2, гетеродимерные комплексы E1/E2, коровью белки и неструктурные белки, или фрагменты указанных антигенов, где неструктурные белки необязательно могут быть модифицированы, чтобы удалить ферментативную активность, но сохранить иммуногенность. В некоторых вариантах осуществления антигены включают в состав в вирусоподобных частицах (VLPs).

Рабдовирус: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из рабдовируса, такие как антигены лиссавируса (вирус бешенства) и везикуловируса (VSV). Антигены рабдовируса могут быть выбраны из гликопротеина (G), нуклеопротеина (N), большого белка (L), неструктурных белков (NS). Коммерчески доступные вакцины против вируса бешенства содержат убитый вирус, выращенный на диплоидных клетках человека или на фетальных клетках легкого макаки-резус.

Калицивирусы: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из калицивирусов, таких как вирус Норуолк, и Норуолкподобные вирусы, такие как вирус Гавайи и вирус Снежных гор. В некоторых вариантах осуществления антигены включают в состав в вирусоподобных частицах (VLPs).

Коронавирус: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из коронавируса, SARS, человеческого респираторного коронавируса, вируса птичьего инфекционного бронхита (IBV), вируса мышинного гепатита (MHV), и вирус трансмиссивного гастроэнтерита свиней (TGEV). В некоторых вариантах осуществления антигены коронавируса выбирают из антигенов шиловидных отростков (S), оболочки (E), матрикса (M), нуклеокапсида (N), и гликопротеина гемагглютинин-эстераза (HE). В некоторых вариантах осуществления антиген коронавируса происходит из вируса SARS. В некоторых вариантах осуществления антиген коронавируса происходит из вирусного антигена SARS, как описано в международном патенте WO04/92360.

Ретровирус: вирусные антигены включают, но без ограничения, антигены, полученные из ретровируса, такого как онковирус, лентивирус или спумавирус. В некоторых вариантах осуществления антигены онковируса получают из HTLV-1, HTLV-2 или HTLV-5. В некоторых вариантах осуществления антигены лентивируса получают из HIV-1 или HIV-2. В некоторых вариантах осуществления антигены получают из подтипов HIV-1 (или кладов), включая, но без ограничения подтипы HIV-1 (или клады) A, B, C, D, F, G, H, J, K, O. В других вариантах осуществления антигены получают из циркулирующих рекомбинантных форм HIV-1 (CRF), включая, но без ограничения A/B, A/E, A/G, A/G/I и т.д. В некоторых вариантах осуществления антигены ретровируса выбирают из gag, pol, env, tax, tat, rex, rev, nef, vif, vpr и vpr. В некоторых вариантах осуществления антигены HIV выбирают из gag (p24gag и p55gag), env (gpl 60 и gp41), pol, tat, nef, rev vpr, минибелков, (предпочтительно p55 gag и gpl 40v). В некоторых вариантах осуществления антигены HIV получают из одного или более следующих штаммов: HIVIIIb, HIVSF2, HIVLAV, HIVLAI, HIVM, HIV-1C235, HIV-1US4, HIV-1SF162, HIV-1TV1, HIV-1MJ4. В некоторых вариантах осуществления антигены получают из эндогенных ретровирусов человека, включая, но без ограничения HERV-K ("старый" HERV- и "новый" HERV-K).

Реовирус: вирусные антигены включают, но без ограничения, антигены, полученные из реовируса, такие как антигены ортореовируса, ротавируса, орбивируса, или колтивируса. В некоторых вариантах осуществления антигены реовируса выбирают из структурных белков X1, X2, A3, μ 1, μ 2, σ 1, σ 2, или σ 3, или из неструктурных белков σ NS, μ NS, или σ 1s. В некоторых вариантах осуществления антигены реовируса получают из ротавируса. В некоторых вариантах осуществления антигены ротавируса выбирают из VP1, VP2, VP3, VP4 (или продукта расщепления VP5 и VP8), NSP1, VP6, NSP3, NSP2, VP7, NSP4 или NSP5. В некоторых вариантах осуществления антигены ротавируса включают VP4 (или продукт расщепления VP5 и VP8) и VP7.

Парвовирус: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из парвовируса, такого как парвовирус B19. В некоторых вариантах осуществления антигены парвовируса выбирают из VP-1, VP-2, VP-3, NS-1 и NS-2. В некоторых вариантах осуществления антиген парвовируса представляет собой капсидный белок VP1 или VP-2. В некоторых вариантах осуществления антигены включают в состав в вирусоподобных частицах (VLPs).

Вирус гепатита дельта (HDV): вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из HDV, в особенности 5-антиген HDV.

Вирус гепатита E (HEV): вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из HEV.

Вирус гепатита G (HGV): вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из HGV.

Вирус герпеса человека: вирусные антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из вируса герпеса человека, такие как, только в качестве примера, вирусы простого герпеса (HSV), вирус ветряной оспы (VZV), вирус Эпштейна-Барр (EBV), цитомегаловирус (CMV), вирус герпеса человека 6 (HHV6), вирус герпеса человека 7 (HHV7), и вирус герпеса человека 8 (HHV8). В некоторых вариантах осуществления антигены вируса герпеса человека выбирают из предранних белков (α), ранних белков (β) и поздних белков (γ). В некоторых вариантах осуществления, антигены HSV получают из штаммов HSV-1 или HSV-2. В некоторых вариантах осуществления антигены HSV выбирают из гликобелков gB, gC, gD и gH, фузогена (gB), или белков, обеспечивающих ускользание от иммунного ответа (gC, gE или gI). В некоторых вариантах осуществления антигены VZV выбирают из коровых белков, нуклеокапсидных белков, белков тегумента или оболочки. Живая ослабленная VZV вакцина представлена на рынке. В некоторых вариантах осуществления антигены EBV выбирают из белков раннего антигена (EA), вирусного капсидного антигена (VCA) и гликобелков мембранного антигена (MA). В некоторых вариантах осуществления антигены CMV выбирают из капсидных белков, гликобелков оболочки (таких как gB и gH) и белков тегумента. В других вариантах осуществления антигены CMV могут быть выбраны из одного или более следующих белков: pp65, IE1, gB, gD, gH, gL, gM, gN, gO, UL128, UL129, gUL130, UL150, UL131, UL33, UL78, US27, US28, RL5A, RL6, RL10, RL11, RL12, RL13, UL1, UL2, UL4, UL5, UL6, UL7, UL8, UL9, UL10, UL11, UL14, UL15A, UL16, UL17, UL18, UL22A, UL38, UL40, UL41A, UL42, UL116, UL119, UL120, UL121, UL124, UL132, UL147A, UL148, UL142, UL144, UL141, UL140, UL135, UL136, UL138, UL139, UL133, UL135, UL148A, UL148B, UL148C, UL148D, US2, US3, US6, US7, US8, US9, US10, US11, US12, US13, US14, US15, US16, US17, US18, US19, US20, US21, US29, US30 и US34A. Антигены CMV также могут быть слитыми белками одного или более белков CMV, такие как, только в качестве примера pp65/IE1 (Reap et al, Vaccine (2007) 25:7441-7449). В некоторых вариантах осуществления антигены включают в состав в вирусоподобных частицах (VLPs).

Паповавирусы: антигены включают, но без ограничения антигены, полученные из паповавирусов, таких как папилломавирусы и полиомавирусы. В некоторых вариантах осуществления папилломавирусы включают серотипы HPV 1, 2, 4, 5, 6, 8, 11, 13, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 41, 42, 47, 51, 57, 58, 63 и 65. В некоторых вариантах осуществления антигены HPV получают из серотипов 6, 11, 16 или 18. В некоторых вариантах осуществления антигены HPV выбирают из капсидных белков (L1) и (L2), или E1-E7, или их слитых белков. В некоторых вариантах осуществления антигены HPV включают в состав в вирусоподобных частицах (VLP). В некоторых вариантах осуществления, полиомавирусы включают вирус BK и вирус JK. В некоторых вариантах осуществления антигены полиомавирусов выбирают из VP1, VP2 или VP3.

Аденовирус: антигены включают антигены, полученные из аденовируса. В некоторых вариантах осуществления антигены аденовируса получают из аденовируса серотипа 36 (Ad-36). В некоторых вариантах осуществления антигены получают из белковой или пептидной последовательности, кодирующей белок оболочки Ad-36 или его фрагмент (международный патент WO2007/120362).

Далее предоставляются антигены, композиции, способы и микроорганизмы, включенные в публикации Vaccines, 4th Edition (Plotkin and Orenstein ed. 2004); Medical Microbiology 4th Edition (Murray et al. ed. 2002); Virology, 3rd Edition (W.K. Joklik ed. 1988); Fundamental Virology, 2nd Edition (B.N. Fields and D.M. Knipe, eds. 1991), которые рассматриваются в сочетании с иммуногенными композициями, предоставляемыми здесь.

Грибные антигены.

Грибные антигены для применения в иммуногенных композициях представленных здесь, включают, но без ограничения антигены, полученные из одних или более грибов, указанных ниже.

Грибные антигены получают из дерматофитов, включая *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum audouinii*, *Microsporum canis*, *Microsporum distortum*, *Microsporum equinum*, *Microsporum gypsum*, *Microsporum nanum*, *Trichophyton concentricum*, *Trichophyton equinum*, *Trichophyton gallinae*, *Trichophyton gypsum*, *Trichophyton megnini*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton quinckeanum*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton schoenleini*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton verrucosum*, *T. verrucosum* var. *album*, var. *discoides*, var. *ochraceum*, *Trichophyton violaceum* и/или *Trichophyton faviforme*; и грибные патогены получают из *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus sydowi*, *Aspergillus flavatus*, *Aspergillus glaucus*, *Blastoschizomyces capitatus*, *Candida albicans*, *Candida enolase*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida stellatoidea*, *Candida kusei*, *Candida parakwsei*, *Candida lusitanae*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida guilliermondi*, *Cladosporium carrionii*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum clavatum*, *Histoplasma capsulatum*, *Klebsiella pneumoniae*, *Microsporidia*, *Encephalitozoon* spp., *Septata intestinalis* and *Enterocytozoon bieneusi*; the less common are *Brachiola* spp, *Microsporidium* spp., *Nosema* spp.,

Pleistophora spp., *Trachipleistophora* spp., *Vittaforma* spp *Paracoccidioides brasiliensis*, *Pneumocystis carinii*, *Pythium insidiosum*, *Pityosporum ovale*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, *Saccharomyces pombe*, *Scedosporium apiosperum*, *Sporothrix schenckii*, *Trichosporon beigeli*, *Toxoplasma gondii*, *Penicillium marneffe*, *Malassezia* spp., *Fonsecaea* spp., *Wangiella* spp., *Sporothrix* spp., *Basidiobolus* spp., *Conidiobolus* spp., *Rhizopus* spp, *Mucor* spp, *Absidia* spp, *Mortierella* spp, *Cunninghamella* spp, *Saksenaea* spp., *Alternaria* spp, *Curvularia* spp, *Helminthosporium* spp, *Fusarium* spp, *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp, *Monolinia* spp, *Rhizoctonia* spp, *Paecilomyces* spp, *Pithomyces* spp. и *Cladosporium* spp.

В некоторых вариантах осуществления процесс получения грибного антигена включает метод, в котором растворимую фракцию экстрагируют и отделяют от нерастворимой фракции, получаемой из грибных клеток, клеточная стенка которых в основном удалена или, по меньшей мере, частично удалена, отличающийся тем, что процесс включает стадии: получение живых грибных клеток; получение грибных клеток, клеточная стенка которых в основном удалена, или, по меньшей мере, частично удалена; разрушение грибных клеток клеточная стенка которых в основном удалена, или, по меньшей мере, частично удалена; получение нерастворимой фракции; и экстрагирование и отделение растворимой фракции от нерастворимой фракции.

Антигены/патогены простейших.

Антигены/патогены простейших для применения в иммуногенных композициях, представленных здесь, включают, но без ограничения антигены/патогены, полученные из одного или более следующих простейших: *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayatanensis* и *Toxoplasma*.

Растительные антигены/патогены.

Растительные антигены/патогены для применения в иммуногенных композициях представленные в настоящем описании, включают, но без ограничения антигены/патогены, полученные из растения *Ricinus communis*.

Антигены STD.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, представленные в настоящем описании, содержат один или более антигенов, происходящих из заболевания, передающегося половым путем (STD). В некоторых вариантах осуществления такие антигены обеспечивают профилактику STD, такого как хламидиоз, генитальный герпес, гепатит (такой как HCV), остроконечные кондиломы, гонорея, сифилис и/или шанкроид. В других вариантах осуществления, такие антигены обеспечивают лечение STD, такого как хламидиоз, генитальный герпес, гепатит (такой как HCV), остроконечные кондиломы, гонорея, сифилис и/или шанкроид. Такие антигены получают из одного или более вирусных или бактериальных STD. В некоторых вариантах осуществления вирусные антигены STD получают из HIV, вируса простого герпеса (HSV-1 и HSV-2), папилломавируса человека (HPV) и вируса гепатита С (HCV). В некоторых вариантах осуществления бактериальные антигены STD получают из *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi*, *E. coli* и *Streptococcus agalactiae*. Примеры конкретных антигенов, полученных из указанных патогенов, описаны выше.

Респираторные антигены.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, представленные в настоящем описании, содержат один или более из антигенов, полученных из патогена, который вызывает респираторное заболевание. Только в качестве примера, такие респираторные антигены получают из респираторного вируса, такого как ортомиксовирусы (грипп), пневмовирус (RSV), парамиксовирус (PIV), морбилливирус (корь), тогавирус (краснуха), VZV и коронавирусы (SARS). В некоторых вариантах осуществления респираторные антигены получают из бактерии, которая вызывает респираторное заболевание, такой как, только в качестве примера, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella pertussis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Bacillus anthracis*, и *Moraxella catarrhalis*. Примеры конкретных антигенов, полученных из указанных патогенов, описаны выше.

Антигены для педиатрических вакцин.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, представленные в настоящем описании, содержат один или более антигенов, подходящих для применения у пациентов детского возраста. Пациенты детского возраста обычно являются пациентами младше 3 лет, или младше 2 лет, или младше 1 года. Антигены вводят пациентам детского возраста несколько раз в течение курса продолжительностью 6 месяцев, 1, 2 или 3 года. Антигены для пациентов детского возраста получают из вируса, который может воздействовать на педиатрические популяции и/или из вируса, из-за которого педиатрические популяции восприимчивы к инфекции. Вирусные антигены для пациентов детского возраста включают, но без ограничения антигены, полученные из одного или более из перечисленного: ортомиксовирус (грипп), пневмовирус (RSV), парамиксовирус (PIV и инфекционный паротит), морбилливирус (корь), тогавирус (краснуха), энтеровирус (полиомиелит), HBV, коронавирусы (SARS), и вирус ветряной оспы (VZV), вирус Эпштейна-Барр (EBV). Бактериальные антигены для педиатрических вакцин включают антигены, полученные из одного или более из перечисленного: *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pyogenes* (стрептококк группы А), *Moraxella catarrhalis*, *Bordetella pertussis*,

Staphylococcus aureus, *Clostridium tetani* (столбняк), *Corynebacterium diphtheriae* (дифтерия), *Haemophilus influenzae B* (Hib), *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus agalactiae* (стрептококк группы В) и *E. coli*. Примеры конкретных антигенов, полученных из указанных патогенов, описаны выше.

Антигены, подходящие для применения у пожилых субъектов или у субъектов с ослабленным иммунитетом.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, представленные в настоящем описании, содержат один или более антигенов, подходящих для применения у пожилых субъектов или у субъектов с ослабленным иммунитетом. Такие субъекты могут нуждаться в более частой вакцинации более высокими дозами или препаратами с добавлением адъювантов для улучшения иммунного ответа на антигены-мишени. Антигены, которые являются таргетными для применения у пожилых субъектов или у субъектов с ослабленным иммунитетом, включают антигены, полученные из одного или более следующих патогенов: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* (стрептококк группы А), *Moraxella catarrhalis*, *Bordetella pertussis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Clostridium tetani* (столбняк), *Corynebacterium diphtheriae* (дифтерия), *Haemophilus influenzae B* (Hib), *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus agalactiae* (стрептококк группы В), *Enterococcus faecalis*, *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae*, ортомиксовирус (грипп), пневмовирус (RSV), парамиксовирус (PIV и инфекционный паротит), морбилливирус (корь), тогавирус (краснуха), энтеровирус (полиомиелит), HBV, коронавирус (SARS), вирус ветряной оспы (VZV), вирус Эпштейна-Барр (EBV), цитомегаловирус (CMV). Примеры конкретных антигенов, полученных из указанных патогенов, описаны выше.

Антигены, подходящие для применения в вакцинах для подростков.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, представленные в настоящем описании, содержат один или более антигенов, подходящих для применения у субъектов подросткового возраста. Подростки нуждаются в дополнительной дозе ранее введенного антигена педиатрической вакцины. Антигены педиатрических вакцин, которые подходят для применения у подростков, описаны выше. Кроме того, желательно, чтобы подростки получили антигены, извлеченные из патогена STD для обеспечения протективного и терапевтического иммунитета перед началом сексуальной активности. Антигены STD, которые подходят для применения у подростков, описаны выше.

Опухолевые антигены.

В некоторых вариантах осуществления опухолевый антиген или раковый антиген используют в сочетании с иммуногенными композициями предоставляемыми здесь. В некоторых вариантах осуществления опухолевые антигены являются пептидсодержащими опухолевыми антигенами, такими как полипептидный опухолевый антиген или гликопротеиновые опухолевые антигены. В некоторых вариантах осуществления опухолевый антиген представляет собой содержащий сахарид опухолевый антиген, такой как гликолипидный опухолевый антиген или ганглиозидный опухолевый антиген. В некоторых вариантах осуществления опухолевый антиген представляет собой содержащий полинуклеотид опухолевый антиген, который экспрессирует содержащий полипептид опухолевый антиген, например векторная конструкция на основе РНК или векторная конструкция на основе ДНК, такая как плазмидная ДНК.

Опухолевые антигены, подходящие для применения в сочетании с иммуногенными композициями, предоставляемыми в описании, охватывают широкий спектр молекул, таких как (а) полипептидсодержащие опухолевые антигены, включая полипептиды (длина которых может варьировать в пределах, например, 8-20 аминокислот, хотя размеры вне указанного диапазона также часто встречаются), липопептиды и гликобелки, (b) сахаридсодержащие опухолевые антигены, включая полисахариды, муцин, ганглиозиды, гликолипиды и гликобелки, и (с) полинуклеотиды, которые кодируют антигенные полипептиды.

В некоторых вариантах осуществления опухолевые антигены представляют собой, например, (а) полноразмерные молекулы, ассоциированные с раковыми клетками, (b) гомологи и модифицированные формы указанных молекул, включая молекулы с удаленными, добавленными и/или замененными участками, и (с) фрагменты таких молекул. В некоторых вариантах осуществления опухолевые антигены предоставляют в рекомбинантной форме. В некоторых вариантах осуществления, опухолевые антигены включают, например, антигены, рестриктированные по I классу гистосовместимости, распознаваемые лимфоцитами CD8⁺ или рестриктированные по II классу гистосовместимости, распознаваемые лимфоцитами CD4⁺.

В некоторых вариантах осуществления опухолевые антигены включают, но без ограничения (а) раково-тестикулярные антигены, такие как NY-ESO-1, SSX2, SCP1 а также полипептиды семейства RAGE, BAGE, GAGE и MAGE, например GAGE-1, GAGE-2, MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, и MAGE-12 (которые можно использовать, например распознать меланому, опухоли легких, опухоли головы и шеи, NSCLC, опухоли молочной железы, желудочно-кишечные опухоли, и опухоли мочевого пузыря), (b) мутантные антигены, например p53 (ассоциированные с различными солидными опухолями, например колоректальный рак, рак легких, рак головы и шеи), p21/Ras (ассоциированный, например, с меланомой, раком поджелудочной железы и колоректальным раком), CDK4 (ассоциированный, например, с меланомой), MUM1 (ассоциированный, например, с меланомой), caspase-8 (ассоцииро-

ванных, например, с раком головы и шеи), CIA 0205 (ассоциированный, например, с раком мочевого пузыря), HLA-A2-R1701, бета-катенин (ассоциированный, например, с меланомой), TCR (ассоциированный, например, с Т-клеточной неходжкинской лимфомой), BCR-abl (ассоциированный, например, с хроническим миелолейкозом), триозофосфатизомераза, KIA 0205, CDC-27, и LDLR-FUT, (с) сверхэкспрессированные антигены, например Галектин 4 (ассоциированный, например, с колоректальным раком), Галектин 9 (ассоциированный, например, с болезнью Ходжкина), протеиназа 3 (ассоциированная, например, с хроническим миелолейкозом), WT 1 (ассоциированный, например, с различными лейкомиями), карбоангидразу (ассоциированную, например, с раком почки), альдолазу А (ассоциированную, например, с раком легких), PRAME (ассоциированный, например, с меланомой), HER-2/neu (ассоциированный, например, с раком молочной железы, раком толстого кишечника, раком легких и раком яичников), альфа-фетопротейн (ассоциированный, например, с гепатомой), KSA (ассоциированный, например, с колоректальным раком), гастрин (ассоциированный, например, с раком поджелудочной железы и раком желудка), каталитический белок теломеразы, MUC-1 (ассоциированный, например, с раком молочной железы и раком яичников), G-250 (ассоциированный, например, с почечно-клеточной карциномой), p53 (ассоциированный, например, с раком молочной железы, раком толстого кишечника), и онкоэмбриональный антиген (ассоциированный, например, с раком молочной железы, раком легкого, и раками желудочно-кишечного тракта, такими как колоректальный рак), (d) общие антигены, например меланома-меланоцитарные дифференцировочные антигены, такие как MART-1/Melan A, gp100, MC1R, рецептор меланоцитостимулирующего гормона, тирозиназа, тирозиназа-связанный белок-1/TRP1 и тирозиназа-связанный белок-2/TRP2 (ассоциированный, например, с меланомой), (e) простатические антигены, такие как PAP, PSA, PSMA, PSH-P1, PSM-P1, PSM-P2, ассоциированные, например, с раком предстательной железы, (f) иммуноглобулиновые идиотипы (ассоциированные с миеломой и В-клеточными лимфомами, например), и (g) другие опухолевые антигены, такие как полипептид- и сахаридсодержащие антигены, включая (i) гликобелки, такие как сиалил-Tn и сиалил Льюис^X (ассоциированный, например, с раком молочной железы и колоректальным раком), а также различные муцины; гликобелки, соединенные с белком-носителем (например, MUC-1 соединяют с KLH); (ii) липополипептиды (например, MUC-1, связанный с липидной группировкой); (iii) полисахариды (например, синтетический гексасахарид Globo H), которые соединяют с белками-носителями (например, с KLH), (iv) ганглиозиды, такие как GM2, GM12, GD2, GD3 (ассоциированные, например, с раком мозга, раком легкого, меланомой), которые также соединяют с белками-носителями (например, KLH).

В некоторых вариантах осуществления опухолевые антигены включают, но без ограничения p15, Hom/Mel-40, H-Ras, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR, антигены вируса Эпштейна-Барр, EBNA, антигены папилломавируса человека (HPV), включая E6 и E7, антигены вируса гепатита В и С, антигены человеческого Т-клеточного лимфотропного вируса, TSP-180, pl 85erbB2, pl 80erbB-3, c-met, mn-23H1, TAG-72-4, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17.1, NuMa, K-ras, p16, TAGE, PSCA, CT7, 43-9F, 5T4, 791 Tgp72, beta-HCG, BCA225, BTAA, CA 125, CA 15-3 (CA 27.29/BCAA), CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, CD68/KP1, CO-029, FGF-5, Ga733 (EpCAM), HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB/70K, NY-CO-1, RCAS1, SDCCAG16, TA-90 (Mac-2 связывающий белок/циклофилин С-ассоциированный белок), TAAL6, TAG72, TLP, TPS и т.п.

Полинуклеотидсодержащие антигены, применяемые в сочетании с иммуногенными композициями, предоставляемыми здесь, включают полинуклеотиды, которые кодируют полипептидные раковые антигены, такие как антигены, перечисленные выше. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотидсодержащие антигены включают, но без ограничения векторные конструкции на основе ДНК или РНК, такие как плазмидные векторы (например, pCMV), которые способны экспрессировать полипептидные раковые антигены *in vivo*.

В некоторых вариантах осуществления опухолевые антигены получают из мутировавших или измененных клеточных компонентов. После изменения клеточные компоненты уже не выполняют своих регуляторных функций, и в результате клетка может проявлять неконтролируемый рост. Типичные примеры измененных клеточных компонентов включают, но без ограничения *ras*, p53, Rb, измененный белок, кодируемый геном опухоли Вильмса, убиквитин, муцин, белок, кодируемый генами DCC, APC и MCC, а также рецепторы или рецептороподобные структуры, такие как *neu*, рецептор тиреоидного гормона, рецептор тромбоцитарного фактора роста (PDGF), рецептор инсулина, рецептор эпидермального фактора роста (EGF), и рецептор колониестимулирующего фактора (CSF).

Кроме того, бактериальные и вирусные антигены применяются в сочетании с иммуногенными композициями, предоставляемыми здесь, для лечения рака. В некоторых вариантах осуществления белки-носители, такие как CRM₁₉₇, столбнячный анатоксин или антиген *Salmonella typhimurium* применяют в сочетании/конъюгации с соединениями, предоставляемыми здесь, для лечения рака. Виды комбинированной терапии с применением ракового антигена будут проявлять повышенную эффективность и биодоступность по сравнению с существующими видами терапии.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат капсульные сахараиды по меньшей мере из двух серогрупп А, С, W135 и Y *Neisseria meningitidis*. В других вариантах осуществления такие вакцины дополнительно со-

держат антиген, выбранный из одного или более из нижеследующего: (a) *N. meningitidis* серогруппы В; (b) *Haemophilus influenzae* тип В и/или (c) *Streptococcus pneumoniae*.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат серогруппы С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат серогруппы А, С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат серогруппы В, С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат серогруппы А, В, С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат *H. influenzae* типа В и серогруппы С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат *H. influenzae* типа В и серогруппы А, С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат *H. influenzae* типа В и серогруппы В, С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат *H. influenzae* типа В и серогруппы А, В, С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат *S. pneumoniae* и серогруппы С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат *S. pneumoniae* и серогруппы А, С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат *S. pneumoniae* и серогруппы В, С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат *S. pneumoniae* и серогруппы А, В, С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат *H. influenzae* типа В, *S. pneumoniae* и серогруппы С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат *H. influenzae* типа В, *S. pneumoniae* и серогруппы А, С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат *H. influenzae* типа В, *S. pneumoniae* и серогруппы В, С, W135 & Y *N. meningitidis*. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), содержат *H. influenzae* типа В, *S. pneumoniae* и серогруппы А, В, С, W135 & Y *N. meningitidis*.

Наборы.

В описании также предоставляются фармацевтические упаковки или наборы, которые содержат один или более контейнеров, содержащих соединение формулы (I), полезное для лечения или предотвращения заболевания или нарушения, ассоциированного с Toll-подобными рецепторами. В других вариантах осуществления такие фармацевтические упаковки или наборы содержат один или более контейнеров, содержащих соединение формулы (I), полезное для лечения или предотвращения заболевания или нарушения, ассоциированного с Toll-подобными рецепторами, и один или более контейнеров, содержащих дополнительный терапевтический агент, включая, но без ограничения агенты перечисленные выше. В некоторых вариантах осуществления такие фармацевтические упаковки или наборы необязательно содержат инструкции по введению соединений формулы (I) которые раскрыты в описании. В некоторых вариантах осуществления таких наборов соединение формулы (I) предоставляется в форме композиции вакцины, как описано здесь, и необязательно набор включает шприц для введения субъекту композиции вакцины.

Изобретение также предоставляет набор, содержащий первый и второй компоненты набора, где: (i) первый компонент набора включает адъювант, содержащий алюминий, и антиген; и (ii) второй компонент набора содержит соединение формулы (I). Второй компонент в идеале не включает в себя адъювант, содержащий алюминий, и/или не содержит антиген. Первый и второй компоненты могут быть объединены для предоставления композиции, подходящей для введения субъекту.

Изобретение также предоставляет набор, содержащий первый и второй компоненты набора, где: (i) первый компонент набора включает в себя адъювант, содержащий алюминий, и соединение формулы (I); и (ii) второй компонент набора содержит антиген. Второй компонент в идеале не включает в себя адъювант, содержащий алюминий и/или соединение формулы (I). В некоторых вариантах осуществления второй компонент лиофилизирован. Первый и второй компоненты могут быть объединены для предоставления фармацевтической композиции, подходящей для введения субъекту.

Изобретение также предоставляет набор, содержащий первый и второй компоненты набора, где: (i) первый компонент набора содержит антиген и соединение формулы (I); и (ii) второй компонент набора включает в себя адъювант, содержащий алюминий. Второй компонент в идеале не содержит антиген и/или соединение формулы (I). Первый и второй компоненты могут быть объединены для предоставле-

ния фармацевтической композиции, подходящей для введения субъекту.

В некоторых вариантах осуществления указанные наборы содержат два пузырька. В других вариантах осуществления они содержат один готовый к употреблению заполненный шприц и один пузырек, причем содержимое шприца смешивают с содержимым пузырька перед инъекцией. Упаковка шприц/пузырек является полезной, если содержимое пузырька лиофилизируют. Однако, как правило, первый и второй компоненты набора будут находиться в водной жидкой форме.

Способы лечения, предотвращения заболеваний и введение вакцин.

Иммуногенные композиции, раскрытые в описании, можно применять в сочетании с вакцинами для повышения иммуногенности вакцины или в случае, если иммуногенная композиция содержит один или более антигенов, иммуногенная композиция может использоваться в качестве вакцины. Поэтому в конкретном воплощении иммуногенные композиции, раскрытые в описании, можно использовать в способе повышения или усиления иммунного ответа у млекопитающего, включающем стадию введения эффективного количества иммуногенной композиции, как раскрыто в описании. Иммунный ответ предпочтительно является протективным и предпочтительно вовлекает антитела и/или клеточно-опосредованный иммунитет. Способ может увеличить бустерную реакцию.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, раскрытые здесь, можно использовать как лекарственное средство, например, для применения в повышении или усилении иммунного ответа у млекопитающего.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции, раскрытые здесь, можно применять в производстве лекарственного средства для повышения иммунного ответа у млекопитающего.

Изобретение также предоставляет предварительно заполненное устройство для доставки иммуногенной композиции, раскрытой в описании. Изобретение также предоставляет стерильный контейнер (например, пузырек), содержащий иммуногенную композицию изобретения, например содержащий стандартную дозу. Изобретение также предоставляет герметично закрытый контейнер, содержащий фармацевтическую композицию изобретения. Подходящие контейнеры охватывают, например, пузырьки.

При увеличении иммунного ответа у млекопитающего с помощью указанных применений и способов млекопитающее может быть инфицировано патогенами, содержащими антиген, включенный в иммуногенную композицию или введенный в сочетании с иммуногенной композицией, и заболевание может быть ослаблено или даже предотвращено. Млекопитающее предпочтительно является человеком, но может быть, например, коровой, свиньей, цыпленком, кошкой или собакой, поскольку патогены, рассматриваемые в описании, могут являться проблематичными среди широкого диапазона видов. Если вакцина предназначена для профилактического применения, человек предпочтительно является ребенком (например, дошкольного возраста или грудным ребенком) или подростком; если вакцина предназначена для терапевтического применения человек предпочтительно является подростком или взрослым. Вакцина, предназначенная для детей, также может быть введена взрослым, например, для оценки безопасности, дозировки, иммуногенности и т.д.

Один из способов проверить эффективность терапевтического лечения включает мониторинг патогенной инфекции после введения иммуногенных композиций, раскрытых в описании. Один из способов проверить эффективность профилактического лечения включает мониторинг иммунных ответов, системного ответа (например, мониторинг уровня продукции IgG1 и IgG2a) и/или ответа слизистых оболочек (например, мониторинг уровня продукции IgA), против антигенов, содержащихся или вводимых в сочетании с иммуногенными композициями, раскрытыми здесь, после введения иммуногенной композиции (и антигена, если вводили по отдельности). Обычно, антигенспецифические ответы сывороточных антител определяют после иммунизации, но перед антигенной стимуляцией, тогда как антигенспецифические ответы антител слизистых оболочек определяют после иммунизации и после антигенной стимуляции.

Другой способ оценки иммуногенности иммуногенных композиций, раскрытых здесь, если антиген представляет собой белок, заключается в экспрессировании белков рекомбинантным путем для проведения скрининга сыворотки крови или секретов слизистых пациента с помощью иммуноблоттинга и/или анализа на микрочипах. Положительный результат реакции между белком и образцом пациента показывает, что пациент обладает повышенным иммунным ответом на соответствующий белок. Указанный способ также можно использовать для определения иммунодоминантных антигенов и/или эпитопов в составе антигена белка.

Эффективность иммуногенных композиций также можно определить *in vivo* путем проведения испытания на подходящих животных моделях с патогеном, представляющим интерес инфекции.

Иммуногенные композиции, раскрытые в описании, в целом, будут вводить непосредственно субъекту. Непосредственная доставка может осуществляться с помощью парентеральной инъекции (например, подкожно, внутривенно, внутримышечно, или в интерстициальное пространство ткани), или через слизистые оболочки, например, с помощью ректального, перорального (например, таблетка, спрей), вагинального, местного, трансдермального или чрескожного, интраназального, окулярного, ушного, легочного или другого введения через слизистые оболочки.

Иммуногенные композиции можно использовать, чтобы вызывать системный иммунитет и/или им-

мунитет слизистых оболочек предпочтительно, чтобы вызвать повышенный системный иммунитет и/или иммунитет слизистых оболочек.

Предпочтительно повышенный системный иммунитет и/или иммунитет слизистых оболочек отражается в повышенном иммунном ответе ТН1 и/или ТН2. Предпочтительно повышенный иммунный ответ включает увеличение продукции IgG1 и/или IgG2a и/или IgA.

Дозировка может представлять собой схему с однократным введением дозы или схему с многократным введением доз. Многократные дозы можно использовать в схеме первичной иммунизации и/или в схеме бустерной иммунизации. В схеме с многократным приемом различные дозы можно вводить одинаковым или разными путями, например первичная доза вводится парентерально и бустерная доза вводится через слизистые оболочки, первичная доза вводится через слизистые оболочки и бустерная доза вводится парентерально и т.д. Многократные дозы обычно вводят с интервалом по меньшей мере 1 неделя (например, приблизительно 2 недели, приблизительно 3 недели, приблизительно 4 недели, приблизительно 6 недель, приблизительно 8 недель, приблизительно 10 недель, приблизительно 12 недель, приблизительно 16 недель и т.д.).

Иммуногенные композиции, раскрытые в описании, которые содержат один или более антигенов или применяются в сочетании с одним или более антигенами, могут применяться для лечения как детей, так и взрослых. Таким образом, субъект-человек может быть в возрасте младше 1 года, в возрасте 1-5 лет, в возрасте 5-15 лет, в возрасте 15-55 лет, или по меньшей мере в возрасте 55 лет. Предпочтительными субъектами для получения таких иммуногенных композиций являются пациенты пожилого возраста (например, в возрасте >50 лет, >60 лет и предпочтительно >65 лет), пациенты детского возраста (например, в возрасте <5 лет), госпитализированные пациенты, медицинские работники, вооруженные силы и военный персонал, беременные женщины, хронически больные или иммунодефицитные пациенты. Иммуногенные композиции не являются подходящими только для указанных групп, и могут применяться в общем в популяции.

Иммуногенные композиции, раскрытые в описании, которые содержат один или более антигенов, или которые применяют в сочетании с одним или более антигенами, можно вводить пациентам, по существу, одновременно (например, во время той же самой медицинской консультации или визита к медицинскому специалисту или в центре вакцинации) с другими вакцинами, например, по существу, одновременно с вакциной против кори, вакциной против инфекционного паротита, вакциной против краснухи, вакциной MMR, вакциной против ветрянки, вакциной MMRV, вакциной против дифтерии, вакциной против столбняка, вакциной против коклюша, вакциной DTP, с конъюгатной вакциной против *H. influenzae* типа b, вакциной инактивированного полиовируса, вакциной против вируса гепатита В, менингококковая конъюгатная вакцина (такая как тетравалентная вакцина А С W135 Y), с вакциной против респираторного синцитиального вируса и т.д.

Соединения формулы (I), включенные в состав с адъювантами, содержащими алюминий.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно соединение формулы (I), предоставляемое здесь, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, соединяют с адъювантом, содержащим алюминий, и с эффективным количеством одного или более антигенов, что дает в результате иммуногенную композицию. В таких иммуногенных композициях соединение формулы (I) связано с адъювантом, содержащим алюминий. В таких иммуногенных композициях антиген является любым антигеном, предоставляемым в описании. В таких иммуногенных композициях антиген и соединение формулы (I), агонист TLR7 доставляют совместно в желаемую область.

В такой иммуногенной композиции связывание соединения формулы (I) с адъювантом, содержащим алюминий, не препятствует связыванию антигена с адъювантом, содержащим алюминий. Только в качестве примера, на фиг. 2 показано, что на адсорбцию антигенов *Neisseria meningitidis* на гидроксиде алюминия не влияет связывание соединения формулы (I) с адъювантом гидроксидом алюминия.

В некоторых вариантах осуществления такие иммуногенные композиции полезны в качестве вакцин. В некоторых вариантах осуществления такие вакцины являются профилактическими (т.е. для предотвращения инфекции), тогда как в других вариантах осуществления такие вакцины являются терапевтическими (т.е. для лечения инфекции).

Соединение (соединения) формулы (I), представленные в настоящем описании, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, представляют собой агонисты TLR7 и являются иммуностимуляторами, которые придают иммуностимулирующий эффект при введении по сравнению с иммуногенными препаратами, которые не содержат соединения (соединения) формулы (I). В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) придают иммуностимулирующий эффект при введении, если они включены в иммуногенную композицию, содержащую один или более иммунорегуляторных агентов, тогда как в других вариантах осуществления соединения формулы (I) придают иммуностимулирующий эффект при введении, если они включены в иммуногенную композицию, не содержащую других иммунорегуляторных агентов.

В некоторых вариантах осуществления такие иммуногенные композиции усиливают иммунный ответ путем сохранения соединения формулы (I) в месте инъекции.

Вместо связывания агониста TLR с алюминиевыми квасцами, альтернативная стратегия увеличения

времени удержания агонистов TLR в месте инъекции заключается в модификации свойств гидрофильности, гидрофобности и/или растворимости агониста TLR. Неполарные (гидрофобные или нерастворимые) соединения могут характеризоваться повышенным временем удержания в месте инъекции при внутримышечном введении, снижая тем самым уровни системного воздействия по сравнению с полярными (гидрофильными или растворимыми) соединениями сходной активности, которые демонстрируют более быстрый клиренс из места инъекции и более сильное системное воздействие. Аналогичным образом, неполярные соединения формулы (I) могут проявлять свои полезные свойства.

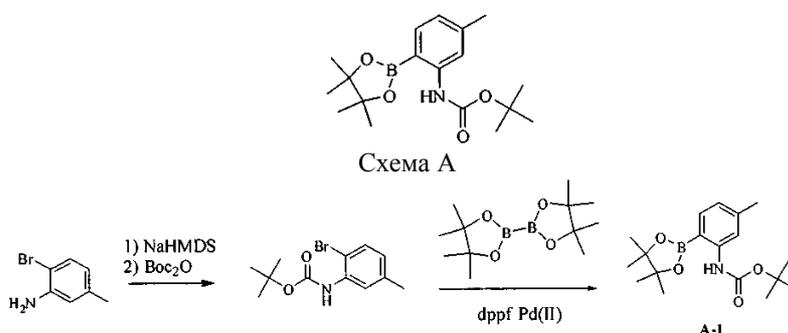
В некоторых вариантах осуществления такие иммуногенные композиции содержат фармацевтически приемлемый носитель, такой как, но без ограничения белки, полисахариды, полимолочные кислоты, полигликолевые кислоты, полимеры аминокислот, полипептиды, сахарозу, трегалозу, лактозу, липидные агрегаты (такие как капельки масла или липосомы), и неактивные вирусные частицы. Иммуногенные композиции обычно также содержат разбавители, такие как вода, физиологический раствор и глицерин, и необязательно содержат другие вспомогательные вещества, такие как смачивающие реагенты или эмульгирующие реагенты, и pH-буферные вещества. В некоторых вариантах осуществления такие иммуногенные композиции содержат один или более дополнительных адъювантов, представленных здесь.

Примеры

Нижеследующие примеры предоставлены для иллюстрации, а не с целью ограничения соединений формулы (I), представленных в описании, и получения таких соединений.

Синтез исходных соединений.

1) Получение трет-бутил 5-метил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенилкарбамата (A-1)



Стадия 1. трет-Бутил 2-бром-5-метилфенилкарбамат.

К раствору 2-бром-5-метиланилина (1,0 экв.) в тетрагидрофуране (0,2 М) при 0°C в атмосфере N₂ добавляли по каплям 1 М NaHMDS (2,5 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин при 0°C, и добавляли раствор ди-трет-бутилкарбоната в тетрагидрофуране. Реакционную смесь оставляли при комнатной температуре на ночь. Растворитель выпаривали, и полученный осадок гасили водным раствором 0,1 N HCl. Водную суспензию дважды экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои отмывали солевым раствором, высушивали над безводным MgSO₄, и концентрировали *in vacuo*. Неочищенное вещество очищали с помощью флэш-хроматографии на системе COMBIFLASH® (ISCO) с применением 0-5% раствора этилацетата в гексане с получением трет-бутил 2-бром-5-метилфенилкарбамата в виде светло-желтого масла.

Стадия 2. трет-Бутил 5-метил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенилкарбамат.

трет-Бутил 2-бром-5-метилфенилкарбамат (из предыдущей стадии) (1,0 экв.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолан) (1,5 экв.), дихлор[1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]палладий(II) (5%), и ацетат натрия (4,5 экв.) смешивали в диоксане (0,2 М) в атмосфере N₂. Реакционную смесь нагревали до 100°C и перемешивали в течение ночи. Полученную суспензию охлаждали до комнатной температуры, разводили эфиром, фильтровали через целит, и концентрировали фильтрат *in vacuo*. Неочищенное вещество очищали с помощью флэш-хроматографии на системе COMBIFLASH® (ISCO) с применением 0-8% эфира в гексане с получением трет-бутил 5-метил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенилкарбамата (A-1).

Получение 4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенола (B-4)

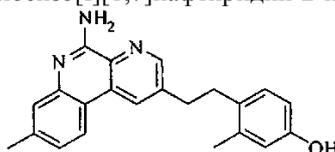
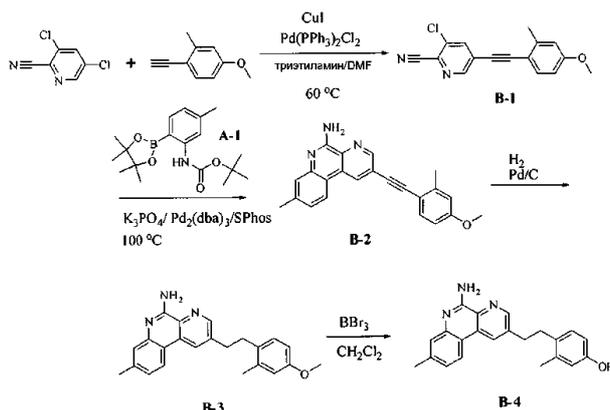


Схема В



Стадия В-1. 3-Хлор-5-((4-метокси-2-метилфенил)этинил)пиколинонитрил (В-1).

В круглодонную колбу, закрытую мембраной, добавляли 1-этинил-4-метокси-2-метилбензол (1,1 экв.), 3,5-дихлорпиколинонитрил (1 экв.), триэтиламин (5 экв.) и безводный DMF (0,2 М). Смесь дегазировали (под вакуумом) и продували азотом три раза. Добавляли CuI (0,05 экв.) и бис-(трифенилфосфин)дихлор палладий(II) (0,05 экв.) и заменяли мембрану обратным холодильником и колбу нагревали при 60 °С в течение ночи в атмосфере азота. После завершения реакции, которую контролировали с помощью ТСХ, содержимое колбы помещали на большую колонку, заполненную силикагелем, предварительно обработанным гексанами. Флэш-хроматография (силикагель, гексаны:EtOAc (1:4%)) давала в результате продукт 3-хлор-5-((4-метокси-2-метилфенил)этинил)пиколинонитрил (В-1).

Стадия В-2. 2-((4-Метокси-2-метилфенил)этинил)-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-5-амин (В-2).

В круглодонную колбу с обратным холодильником для кипячения добавляли 3-хлор-5-((4-метокси-2-метилфенил)этинил)пиколинонитрил (В-1) (1 экв.), трет-бутил 5-метил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенилкарбамат (А-1) (1,25 экв.), K₃PO₄ (2 экв.), трис-(дибензильденацетон)дипалладий(0) (0,05 экв.), и 2-дицислогексилфосфино-2',6'-диметоксибифенил (Sphos) (0,1 экв.). Добавляли n-бутанол и воду (5:2, 0,2 М), и содержимое дегазировали (под вакуумом с последующей обработкой азотом) три раза. Реакционную смесь энергично перемешивали в атмосфере азота при 100 °С в течение ночи на масляной бане. Содержимое колбы охлаждали и помещали в 200 мл воды с последующей экстракцией метиленхлоридом. Объединенные органические слои высушивали (Na₂SO₄) и концентрировали. Флэш-хроматография (силикагель, 0-50% EtOAc в CH₂Cl₂) давала продукт 2-((4-метокси-2-метилфенил)этинил)-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-5-амин (В-2).

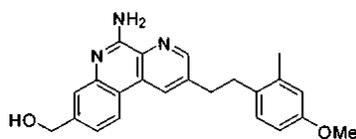
Стадия В-3. 2-(4-Метокси-2-метилфенэтил)-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-5-амин (В-3).

2-(4-Метокси-2-метилфенэтил)-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-5-амин получали из 2-((4-метокси-2-метилфенил)этинил)-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-5-амина (из предыдущей стадии). В круглодонную колбу добавляли 2-((4-метокси-2-метилфенил)этинил)-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-5-амин (1 экв.) при использовании магнитной мешалки. Добавляли этанол и метиленхлорид (1:2, 0,2 М), с последующим добавлением катализатора "палладий на углероде" (активированный порошок, влажный, 10% на углероде, 0,1 экв.). Содержимое колбы дегазировали (под вакуумом) с последующим продуванием водородом (три раза). Реакционную смесь энергично перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, в атмосфере водорода, подаваемого из баллона. Затем реакционную смесь фильтровали через подушку из целита, и подушку из целита последовательно промывали метиленхлоридом и EtOAc до тех пор, пока фильтрат не характеризовался отсутствием поглощения в УФ-области. Объединенные органические промывные жидкости концентрировали. Флэш-хроматография (силикагель, 0-50% EtOAc в CH₂Cl₂) давала продукт 2-(4-метокси-2-метилфенэтил)-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-5-амин. Спектр ¹H ЯМР (CDCl₃): δ 8,53 (д, 1H), 8,29 (д, 1H), 8,01 (д, 1H), 7,44 (с, 1H), 7,12 (дд, 1H), 6,93 (д, 1H), 6,67 (д, 1H), 6,60 (дд, 1H), 5,93 (ушир., 2H), 3,70 (с, 3H), 3,05-3,00 (дд, 2H), 2,93-2,88 (дд, 2H), 2,44 (с, 3H), 2,19 (с, 3H). ЖХМС [M+H]=358,2.

Стадия В-4. 4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенол (В-4).

К перемешиваемому раствору 2-(4-метокси-2-метилфенэтил)-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-5-амина (из предыдущей стадии) в метиленхлориде (0,2 М) на водяной бане со льдом добавляли по каплям 1 N раствор BBr₃ (2 экв.) в CH₂Cl₂. Через 30 мин реакцию гасили добавлением метанола и концентрировали ел вассо с получением сырого остатка. Неочищенное вещество очищали с помощью флэш-хроматографии на системе COMBIFLASH® (ISCO) с применением 0-20% раствора метанола в дихлорметане с получением 4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенола (В-4) в виде белого твердого вещества. Спектр ¹H ЯМР (DMSO-d₆): δ 8,99 (с, 1H), 8,75 (д, 1H), 8,60 (д, 1H), 8,27 (д, 1H), 7,28 (с, 1H), 7,09 (дд, 1H), 6,99 (ушир., 2H), 6,88 (д, 1H), 6,49 (д, 1H), 6,42 (дд, 1H), 3,02-2,96 (дд, 2H), 2,86-2,81 (дд, 2H), 2,38 (с, 3H), 2,13 (с, 3H). ЖХМС [M+H]=344,2.

Получение (5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)метанола (2-1: см. схему 2)



Стадия 1. трет-Бутил 5-((трет-бутилдиметилсилилокси)метил)-2-хлорфенилкарбамат.

К раствору 5-((трет-бутилдиметилсилилокси)метил)-2-хлоранилина (коммерчески доступный) (1,0 экв.) в THF (0,2 М) при 0°C в атмосфере N₂ добавляли по каплям 1 М NaHMDS (2,5 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин при 0°C, и добавляли раствор ди-трет-бутилдикарбоната в THF. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры в течение ночи. Растворитель выпаривали, и полученный осадок гасили водным раствором 0,1 N HCl. Водную суспензию дважды экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои отмывали солевым раствором, высушивали над безводным MgSO₄, и концентрировали под вакуумом. Неочищенное вещество очищали с помощью флэш-хроматографии на системе COMBIFLASH® (ISCO) с применением 0-30% EtOAc/гексанов с получением трет-бутил 5-((трет-бутилдиметилсилилокси)метил)-2-хлорфенилкарбамата в виде бесцветного масла.

Стадия 2. трет-Бутил-5-((трет-бутилдиметилсилилокси)метил)-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенилкарбамат.

трет-Бутил 5-((трет-бутилдиметилсилилокси)метил)-2-хлорфенилкарбамат (из стадии 1) (1,0 экв.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолан) (3,0 экв.), Pd₂dba₃ (2,5%), XPhos (10%), и KOAc (3 экв.) смешивали в диоксане (0,2 М) в атмосфере N₂. Реакционную смесь нагревали до 110°C и перемешивали в течение ночи. Полученную суспензию охлаждали до комнатной температуры, разводили эфиром, фильтровали через целит и концентрировали фильтрат под вакуумом. Объединенные органические слои отмывали солевым раствором, высушивали над безводным MgSO₄, и концентрировали под вакуумом. Неочищенное вещество очищали с помощью флэш-хроматографии на системе COMBIFLASH® (ISCO) с помощью 0-20% EtOAc/гексаны с получением трет-бутил 5-((трет-бутилдиметилсилилокси) метил)-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенилкарбамата в виде белой пены.

Стадия 3. 3-Хлор-5-((4-метокси-2-метилфенил)этинил)пиколинонитрил.

В круглодонную колбу, накрытую мембраной, добавляли 1-этинил-4-метокси-2-метилбензол (коммерчески доступный, 1,1 экв.), 3,5-дихлорпиколинонитрил (коммерчески доступный, 1 экв.), триэтиламин (5 экв.), и безводный DMF (0,2 М). Три раза обрабатывали вакуумом с последующим нагнетанием азота. Добавляли CuI (0,05 экв.) и бис-(трифенилфосфин)дихлор палладий(II) (0,05 экв.). Мембрану заменяли обратным холодильником, нагревали колбу при 60°C в течение ночи в атмосфере азота. После завершения реакции, которую контролировали с помощью ТСХ, содержимое колбы помещали на большую колонку, заполненную силикагелем, предварительно обработанным гексанами. Флэш-хроматография (силикагель, гексаны-EtOAc (1:4%)) давала 3-хлор-5-((4-метокси-2-метилфенил)этинил)пиколинонитрила.

Стадия 4. 8-((трет-Бутилдиметилсилилокси)метил)-2-((4-метокси-2-метилфенил)этинил)бензо[f][1,7]нафтиридин-5-амин.

В круглодонную колбу с обратным холодильником добавляли 3-хлор-5-((4-метокси-2-метилфенил)этинил)пиколинонитрил (из стадии 3) (1 экв.), трет-бутил 5-((трет-бутилдиметилсилилокси)метил)-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенилкарбамат (из стадии 2) (1,25 экв.), K₃PO₄ (2 экв.), трис-(добензилиденацетон)дипалладий(0) (0,05 экв.), и 2-дициклогексилфосфино-2',6'-диметоксидифенил (0,1 экв.). Добавляли n-бутанол и воду (5:2, 0,2 М), и содержимое колбы дегазировали (под вакуумом с последующим продуванием азотом) три раза. Реакционную смесь энергично перемешивали в атмосфере азота при 100°C в течение ночи на масляной бане. Содержимое колбы охлаждали и помещали в воду с последующей экстракцией метиленхлоридом. Объединенные органические слои высушивали (Na₂SO₄) и концентрировали. Флэш-хроматография (силикагель, 0-50% EtOAc в CH₂Cl₂) давала 8-((трет-бутилдиметилсилилокси) метил)-2-((4-метокси-2-метилфенил)этинил)бензо[f][1,7]нафтиридин-5-амин в виде твердого вещества.

Стадия 5. 8-((трет-Бутилдиметилсилилокси)метил)-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-5-амин.

В круглодонную колбу добавляли 8-((трет-бутилдиметилсилилокси) метил)-2-((4-метокси-2-метилфенил)этинил)бензо[f][1,7]нафтиридин-5-амин (из стадии 4) (1 экв.) при перемешивании магнитной мешалкой. Добавляли этанол и метиленхлорид (1:2, 0,2 М), с последующим добавлением катализатора "палладий на углероде" (активированный порошок, влажный, 10% на углероде, 0,1 экв.). Содержимое колбы три раза обрабатывали вакуумом с последующим продуванием водородом. Реакционную смесь энергично перемешивали в атмосфере водорода, подаваемого из баллона, при комнатной температуре в течение ночи. Затем реакционную смесь фильтровали через подушку из целита и последовательно отмывали подушку из целита метиленхлоридом и EtOAc до тех пор, пока фильтрат не характеризовался

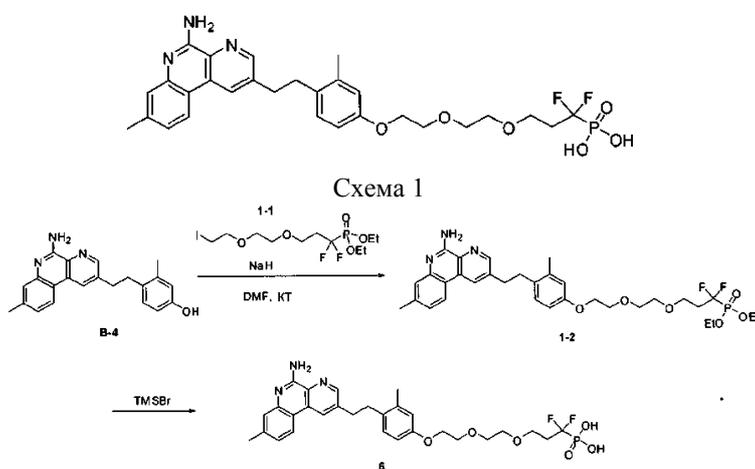
отсутствием поглощения в УФ-области. Объединенные органические промывные жидкости концентрировали. Флэш-хроматография (силикагель, 0-50% EtOAc в CH₂Cl₂) давала 8-((трет-бутилдиметилсилилокси)метил)-2-(4-метокси-2-метилфенэтил) бензо [f][1,7]нафтиридин-5-амин в виде твердого вещества желтого цвета.

Стадия 6. 5-Амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)метанол(2-1).

8-((трет-Бутилдиметилсилилокси)метил)-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-5-амин (из стадии 5) (1,0 экв.) и TBAF (1,1 экв.) в THF перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию гасили насыщенным раствором NaHCO₃. Две фазы разделяли, и водный слой дважды экстрагировали Et₂O. Объединенные органические слои отмывали солевым раствором, высушивали над безводным MgSO₄, и концентрировали под вакуумом. Неочищенное вещество очищали с помощью флэш-хроматографии на системе COMBIFLASH® (ISCO) с применением 0-5% MeOH/DCM с получением 5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)метанола (2-1) в виде твердого вещества белого цвета. Спектр ¹H ЯМР (ацетон-d₆): δ 8,79 (с, 1H), 8,73 (с, 1H), 8,35 (д, 1H), 7,61 (с, 1H), 7,33 (д, 1H), 7,09 (д, 1H), 6,75 (д, 1H), 6,68 (дд, 1H), 6,57 (ушир. с, 2H), 4,47 (д, 2H), 4,32 (т, 1H), 3,58 (с, 3H), 3,17 (т, 2H), 3,04 (т, 2H), 2,30 (с, 3H). ЖХМС [M+H]=374,2.

Синтез типичных соединений.

Пример 1 (табл. 1: соединение 6). Синтез 3-(2-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этокси)-1,1-дифторпропилфосфоновая кислоты (6)



Стадия 1. Диэтил 1,1-дифтор-3-(2-(2-йодоэтокси)этокси)пропилфосфонат (1-1).

К раствору диэтилдифторметилфосфоната (1,0 экв.) в THF (0,8 М) при -78°C медленно добавляли раствор LDA (2 М, 1,1 экв.) в гептан/THF/этилбензоле, и смесь энергично перемешивали в течение 30 мин. В отдельной реакционной колбе раствор 1,2-бис-(2-йодоэтокси)этана (1,0 экв.) в THF (0,8 М) охлаждали до -78°C. В данный раствор переносили с помощью канюли свежеприготовленный раствор алкила лития и реакционную смесь оставляли для перемешивания в течение 1 ч при -78°C. На данном этапе охлаждающую баню удаляли и реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры. Затем реакционную смесь гасили 1 М водным раствором HCl. Полученную смесь переносили на делительную воронку и отмывали CH₂Cl₂ три раза. Объединенные органические слои высушивали над безводным Na₂SO₄ и летучие компоненты удаляли под вакуумом. Полученный осадок очищали с помощью системы COMBIFLASH® (ISCO) с применением CH₂Cl₂ с получением диэтил-1,1-дифтор-3-(2-(2-йодоэтокси)этокси)пропилфосфоната (1-1) в виде масла желтого цвета. Спектр ¹H ЯМР (CDCl₃): δ 4,23-4,31 (м, 4H), 3,75-3,80 (м, 4H), 3,60-3,67 (м, 4H), 3,26 (т, 2H), 2,33-2,50 (м, 2H), 1,38 (т, 6H).

Стадия 2. Синтез диэтил 2-(2-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этокси)этокси)-1,1-дифторэтилфосфоната (1-2).

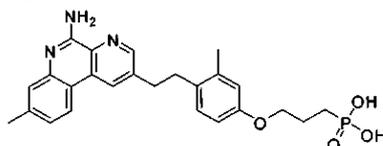
К раствору 4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенола (B-4) (1,0 экв.) в диметилформамиде (0,10 М) при 22°C добавляли 60% суспензию гидроксида натрия в минеральном масле (1,5 экв.) и полученную смесь оставляли для перемешивания в течение 30 мин. На данном этапе к смеси добавляли диэтил 1,1-дифтор-3-(2-(2-йодоэтокси)этокси)пропилфосфонат (1,2 экв.). Реакционную смесь затем оставляли для перемешивания в течение 18 ч, после чего смесь разводили этилацетатом и водой. Двухфазные слои разделяли и органический слой дважды отмывали водой. Органический слой высушивали над безводным Na₂SO₄ и летучие компоненты удаляли под вакуумом. Полученный осадок очищали с помощью системы COMBIFLASH® (ISCO) с применением градиента 0-50% этилацетата в гексанах для получения диэтил 3-(2-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этокси)этокси)-1,1-дифторпропилфосфоната (1-2) в виде твердого вещества.

Стадия 3. Синтез 3-(2-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этокси)этокси)-1,1-дифторэтилфосфоновой кислоты (6).

К раствору диэтил 3-(2-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфе-

нокси)этоксид)этоксид)-1,1-дифторпропилфосфоната (1-2) (1,0 экв.) в CH_2Cl_2 (0,10 М) при 0°C медленно добавляли триметилсилил бромид (10 экв.). Через 1 ч водяную баню со льдом убирали и реакционную смесь оставляли для перемешивания при 22°C в течение 18 ч. На данном этапе летучие компоненты удаляли под вакуумом и полученный осадок очищали с помощью ВЭЖХ с обратной фазой с применением градиента от 20-90% 0,5 мМ NH_4OAc (в MeCN) до 10 мМ NH_4OAc (в воде) для получения 3-(2-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этоксид)этоксид)-1,1-дифторпропилфосфоновой кислоты (6) в виде твердого вещества. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид- d_6): δ 8,83 (с, 1H), 8,68 (с, 1H), 8,32 (с, 1H), 7,34 (с, 1H), 7,14 (д, 1H), 7,09 (ушир., 2H), 7,08 (д, 1H), 6,74 (с, 1H), 6,68 (д, 1H), 4,01 (т, 2H), 3,70 (т, 2H), 3,61 (т, 2H), 3,54-3,59 (м, 2H), 3,48-3,50 (м, 2H), 3,07 (т, 2H), 2,94 (т, 2H), 2,43 (с, 3H), 2,25 (с, 3H), 2,06-2,21 (м, 2H). ЖХМС [M+H]=590, 2.

Пример 2 (табл. 1: соединение 1). Синтез 3-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)пропилфосфоновой кислоты (1)



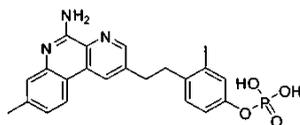
Стадия 1. Диэтил 3-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)пропилфосфонат.

Диэтил 3-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)пропилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 2, но с применением коммерчески доступного диэтил 3-бромпропилфосфоната в качестве реагента.

Стадия 2. 3-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)пропилфосфоновая кислота.

3-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)пропилфосфоновую кислоту (1) получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 3, но с применением диэтил 3-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)пропилфосфоната из предыдущей стадии. TFA добавляли к образцу ^1H ЯМР, чтобы повысить растворимость соединения для проведения анализа. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид- d_6), полученный для 3-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)пропилфосфоновой кислоты (1) представлял собой: δ 9,72 (ушир., 1H), 9,01 (с, 1H), 8,96 (ушир., 1H), 8,85 (с, 1H), 8,54 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,54 (с, 1H), 7,42 (д, 1H, J=8,2 Гц), 7,08 (д, 1H, J=8,4 Гц), 6,74 (с, 1H), 6,66 (д, 1H, J=8,3 Гц), 3,95 (т, 2H, J=6,4 Гц), 3,14 (т, 2H, J=8,6 Гц), 2,97 (т, 2H, J=8,6 Гц), 2,50 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 1,91-1,81 (м, 2H), 1,67-1,56 (м, 2H). ЖХМС [M+H]=466,2.

Пример 3 (табл. 1: соединение 2). Синтез 4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенил дигидрофосфат (2)



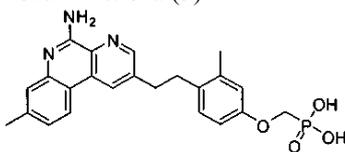
Стадия 1. 4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенилдибензилфосфат.

4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенил дибензилфосфат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 2, но с применением коммерчески доступного дибензил фосфорохлорида в качестве реагента.

Стадия 2. 4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенил дигидрофосфат.

4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенилдибензилфосфат (1,0 экв.) и 10% Pd/C (20% экв. по весу) в MeOH (0,66 М) оставляли для перемешивания в течение 18 ч в атмосфере H_2 , подаваемого из баллона. На данном этапе реакционную смесь пропускали через полушку из целита, промывая смесью 2:1 CHCl_3 : MeOH . Объединенные органические слои высушивали над безводным Na_2SO_4 и летучие компоненты удаляли под вакуумом. Полученный осадок очищали с помощью ВЭЖХ с обратной фазой с применением градиента 20-90% от 0,5 мМ NH_4OAc (в MeCN) до 10 мМ NH_4OAc (в воде) с получением 4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенил дигидрофосфата (2) в виде твердого вещества. Добавляли TFA к образцу ^1H ЯМР, чтобы повысить растворимость соединения для проведения анализа. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид- d_6): δ 9,69 (ушир., 1H), 9,33 (с, 1H), 9,03 (с, 1H), 8,87 (с, 1H), 8,54 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,51 (с, 1H), 7,42 (д, 1H, J=9,4 Гц), 7,22 (с, 1H), 7,17 (д, 1H, J=8,3 Гц), 7,10 (с, 1H), 6,97 (с, 1H), 6,92 (д, 1H, J=6,1 Гц), 3,15 (т, 2H, J=6,8 Гц), 3,00 (т, 2H, J=6,8 Гц), 2,50 (с, 3H), 2,29 (с, 3H). ЖХМС [M+H]=424,1.

Пример 4 (табл. 1: соединение 3). Синтез (4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метилфосфоновая кислота (3)



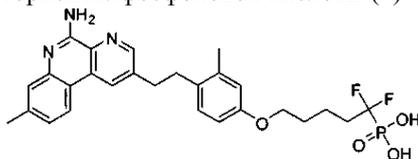
Стадия 1. Диэтил(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метилфосфонат.

Диэтил (4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 2, но с применением коммерчески доступного (диэтоксифосфорил)метил 4-метилбензолсульфоната в качестве реагента.

Стадия 2. (4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метилфосфоновая кислота.

(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метилфосфоновую кислоту (3) получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 3, но с применением диэтил(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метилфосфоната из предыдущей стадии. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид-d₆), полученный для (4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метилфосфоновая кислота (3) представлял собой: δ 8,86 (ушир., 1H), 8,67 (ушир., 1H), 8,34 (д, 1H, J=10,4 Гц), 7,37 (с, 1H), 7,35 (с, 1H), 7,14 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,05 (д, 1H, J=8,2 Гц), 6,73 (с, 1H), 6,69 (д, 1H, J=8,6 Гц), 6,60 (с, 1H), 3,70-3,61 (м, 2H), 3,10 (т, 2H, J=8,8 Гц), 2,94 (т, 2H, J=8,8 Гц), 2,45 (с, 3H), 2,25 (с, 3H). ЖХМС [M+H]=438,2.

Пример 5 (табл. 1: соединение 4). Синтез 5-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторпентилфосфоновой кислоты (4)



Стадия 1. Диэтил 5-бром-1,1-дифторпентилфосфонат.

Диэтил 5-бром-1,1-дифторпентилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 1, но с применением коммерчески доступного 1,4-дибромбутана в качестве реагента.

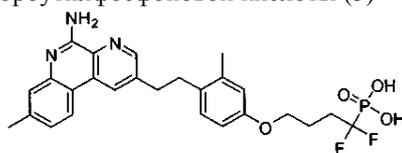
Стадия 2. Диэтил 5-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторпентилфосфонат.

Диэтил 5-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторпентилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 2, но с применением диэтил 5-бром-1,1-дифторпентилфосфоната из предыдущей стадии в качестве реагента.

Стадия 3. 5-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторпентилфосфоновая кислота (4).

5-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторпентилфосфоновую кислоту (4) получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 3, но с применением диэтил 5-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторпентилфосфоната из стадии 2. TFA добавляли к образцу ^1H ЯМР, чтобы повысить растворимость соединения для проведения анализа. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид-d₆), полученный для 5-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторпентилфосфоновой кислоты (4) представлял собой: 59,70 (ушир., 1H), 9,33 (ушир., 1H), 8,98 (с, 1H), 8,84 (с, 1H), 8,50 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,52 (с, 1H), 7,40 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,06 (д, 1H, J=8,4 Гц), 6,74 (с, 1H), 6,68 (д, 1H, J=10,8 Гц), 3,91 (т, 2H, J=6,2 Гц), 3,14 (т, 2H, J=8,4 Гц), 2,97 (т, 2H, J=8,4 Гц), 2,50 (с, 3H), 2,27 (с, 3H), 2,13-1,94 (м, 2H), 1,78-1,70 (м, 2H), 1,66-1,59 (м, 2H). ЖХМС [M+H]=530,2.

Пример 6 (табл. 1: соединение 5). Синтез 4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторбутилфосфоновой кислоты (5)



Стадия 1. Диэтил 4-бром-1,1-дифторбутилфосфонат.

Диэтил 4-бром-1,1-дифторбутилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 1, но с применением коммерчески доступного 1,3-дибромпропана в качестве реагента.

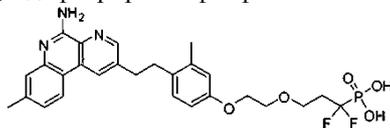
Стадия 2. Диэтил 4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторбутилфосфонат.

Диэтил 4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторбутилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 2, но с применением диэтил 4-бром-1,1-дифторбутилфосфоната из предыдущей стадии в качестве реагента.

Стадия 3. 4-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторбутилфосфоновая кислота (5).

4-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторбутилфосфоновою кислоту (5) получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 3, но с применением диэтил 4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторбутилфосфоната из стадии 2. TFA добавляли к образцу ^1H ЯМР, чтобы повысить растворимость соединения для проведения анализа. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид-d6), полученный для 4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторбутилфосфоновой кислоты (5) представлял собой: δ 9,71 (ушир., 1H), 9,33 (ушир., 1H), 9,00 (с, 1H), 8,85 (с, 1H), 8,54 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,53 (с, 1H), 7,42 (д, 1H, J=8,3 Гц), 7,08 (д, 1H, J=8,4 Гц), 6,76 (с, 1H), 6,70 (д, 1H, J=8,3 Гц), 3,97 (т, 2H, J=6,2 Гц), 3,15 (т, 2H, J=8,5 Гц), 2,98 (т, 2H, J=8,5 Гц), 2,50 (с, 3H), 2,28 (с, 3H), 2,21-2,06 (м, 2H), 1,97-1,87 (м, 2H). ЖХМС [M+H]=516,2.

Пример 7 (табл. 1: соединение 7). Синтез 3-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этокси)-1,1-дифторпропилфосфоновою кислоты (7)



Стадия 1. Диэтил 3-(2-бромэтокси)-1,1-дифторпропилфосфонат.

Высушенную в сушильном шкафу круглодонную колбу наполняли сухим THF (1,07 М) и диизопропиламином (2,0 экв.). Колбу охлаждали в бане с сухим льдом и ацетоном и обрабатывали раствором *n*-бутиллития (1,6 экв.) в циклогексане (1,52 М) капельно через шприц. Колбу переносили на водяную баню со льдом после завершения добавления, и перемешивали в течение 30 мин. Затем колбу снова охлаждали в бане с сухим льдом и ацетоном и обрабатывали содержимое раствором диэтилдифторметилфосфоната (1,0 экв.) в НМРА (1:1 об./об.) через шприц. Перемешивание производили в течение 1 ч. К указанной выше реакционной смеси быстро добавляли через шприц охлажденный раствор 1-бром-2-(2-бромэтокси) этана (3,0 экв.) в THF (3 М) и реакционную смесь оставляли для перемешивания в течение 3 ч перед тем как погасить 1 N HCl. Колбу нагревали до комнатной температуры и доводили значение pH до <4 с помощью 1 N раствора HCl. Смесь экстрагировали EtOAc (3×). Объединенные органические экстракты высушивали над безводным Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом. Неочищенное вещество очищали с помощью системы Combiflash с применением 0-75% EtOAc в гексанах, с последующим проведением метода ОФ ВЭЖХ (0,035% TFA в ACN:0,05% TFA в H₂O, колонка C 18), с получением диэтил 3-(2-бромэтокси)-1,1-дифторпропилфосфоната в виде масла бледно-желтого цвета.

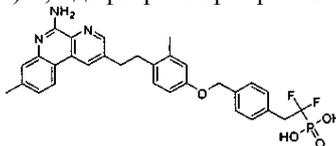
Стадия 2. Диэтил 3-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этокси)-1,1-дифторпропилфосфонат.

Диэтил 3-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этокси)-1,1-дифторпропилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 2, но с применением диэтил 3-(2-бромэтокси)-1,1-дифторпропилфосфоната из предыдущей стадии в качестве реагента.

Стадия 3. 3-(2-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этокси)-1,1-дифторпропилфосфоновая кислота.

3-(2-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этокси)-1,1-дифторпропилфосфоновою кислоту (7) получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 3, но с применением диэтил 3-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этокси)-1,1-дифторпропилфосфоната из предыдущей стадии 2. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид-d6), полученный для 3-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этокси)-U-дифторпропилфосфоновою кислоты (7) представлял собой: δ 8,83 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,35 (д, 1H, J=8,3 Гц), 7,36 (с, 1H), 7,26 (ушир., 2H), 7,16 (д, 1H, J=8,3 Гц), 7,07 (д, 1H, J=8,4 Гц), 6,75 (с, 1H), 6,66 (д, 1H, J=8,3 Гц), 4,00 (т, 2H, J=4,4 Гц), 3,67 (т, 2H, J=6,7 Гц), 3,08 (т, 2H, J=6,8 Гц), 2,94 (т, 2H, J=6,8 Гц), 2,44 (с, 3H), 2,25 (с, 3H), 2,22-2,09 (м, 2H). ЖХМС [M+H]=546,2.

Пример 8 (табл. 1: соединение 8). Синтез 2-(4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метил)фенил)-1,1-дифторэтилфосфоновою кислоты (8)



Стадия 1. Диэтил 2-(4-(бромметил)фенил)-1,1-дифторэтилфосфонат.

Диэтил 2-(4-(бромметил)фенил)-1,1-дифторэтилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 1, но с применением коммерчески доступного 1,4-бис-(бромметил)бензола в качестве реагента.

Стадия 2. Диэтил 2-(4-((4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метил)фенил)-1,1-дифторэтилфосфонат.

Диэтил 2-(4-((4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метил)фенил)-1,1-дифторэтилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 2, но с применением диэтил 2-(4-(бромметил)фенил)-1,1-дифторэтилфосфоната из предыдущей стадии в качестве реагента.

Стадия 3. 2-(4-((4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метил)фенил)-1,1-дифторэтилфосфоносовая кислота.

2-(4-((4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метил)фенил)-1,1-дифторэтилфосфоносовую кислоту (8) получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 3, но с применением диэтил 2-(4-((4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метил)фенил)-1,1-дифторэтилфосфоната из предыдущей стадии 3. TFA добавляли к образцу ^1H ЯМР, чтобы повысить растворимость соединения для проведения анализа. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид-d6), полученный для 2-(4-((4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метил)фенил)-1,1-дифторэтилфосфоносовой кислоты (8) представлял собой: δ 9,71 (ушир., 1H), 9,35 (ушир., 1H), 9,01 (с, 1H), 8,86 (с, 1H), 8,54 (д, 1H, $J=8,4$ Гц), 7,53 (с, 1H), 7,44 (д, 1H), 7,40 (с, 1H), 7,38 (с, 1H), 7,29 (д, 1H, $J=8,0$ Гц), 7,24 (с, 1H), 7,11 (с, 1H), 7,09 (с, 1H), 6,99 (с, 1H), 6,85 (с, 1H), 6,76 (д, 1H, $J=8,3$ Гц), 5,04 (с, 2H), 3,84-3,73 (м, 2H), 3,15 (т, 2H, $J=8,5$ Гц), 2,99 (т, 2H, $J=8,5$ Гц), 2,50 (с, 3H), 2,29 (с, 3H). ЖХМС $[M+H]=578,2$.

Пример 9 (табл. 1: соединение 9). Синтез 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1,1-дифтор-2-оксоэтилфосфоносовая кислота (9)

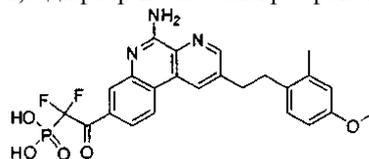
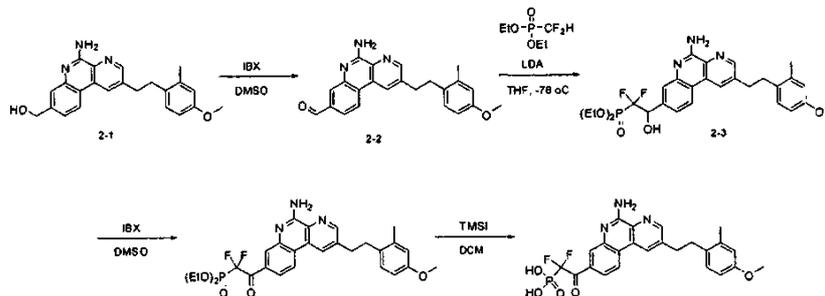


Схема 2



Стадия 1. 5-Амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-карбальдегид (2-2).

К раствору (5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)метанола (2-1), 1,0 экв. в DMSO (0,15 M) при комнатной температуре добавляли IBX (1,5 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 2,5 ч и затем разводили водой. Водный слой экстрагировали 2% MeOH/DCM (4×). Объединенные органические слои высушивали над безводным MgSO_4 и концентрировали под вакуумом. Полученный осадок очищали с помощью системы COMBIFLASH® (ISCO) с применением градиента 0-5% MeOH/DCM с получением 5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-карбальдегида (2-2) в виде твердого вещества.

Стадия 2. Диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1,1-дифтор-2-гидроксиэтилфосфонат (2-3).

К раствору диэтилдифторметилфосфоната (3,0 экв.) в THF (0,3 M) при -78°C в атмосфере азота добавляли по каплям 2 M LDA (3,0 экв., торгового качества). Реакционную смесь перемешивали при -78°C в течение 25 мин, и медленно добавляли раствор 5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-карбальдегида (2-2) (1,0 экв.) в THF (0,1 M). Реакционную смесь перемешивали при -78°C в течение 1 ч, 0°C в течение 1 ч, и затем нагревали до комнатной температуры в течение 30 мин. Реакцию гасили насыщенным водным раствором хлорида аммония и дважды экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои отмывали солевым раствором, высушивали над безводным MgSO_4 , и концентрировали под вакуумом. Полученный осадок очищали с помощью системы COMBIFLASH® (ISCO) с применением градиента 0-5% MeOH DCM с получением диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1,1-дифтор-2-гидроксиэтилфосфоната (2-3) в виде твердого вещества.

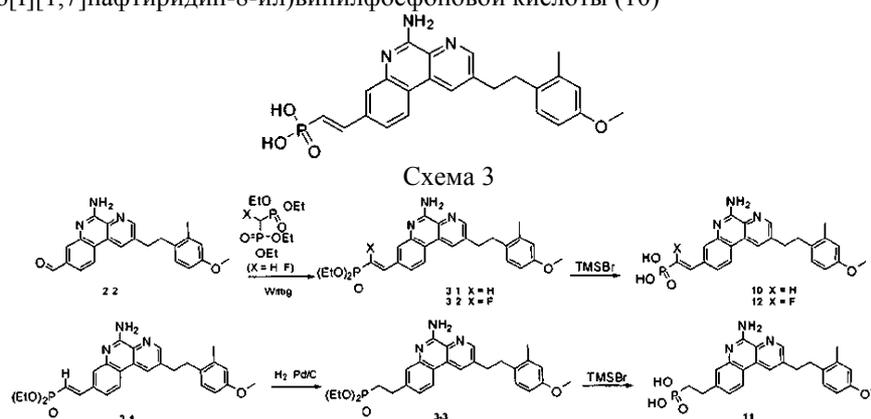
Стадия 3. Диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1,1-дифтор-2-охоэтилфосфонат (2-4).

К раствору диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1,1-дифтор-2-гидроксиэтилфосфоната (2-3) (1,0 экв.) в 1:1 DMSO/этилацетате (0,07 М) добавляли IBX (1,5 экв.). Реакционную смесь нагревали до 80°C в течение 1 ч, и затем охлаждали до комнатной температуры. Смесь разводили этилацетатом и фильтровали через целит. Фильтрат промывали водой (2×), соевым раствором, высушивали над безводным MgSO₄, и концентрировали под вакуумом. Полученный осадок очищали с помощью системы COMBIFLASH® (ISCO) с применением градиента 0-5% MeOH/DCM с получением диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1,1-дифтор-2-оксоэтилфосфоната (2-4) в виде твердого вещества.

Стадия 4. 2-(5-Амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1,1-дифтор-2-оксоэтилфосфоновая кислота (9).

К раствору диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1,1-дифтор-2-оксоэтилфосфоната (2-4) (1,0 экв.) в DCM (0,05 М) при 0°C добавляли TMSI (5,0 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры в течение 2 ч, и снова добавляли TMSI (2,5 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин и затем гасили небольшими количествами воды. DCM удаляли выпариванием и затем добавляли смесь DMSO/вода. Значение pH смеси довели до 9 и сразу очищали с помощью ОФ-ВЭЖХ с применением колонки С 18, элюируя градиентом 10-40% 95:5 (MeCN/5 mM NH₄OAc) в 10 mM NH₄OAc (pH 9). Фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали под вакуумом с получением 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1,1-дифтор-2-оксоэтилфосфоновой кислоты (9) в виде твердого вещества. Спектр ¹H ЯМР (диметилсульфоксид-d₆): δ 8,82 (с, 1H), 8,5 (ушир., 1H), 8,44 (с, 1H), 8,2 (ушир., 1H), 7,98 (д, 1H, J=8,2 Гц), 7,2 (ушир., 2H), 7,05 (д, 1H, J=8,3 Гц), 6,73 (с, 1H), 6,67 (д, 1H, J=8,3 Гц), 3,70 (с, 3H), 2,99-2,87 (м, 4H), 2,25 (с, 3H). ЖХМС [M+H]=502,2.

Пример 10 (табл. 1: соединение 10). Синтез (E)-2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)винилфосфоновой кислоты (10)



Стадия 1. (E)-Диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)винилфосфонат (3-1).

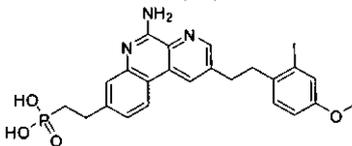
К перемешиваемой суспензии NaH (1,2 экв.) в THF (0,1 М), охлажденной до 0°C добавляли раствор тетраэтил метилendifосфоната (1,3 экв.) в THF (0,21 М). К полученной реакционной смеси добавляли раствор 5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-карбальдегида (2-2) (пример 9 - стадия 1) (1,0 экв.) в THF (0,08 М). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, затем растворители удаляли под вакуумом, и полученный осадок очищали с помощью системы COMBIFLASH® (ISCO) с применением градиента 0-5% MeOH/DCM с получением (E)-диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)винилфосфоната (3-1) в виде бесцветного твердого вещества.

Стадия 2. (E)-2-(5-Амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)винилфосфоновая кислота (10)

К раствору (E)-диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)винилфосфоната (3-1) (1,0 экв.) в DCM (0,095 М) при 0°C добавляли TMSBr (10 экв.). Реакционную смесь оставляли при комнатной температуре в течение 2 ч и затем гасили небольшими количествами MeOH. DCM удаляли выпариванием и затем добавляли смесь DMSO/вода. Значение pH смеси довели до 9 и сразу очищали с помощью ОФ ВЭЖХ с использованием колонки С18, элюируя градиентом 10-40% 95:5 (MeCN/5 mM NH₄OAc) в 10 mM NH₄OAc (pH 9). Фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали под вакуумом с получением (E)-2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)винилфосфоновой кислоты (10) в виде твердого вещества. Спектр ¹H ЯМР (диметилсульфоксид-d₆): δ 9,76 (с, 1H), 9,33 (с, 1H), 9,03 (с, 1H), 8,82 (с, 1H), 8,60 (д, 1H),

$J=8,4$ Гц), 7,87 (д, 1H, $J=8,4$ Гц), 7,78 (с, 1H), 7,31 (дд, 1H, $J=17,6, 21,6$ Гц), 7,03 (д, 1H, $J=8,4$ Гц), 6,69 (м, 2H), 6,61 (дд, 1H, $J=2,8, 8,4$ Гц), 3,64 (с, 3H), 3,14-3,06 (м, 2H), 2,97-2,91 (м, 2H), 2,23 (с, 3H). ЖХМС $[M+H]=450, 2$.

Пример 11 (табл. 1: соединение 11). Синтез 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)этилфосфоновой кислоты (11)



Стадия 1. Диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)этилфосфонат (3-3).

К раствору (Е)-диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)винилфосфата (3-1) (пример 10 - стадия 1) (1,0 экв.) в DCM (0,05 М) и EtOH (0,08 М) добавляли катализатор 10% "палладий на углероде" (0,09 экв.). Реакционный сосуд заполняли водородом, подаваемым из баллона, и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После завершения реакции, которую контролировали с помощью ЖХ/МС, растворители удаляли, и полученный осадок очищали с помощью системы COMBIFLASH® (ISCO) с применением градиента 0-5% MeOH/DCM с получением диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)этилфосфоната (3-3).

Стадия 2. 2-(5-Амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)этилфосфоновая кислота (11).

К раствору диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)этилфосфоната (3-3) (1,0 экв.) в DCM (0,02 М) при 0°C добавляли TMSBr (10 экв.). Реакционную смесь оставляли при комнатной температуре в течение 2 ч и затем гасили небольшими количествами MeOH. DCM удаляли выпариванием и затем добавляли смесь DMSO/вода. Значение pH смеси доводили до 9 и сразу очищали ОФ ВЭЖХ с использованием колонки C18, элюируя градиентом 10-40% 95:5 (MeCN/5 mM NH₄OAc) в 10 mM NH₄OAc (pH 9). Фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали под вакуумом с получением 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)этилфосфоновой кислоты (11) в виде твердого вещества. Спектр ¹H NM (диметилсульфоксид-d₆): δ 9,66 (с, 1H), 9,30 (с, 1H), 8,95 (с, 1H), 8,78 (с, 1H), 8,50 (д, 1H, $J=8,4$ Гц), 7,54 (с, 1H), 7,45 (д, 1H, $J=8,4$ Гц), 7,02 (д, 1H, $J=8,4$ Гц), 6,69 (д, 1H, $J=2,8$ Гц), 6,61 (дд, 1H, $J=2,8, 8,4$ Гц), 3,64 (с, 3H), 3,14-3,06 (м, 2H), 3,00-2,90 (м, 4H), 2,22 (с, 3H), 2,02-1,92 (м, 2H). ЖХМС $[M+H]=452,2$.

Пример 12 (табл. 1: соединение 12). Синтез (Е)-2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1-фторвинилфосфоновой кислоты (12)



Стадия 1. (Е)-Диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1-фторвинилфосфонат (3-2).

К перемешиваемому раствору тетраэтилфторметилendifосфоната (2,5 экв.) в THF (0,27 М), охлажденному до -78°C, добавляли раствор LDA (1,8 М в этилбензол/пентан/гексане, 2,0 экв.). Полученную реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 30 мин, прежде чем ее снова охлаждали до -78°C. Раствор 5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-карбальдегида (2-2) (пример 9 - стадия 1) (1,0 экв.) в THF (0,18 М) добавляли и реакционную смесь оставляли медленно нагреваться при комнатной температуре. Реакцию гасили насыщенным раствором NH₄Cl. Водную фазу экстрагировали DCM (3×). Взятые вместе органические фазы объединяли и концентрировали под вакуумом. Остаток очищали с помощью системы COMBIFLASH® (ISCO) с применением градиента 0-5% MeOH/DCM для получения (Е)-диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1-фторвинилфосфоната (3-2) в виде бесцветного твердого вещества.

Стадия 2. (Е)-2-(5-Амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1-фторвинилфосфоновая кислота (12).

К раствору (Е)-диэтил 2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1-фторвинилфосфоната (3-2) (1,0 экв.) в DCM (0,05 М) при 0°C добавляли TMSBr (10 экв.). Реакционную смесь нагревали при комнатной температуре в течение 2 ч, и затем гасили небольшими количествами MeOH. DCM удаляли выпариванием и затем добавляли смесь DMSO/вода. Значение pH смеси доводили до 9 и сразу очищали с помощью ОФ ВЭЖХ с использованием колонки C18, элюируя градиентом 10-40% 95:5 (MeCN/5 mM NH₄OAc) в 10 mM NH₄OAc (pH 9). Фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали под вакуумом с получением (Е)-2-(5-амино-2-(4-метокси-2-

метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1-фторвинилфосфоновой кислоты (12) в виде твердого вещества. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид-d₆): δ 9,80 (с, 1H), 9,41 (с, 1H), 9,05 (с, 1H), 8,87 (с, 1H), 8,65 (д, 1H, J=8,8 Гц), 8,08 (с, 1H), 7,76 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,08 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,02 (д, 1H, J=8,4 Гц), 6,83-6,65 (м, 2H), 3,69 (с, 3H), 3,18-3,12 (м, 2H), 3,02-2,96 (м, 4H), 2,28 (с, 3H). ЖХМС [M+H]=468,1.

Пример 13 (табл. 1: соединение 13). Синтез 3-((4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метил)фенилфосфоновой кислоты (13)

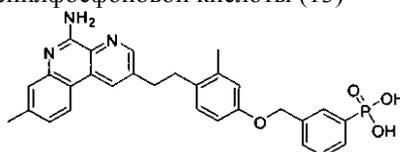
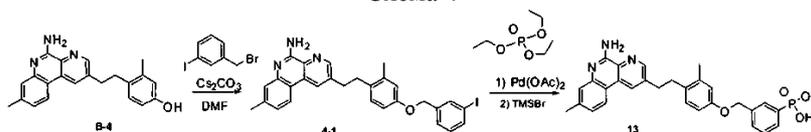


Схема 4



Стадия 1. 2-(4-(3-Йодбензилокси)-2-метилфенэтил)-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-5-амин (4-1).

К раствору 4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенола (B-4), 1,0 экв. в диметилформамиде (0,10 М) при 22°C добавляли карбонат цезия (1,5 экв.) и полученную смесь оставляли для перемешивания в течение 30 мин. На данном этапе 1-(бромметил)-3-йодбензол (1,5 экв.) добавляли к указанной смеси. Реакционную смесь оставляли для перемешивания при 55°C в течение 18 ч, после чего разводили этилацетатом и водой. Двухфазные слои разделяли и органический слой дважды отмывали водой. Органический слой высушивали над безводным Na₂SO₄ и летучие компоненты удаляли под вакуумом. Полученный осадок очищали с помощью системы COMBIFLASH® (ISCO) с применением градиента 0-50% этилацетата в гексанах для получения 2-(4-(3-йодбензилокси)-2-метилфенэтил)-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-5-амина (4-1) в виде твердого вещества.

Стадия 2. 3-((4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метил)фенилфосфоновая кислота (13).

К перемешиваемому раствору 2-(4-(3-йодбензилокси)-2-метилфенэтил)-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-5-амина (1,0 экв.) в триэтилфосфате (1,05 экв.) добавляли ацетат палладия (0,08 экв.). Полученную реакционную смесь нагревали при 90°C в течение ночи. После того как реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, осадок помещали в DCM (0,27 М) при 0°C, и обрабатывали TMSBr (11 экв.). Реакционную смесь оставляли при комнатной температуре в течение 2 ч и затем гасили небольшими количествами MeOH. DCM удаляли выпариванием и затем добавляли смесь DMSO/вода. Значение pH смеси доводили до 9 и сразу очищали с помощью ОФ ВЭЖХ с использованием колонки C18, элюируя градиентом 10-40% 95:5 (MeCN/5 mM NH₄OAc) в 10 mM NH₄OAc (pH 9). Фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали под вакуумом с получением 3-((4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)метил)фенилфосфоновой кислоты (13) в виде твердого вещества. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид-d₆): δ 8,84 (с, 1H), 8,72 (с, 1H), 8,35 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,67 (д, 1H, J=12 Гц), 7,60-7,54 (м, 1H), 7,30-7,20 (м, 2H), 7,15 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,11 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,04 (с, 1H), 6,84 (с, 1H), 6,77 (м, 1H), 4,99 (с, 2H), 3,12-2,92 (м, 4H), 2,44 (с, 3H), 2,27 (с, 3H). ЖХМС [M+H]=514,2.

Пример 14 (табл. 1: соединение 14). Синтез 5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-карбонилфосфоновой кислоты (14)

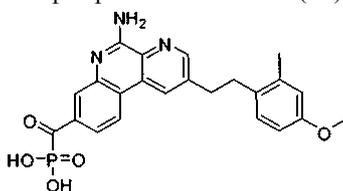
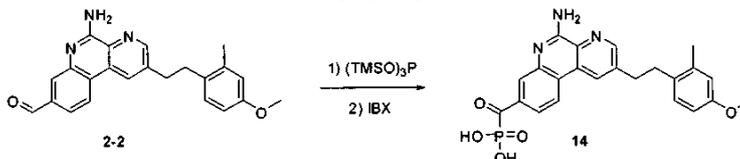


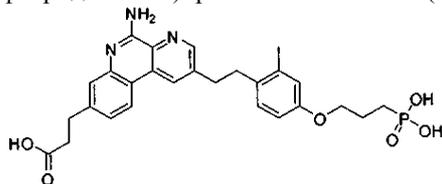
Схема 5



К перемешиваемой суспензии 5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-карбальдегида (2-2) (пример 9 - стадия 1) (1,0 экв.) в толуоле (0,27 М) добавляли трис-(триметилсилил)фосфит (1,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 60 мин, затем растворители удаляли и полученный осадок помещали в DMSO (0,27 М) и добавляли IBX (1,5 экв.). Ре-

акционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2,5 ч и фильтровали, и сразу очищали с помощью ОФ ВЭЖХ с применением колонки С18, элюируя градиентом 10-40% 95:5 (MeCN/5 mM NH₄OAc) в 10 mM NH₄OAc (pH 9). Фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали под вакуумом с получением 5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-карбонилфосфоновой кислоты (14) в виде твердого вещества. Спектр ¹H ЯМР (диметилсульфоксид-d₆): δ 9,84 (с, 1H), 9,35 (с, 1H), 9,09 (с, 1H), 8,89 (с, 1H), 8,76 (д, 1H, J=8,4 Гц), 8,60 (с, 1H), 8,19 (д, 1H, J=8,8 Гц), 7,04 (д, J=8,8 Hz, 1H), 6,70 (д, 1H, J=2,8 Гц), 6,62 (дд, 1H, J=2,8, 8,4 Гц), 3,64 (с, 3H), 3,15-3,09 (м, 2H), 2,97-2,91 (м, 2H), 2,23 (с, 3H). ЖХМС [M+H]=452,1.

Пример 15 (табл. 1: соединение 15). Синтез 3-(5-амино-2-(2-метил-4-(3-фосфонопропокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты (15)



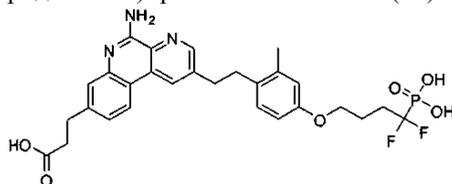
Стадия 1. 3-(5-Амино-2-(4-(3-(диэтоксифосфорил)пропокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановая кислота.

3-(5-Амино-2-(4-(3-(диэтоксифосфорил)пропокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановую кислоту получали по методике, описанной в примере 19 - стадия 11, но с применением коммерчески доступного диэтил 3-бромпропилфосфоната в качестве реагента.

Стадия 2. 3-(5-Амино-2-(2-метил-4-(3-фосфонопропокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановая кислота (15).

3-(5-Амино-2-(2-метил-4-(3-фосфонопропокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановую кислоту (15) получали по методике, описанной в примере 19 - стадия 12, но с применением 3-(5-амино-2-(4-(3-(диэтоксифосфорил)пропокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты из предыдущей стадии. Спектр ¹H ЯМР (MeOD-d₄), полученный для 3-(5-амино-2-(2-метил-4-(3-фосфонопропокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты (15), представлял собой: δ 8,60 (с, 1H), 8,27 (с, 1H), 8,07 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,52 (с, 1H), 7,30 (д, 1H, J=8,4 Гц), 6,87 (д, 1H, J=8,4 Гц), 6,67 (с, 1H), 6,60 (д, 1H, J=8,4 Гц), 3,93(т, J=6,4 Hz, 2H), 3,49-3,47 (м, 2H), 3,14-3,09 (м, 2H), 2,99-2,95 (м, 2H), 2,69-2,64 (м, 2H), 2,17 (с, 3H), 2,02-2,00 (м, 2H), 1,74-1,66 (м, 2H). ЖХМС [M+H]=524,2.

Пример 16 (табл. 1: соединение 16). Синтез 3-(5-амино-2-(4-(4,4-дифтор-4-фосфонобутоксиди)2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты (16)



Стадия 1. Диэтил 4-бром-1,1-дифторбутилфосфонат.

Диэтил 4-бром-1,1-дифторбутилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 1, но с применением коммерчески доступного 1,3-дибромпропана в качестве реагента.

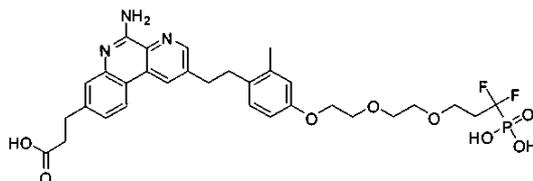
Стадия 2. 3-(5-Амино-2-(4-(4-(диэтоксифосфорил)-4,4-дифторбутоксиди)2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановая кислота.

3-(5-Амино-2-(4-(4-(диэтоксифосфорил)-4,4-дифторбутоксиди)2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановую кислоту получали по методике, описанной в примере 19 - стадия 11, но с применением диэтил 4-бром-1,1-дифторбутилфосфоната из предыдущей стадии 1 в качестве реагента.

Стадия 3. 3-(5-Амино-2-(4-(4,4-дифтор-4-фосфонобутоксиди)2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановая кислота (16).

3-(5-Амино-2-(4-(4,4-дифтор-4-фосфонобутоксиди)2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановую кислоту (16) получали по методике, описанной в примере 19 - стадия 12, но с применением 3-(5-амино-2-(4-(4-(диэтоксифосфорил)-4,4-дифторбутоксиди)2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты из предыдущей стадии 2. Спектр ¹H ЯМР (MeOD-d₄), полученный для 3-(5-амино-2-(4-(4,4-дифтор-4-фосфонобутоксиди)2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты, (16) представлял собой: δ 8,69 (с, 1H), 8,45 (с, 1H), 8,22 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,53 (с, 1H), 7,45 (д, 1H, J=8,4 Гц), 6,89 (д, J=8,4 Hz, 1H), 6,69 (с, 1H), 6,60 (д, 1H, J=8,4 Гц), 3,95 (т, 2H, J=6,4 Гц), 3,92-3,90 (м, 2H), 3,49-3,47 (м, 2H), 3,20-3,16 (м, 2H), 3,14-3,10 (м, 2H), 3,03-2,99 (м, 2H), 2,74-2,70 (м, 2H), 2,22 (с, 3H). ЖХМС [M+H]=574,2.

Пример 17 (табл. 1: соединение 17). Синтез 3-(5-амино-2-(4-(2-(2-(3,3-дифтор-3-фосфонопропокси)этокси)этокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты (17)



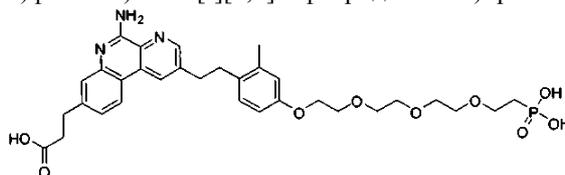
Стадия 1. Этил 3-(5-амино-2-(2-[4-(2-{2-[3-(диэтоксифосфорил)-3,3-дифторпропокси]этокси}этокси)-2-метилфенил]этил}бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноат.

Этил 3-(5-амино-2-{2-[4-(2-{2-[3-(диэтоксифосфорил)-3,3-дифторпропокси]этокси}этокси)-2-метилфенил]этил}бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноат получали по методике, описанной в примере 19 - стадия 11, но с применением диэтил 1,1-дифтор-3-(2-(2-йодэтокси)этокси)пропилфосфоната (1-1) (описанного в примере 1 - стадия 1) в качестве реагента.

Стадия 2. 3-(5-Амино-2-(4-(2-(2-(3,3-дифтор-3-фосфонопропокси)этокси)этокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановая кислота (17).

3-(5-Амино-2-(4-(2-(2-(3,3-дифтор-3-фосфонопропокси)этокси)этокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановую кислоту (17) получали по методике, описанной в примере 19 - стадия 12, но с применением этил 3-(5-амино-2-{2-[4-(2-{2-[3-(диэтоксифосфорил)-3,3-дифторпропокси]этокси}этокси)-2-метилфенил]этил}бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноата из предыдущей стадии. Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d₆), полученный для 3-(5-амино-2-(4-(2-(2-(3,3-дифтор-3-фосфонопропокси)этокси)этокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты (17), представлял собой: δ 9,02 (с, 1H), 8,82 (с, 1H), 8,55 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,58 (с, 1H), 7,49 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,07(д, 1H, J=8,4 Гц), 6,75 (с, 1H), 6,68 (д, 1H, J=8,0 Гц), 4,03-4,00 (м, 2H), 3,72-3,70 (м, 2H), 3,66-3,62 (м, 2H), 3,58-3,56 (м, 2H), 3,53-3,52 (м, 2H), 3,16-3,12 (м, 2H), 3,03-2,96 (м, 4H), 2,68-2,64 (м, 2H), 2,31-2,33 (м, 2H), 2,27 (с, 3H), ЖХМС [M+H]=648,2.

Пример 18 (табл. 1: соединение 18). Синтез 3-(5-амино-2-(2-метил-4-(2-(2-(2-(2-фосфоноэтокси)этокси)этокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты (18)



Стадия 1. Диэтил 2-(2-(2-(2-йодэтокси)этокси)этокси)этилфосфонат.

Диэтил 2-(2-(2-(2-йодэтокси)этокси)этокси)этилфосфонат получали по методике, описанной в примере 22 - стадия 1, но с применением коммерчески доступного 1-йод-2-(2-(2-(2-йодэтокси)этокси)этокси)этана в качестве реагента.

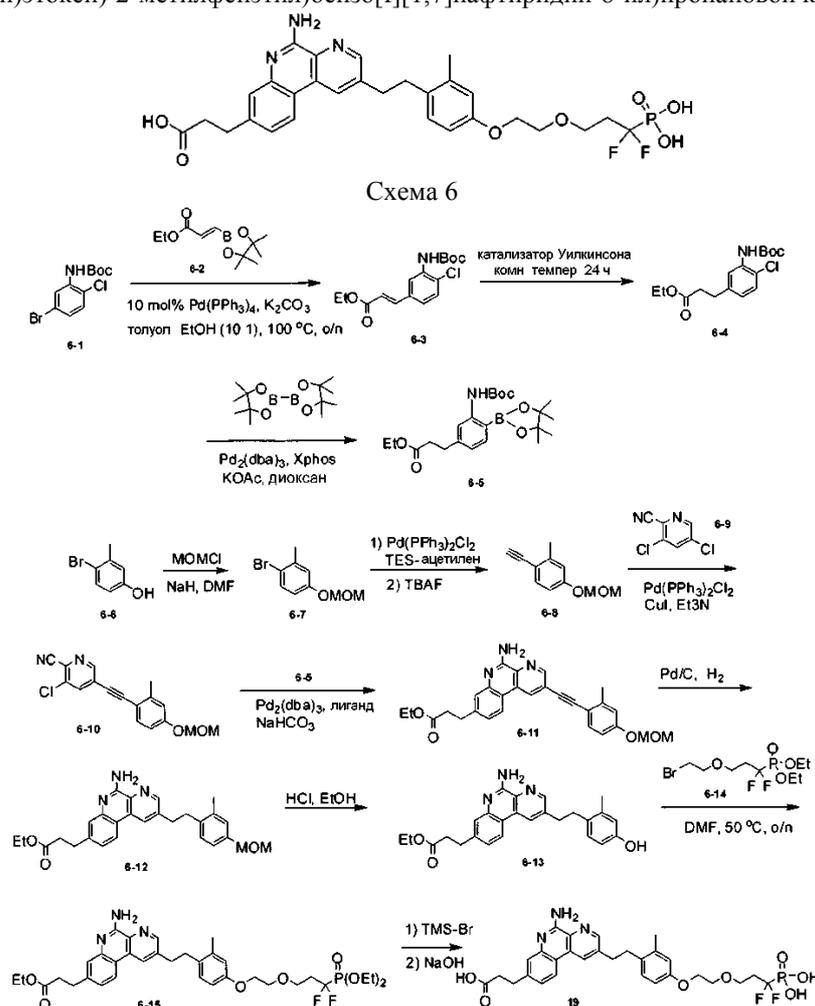
Стадия 2. Этил 3-[5-амино-2-(2-{4-[2-(2-{2-[2-(диэтоксифосфорил)этокси]этокси}этокси)этокси]-2-метилфенил}этил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил]пропанат.

Этил 3-[5-амино-2-(2-{4-[2-(2-{2-[2-(диэтоксифосфорил)этокси]этокси}этокси)этокси]-2-метилфенил}этил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил]пропаноат получали по методике, описанной в примере 19 - стадия 11, но с применением диэтил 2-(2-(2-(2-йодэтокси)этокси)этокси)этилфосфоната из предыдущей стадии 1 в качестве реагента.

Стадия 3. 3-(5-Амино-2-(2-метил-4-(2-(2-(2-(2-фосфоноэтокси)этокси)этокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановая кислота (18).

3-(5-Амино-2-(2-метил-4-(2-(2-(2-(2-фосфоноэтокси)этокси)этокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановую кислоту (18) получали по методике, описанной в примере 19 - стадия 12, но с применением этил 3-[5-амино-2-(2-{4-[2-(2-{2-[2-(диэтоксифосфорил)этокси]этокси}этокси)этокси]-2-метилфенил}этил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил]пропаноата из предыдущей стадии 2. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид-d₆), полученный для 3-(5-амино-2-(2-метил-4-(2-(2-(2-(2-фосфоноэтокси)этокси)этокси)этокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты (18), представлял собой: δ 9,02 (с, 1H), 8,82 (с, 1H), 8,56 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,57 (с, 1H), 7,49 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,07 (д, 1H, J=8,4 Гц), 6,76 (с, 1H), 6,68(д, 1H, J=8,4 Гц), 4,03-1,01 (м, 2H), 3,72-3,69 (м, 2H), 3,59-3,47 (м, 10H), 3,16-3,13 (м, 2H), 3,03-2,96 (м, 4H), 2,68-2,64 (м, 2H), 1,87-1,82 (м, 2H), 2,27 (с, 3H), ЖХМС [M+H]=642,3.

Пример 19 (табл. 1: соединение 19). Синтез 3-(5-амино-2-(4-(2-(3,3-дифтор-3-фосфонопрокси)этокси)-2-метилфенэтил)бензо[*f*][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты (19)



Стадия 1. (Е)-Этил 3-(3-(трет-бутоксикарбониламино)-4-хлорфенил)акрилат (6-3).

К раствору трет-бутил 5-бром-2-хлорфенилкарбамата (6-1) (1,0 экв.) в ацетонитриле (0,3 М) и EtOH (0,5 М) добавляли K_2CO_3 (2,0 экв.). Реакционную смесь дегазировали и обдували N_2 , затем добавляли (Е)-этил 3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)акрилатом (6-2) (1,2 экв.) и $Pd(PPh_3)_4$ (0,1 экв.). Реакционную смесь снова обдували N_2 и перемешивали при $100^\circ C$ в течение ночи. После охлаждения до комнатной температуры добавляли гексан, и фильтровали смесь через подушку из диоксида кремния, элюируя EA/Hex (1:1) до полного прохождения продукта. Фильтрат концентрировали и очищали с помощью системы Combiflash, элюируя 0-15% EA в Hex для получения (Е)-этил 3-(3-(трет-бутоксикарбониламино)-4-хлорфенил)акрилата (6-3) в виде белого твердого вещества.

Стадия 2. Этил 3-(3-(трет-бутоксикарбониламино)-4-хлорфенил)пропаноат (6-4).

К раствору (Е)-этил 3-(3-(трет-бутоксикарбониламино)-4-хлорфенил)акрилата (6-3) (1,0 экв.) в этилацетат/этанол (1:1, 0,3 М) добавляли катализатор Уилкинсона (0,10 экв.). Подавали из баллона газообразный водород и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Смесь фильтровали через подушку из целита, промывая дихлорметаном. Фильтрат концентрировали под вакуумом и очищали с помощью системы Combiflash с применением 0-10% этилацетата в гексане для получения этил 3-(3-(трет-бутоксикарбониламино)-4-хлорфенил)пропаноата (6-4) в виде твердого вещества.

Стадия 3. Этил 3-(3-(трет-бутоксикарбониламино)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил)пропаноат (6-5).

Раствор этил 3-(3-(трет-бутоксикарбониламино)-4-хлорфенил)пропаноата (6-4) (1,0 экв.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолана) (2,0 экв.), трис-(добензилиденацетон)дипалладия(0) (0,05 экв.), 2-дициклогексилфосфино-2',4',6'-триизопропилдифенила (0,20 экв.), и ацетата калия (2,0 экв.) в 1,4-диоксане (0,2 М) дегазировали и перемешивали при $100^\circ C$ в течение ночи. После охлаждения до комнатной температуры содержимое реакционной смеси концентрировали под вакуумом. Неочищенное вещество очищали с помощью системы Combiflash с применением 0-50% этилацетата в гексане для получения этил 3-(3-(трет-бутоксикарбониламино)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил)пропаноата (6-5) в виде коричневого масла. Продукт хранили при $-20^\circ C$ и использовали в те-

чение месяца после синтеза.

Стадия 4. 1-Бром-4-(метоксиметокси)-2-метилбензол (6-7).

К раствору 4-бром-3-метилфенол (6-6) (1,0 экв.) в DMF (0,5 М) при 0°C добавляли порциями 60% масс. NaH (1,5 экв.). Добавление контролировали, так чтобы внутренняя температура реакционной смеси не превышала 10°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 45 мин, затем раствор хлор(метокси)метана (1,2 экв.) в DMF (3 М) добавляли по каплям через дополнительную воронку. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3,5 ч, и затем быстро охлаждали, помещая на лед. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Добавляли эфир, и разделяли два слоя. Водный слой экстрагировали (1×) эфиром. Объединенные органические слои отмывали водой (2×), соевым раствором, высушивали над MgSO₄, и концентрировали с получением 1-бром-4-(метоксиметокси)-2-метилбензола (6-7) в виде бесцветного масла. Неочищенное вещество применяли в следующей стадии без дополнительной очистки.

Стадия 5. Триэтил (4-(метоксиметокси)-2-метилфенил)этинил)силан.

Раствор 1-бром-4-(метоксиметокси)-2-метилбензола (1,0 экв.), триэтиламина (5,0 экв.) в DMF (0,5 М) дегазировали и обдували азотом. К реакционной смеси добавляли TES-ацетилен (1,05 экв.), CuI (0,098 экв.) и Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,098 экв.). Реакционную смесь нагревали до 60°C и перемешивали в течение ночи. После охлаждения до комнатной температуры добавляли воду и эфир. Слои разделяли и органический слой промывали водой (2×). Органический слой отделяли и пропускали через подушку из диоксида кремния (заполненную гексаном). Диоксид кремния промывали 10% EA в Hex. Фракции объединяли и концентрировали с получением триэтил((4-(метоксиметокси)-2-метилфенил)этинил)силана в виде масла черного цвета. Неочищенное вещество применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Стадия 6. 1-Этинил-4-(метоксиметокси)-2-метилбензол (6-8).

К раствору триэтил((4-(метоксиметокси)-2-метилфенил)этинил)силана (1,0 экв.) при 0°C медленно добавляли тетрабутиламоний фторид (1 М раствор в THF, 0,20 экв.). На данном этапе убирали водяную баню со льдом и реакционную смесь оставляли для перемешивания при комнатной температуре в течение 45 мин. Реакционную смесь затем пропускали через подушку из диоксида кремния (заполненную гексаном) и элюировали 20% EtOAc в гексанах для удаления нерастворимых солей. Сырой продукт затем очищали с помощью системы Combiflash с применением 0-10% EtOAc в гексанах с получением 1-этинил-4-(метоксиметокси)-2-метилбензола (6-8) в виде слегка коричневатой жидкости.

Стадия 7. 3-Хлор-5-((4-(метоксиметокси)-2-метилфенил)этинил)пиколинонитрил (6-10).

Раствор 1-этинил-4-(метоксиметокси)-2-метилбензола (6-8) (1,0 экв.), 3,5-дихлорпиколинонитрила (6-9) (0,90 экв.), CuI (0,10 экв.) и Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,10 экв.) и триэтиламина (5,0 экв.) в DMF (0,25 М) дегазировали и обрабатывали азотом. Реакционную смесь затем нагревали до 60°C и перемешивали в течение ночи. После охлаждения до комнатной температуры добавляли воду. Смесь экстрагировали с помощью EA (2×). Объединенные органические слои отмывали 10% aq NH₄OH (2×), соевым раствором и концентрировали. Неочищенное вещество фильтровали через подушку из диоксида кремния (смоченного гексаном). Диоксид кремния промывали 10% EA в Hex. Фракции объединяли и концентрировали. Полученные твердые вещества отмывали в горячем эфире и фильтровали с получением твердого вещества желтого цвета, которое применяли на следующей стадии без дополнительной очистки. Фильтрат концентрировали и очищали с помощью Combiflash с применением 0-10% EtOAc в гексанах с получением 3-хлор-5-((4-(метоксиметокси)-2-метилфенил)этинил)пиколинонитрила (6-10) в виде твердого вещества желтого цвета.

Стадия 8. Этил 3-(5-амино-2-((4-(метоксиметокси)-2-метилфенил)этинил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноат (6-11).

Раствор 3-хлор-5-((4-(метоксиметокси)-2-метилфенил)этинил)пиколинонитрила (6-10) (1,0 экв.), этил 3-(3-(трет-бутоксикарбониламино)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил)пропаноата (6-5) (1,25 экв.), трис-(добензилиденацетон)дипалладия(0) (0,10 экв.), дициклогексил(2',6'-диметоксидифенил-2-ил)фосфина (0,20 экв.) и бикарбоната натрия (3,0 экв.) в n-бутаноле/H₂O (5:1, 0,2 М) дегазировали и перемешивали при 100°C в течение ночи. После охлаждения до комнатной температуры содержимое реакционной смеси разводили этилацетатом и водой. Две фазы разделяли и водный слой дважды экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои отмывали соевым раствором, высушивали над безводным MgSO₄, и концентрировали под вакуумом. Неочищенное вещество очищали с помощью флэш-хроматографии на системе COMBIFLASH® (ISCO) с применением 0-40% этилацетата в DCM вначале, для удаления примесей, затем 0-4% MeOH в DCM для получения этил 3-(5-амино-2-((4-(метоксиметокси)-2-метилфенил)этинил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноата (6-11). Дальнейшую очистку выполняли путем осаждения и отмывки в горячем эфире.

Стадия 9. Этил 3-(5-амино-2-(4-(метоксиметокси)-2-метилфенил)этинил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноат (6-12).

Раствор этил 3-(5-амино-2-((4-(метоксиметокси)-2-метилфенил)этинил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноата (6-11) (1,0 экв.) в EtOH/THF (3:1, 0,16 М) обдували азотом. Затем добавляли 10 мас.% Pd/C (0,20 экв. по весу). Реакционную смесь обдували водородом (2×) и перемешивали в атмосфере во-

дорода, подаваемого из баллона. Через 24 ч реакционную смесь фильтровали через подушку из целита, промывая 5% MeOH в DCM. Фильтрат проверяли на наличие исходного вещества с применением метода LCMS. Реакцию гидрирования повторяли до тех пор, пока больше не обнаруживали алкиновое исходное соединение или алкеновое промежуточное соединение. Сырой продукт очищали с помощью системы CombiFlash с применением 0-4% MeOH в DCM, что давало этил 3-(5-амино-2-(4-(метоксиметокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноат (6-12) в виде белого твердого вещества.

Стадия 10. Этил 3-(5-амино-2-(4-гидрокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноат (6-13).

Этил 3-(5-амино-2-(4-(метоксиметокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноат (6-12) (1,0 экв.) растворяли в EtOH (0,2 М), затем добавляли 4 М раствор HCl в диоксане (0,2 М). Продукт осаждали в виде соли желтого цвета. После перемешивания в течение 3 ч реакционную смесь вливали в перемешиваемый раствор эфира. Смесь перемешивали в течение 10 мин, затем фильтровали и отмывали эфиром. Этил 3-(5-амино-2-(4-гидрокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноат (6-13) получали в виде твердого вещества желтого цвета, которое высушивали под вакуумом в течение ночи (бис-соль HCl). Альтернативно сырой продукт очищали с помощью системы CombiFlash с применением 0-5% MeOH в DCM для получения свободного основания.

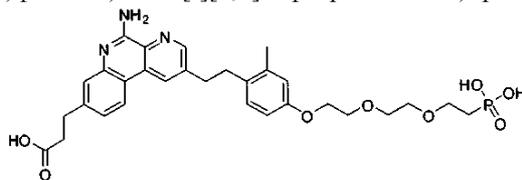
Стадия 11. Этил 3-(5-амино-2-(4-(2-(3-(диэтоксифосфорил)-3,3-дифторпропокси)этокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноат (6-15).

К раствору этил 3-(5-амино-2-(4-гидрокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноата (6-13) (1,0 экв.), растворенному в DMF (0,14 М), добавляли раствор диэтил-3-(2-бромэтокси)-1,1-дифторпропилфосфоната (6-14: описанный в примере 7 - стадия 1) (1,3 экв.) в DMF (0,7 М) и карбонат цезия (4 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 60°C. Через 1,5 ч (или после завершения реакции по результатам LCMS) DCM (2 объемных эквивалента) добавляли к реакционной смеси. Твердые (неорганические) вещества фильтровали и концентрировали фильтрат. Сырой продукт очищали с помощью системы CombiFlash с применением 0-5% MeOH в DCM, что давало этил 3-(5-амино-2-(4-(2-(3-(диэтоксифосфорил)-3,3-дифторпропокси)этокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноат (6-15) в виде масла, которое после застывания превращалось в твердое вещество белого цвета.

Стадия 12. 3-(5-Амино-2-(4-(2-(3,3-дифтор-3-фосфонопропокси)этокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил) пропановая кислота (19).

К раствору этил 3-(5-амино-2-(4-(2-(3-(диэтоксифосфорил)-3,3-дифторпропокси)этокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноата (6-15) (1,0 экв.) в DCM (0,16 М) при 0°C медленно добавляли TMSBr (10 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Дополнительно добавляли TMSBr (5,0 экв.) при 0°C, и снова перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение ночи. Растворитель удаляли выпариванием, и неочищенные твердые вещества оранжевого цвета быстро сушили в высоком вакууме. Твердые вещества суспендировали в EtOH (0,5 М) и добавляли 2,5 N NaOH (10,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 3 ч. После охлаждения до комнатной температуры значение pH смеси довели до 9-10 и сразу очищали ОФ ВЭЖХ с использованием колонки C18, элюируя 10-40% 95:5 (MeCN/5 mM NH₄OAc) в градиенте 10 mM NH₄OAc (pH 9). Фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали под вакуумом. Полученный гель белого цвета растворяли в кипящем составе 1:1 EtOH/вода (0,04 М) с добавлением нескольких капель гидроксида аммония. Пока смесь оставалась горячей, ее медленно вливали в перемешиваемый горячий раствор ацетона (0,009 М), предварительно нагретый до 50°C. Суспензию ацетона медленно охлаждали до комнатной температуры в течение 15 мин при постоянном помешивании и затем помещали на ледяную баню на 10 мин. Твердые вещества фильтровали и отмывали последовательно ацетоном (2×) и эфиром (2×). Твердые вещества высушивали в высоком вакууме в течение ночи с получением 3-(5-амино-2-(4-(2-(3,3-дифтор-3-фосфонопропокси)этокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты (19) в виде твердого вещества. Спектр ¹H ЯМР (диметилсульфоксид-d₆): δ 9,02 (с, 1H), 8,82 (с, 1H), 8,55 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,58 (с, 1H), 7,48 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,07 (д, 1H, J=8,4 Гц), 6,75 (с, 1H), 6,68 (д, 1H, J=8,4 Гц), 4,03-4,00 (м, 2H), 3,72-3,68 (м, 4H), 3,16-3,12 (м, 2H), 3,03-2,96 (м, 4H), 2,67-2,64 (м, 2H), 2,33-2,32 (м, 2H), 2,26 (с, 3H), ЖХМС [M+H]=604,2.

Пример 20 (табл. 1: соединение 20). Синтез 3-(5-амино-2-(2-метил-4-(2-(2-(2-фосфоноэтокси)этокси)этокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты (20)



Стадия 1. Диэтил 2-(2-(2-йодоэтокси)этокси)этилфосфонат.

Пробирку для микроволнового облучения заполняли при перемешивании магнитной мешалкой коммерчески доступным 1,2-бис-(2-йодоэтокси)этаном (1,0 экв.) и триэтилфосфитом (1,0 экв.). Пробирку для микроволнового облучения закрывали и затем облучали при 160°C в течение 40 мин при перемеши-

вании. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, очищали с помощью системы Combi-flash, с применением 0-75% EtOAc в гексанах, или альтернативно с помощью ОФ ВЭЖХ (0,035% TFA в ACN:0,05% TFA в H₂O, колонка C18), с получением диэтил 2-(2-(2-йодоэтокси)этокси)этилфосфоната в виде масла бледно-желтого цвета.

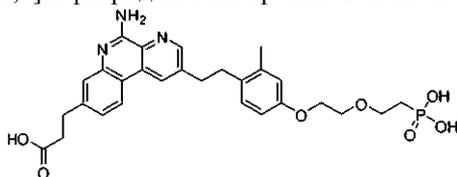
Стадия 2. Этил 3-(5-амино-2-{2-[4-(2-(2-[2-(диэтоксифосфорил)этокси]этокси)этокси)-2-метилфенил]этил}бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноат.

Этил 3-(5-амино-2-{2-[4-(2-{2-[2-(диэтоксифосфорил)этокси]этокси)этокси)-2-метилфенил]этил}бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноат получали по методике, описанной в примере 19 - стадия 11, но с применением диэтил 2-(2-(2-йодоэтокси)этокси)этилфосфоната из предыдущей стадии 1 в качестве реагента.

Стадия 3. 3-(5-Амино-2-(2-метил-4-(2-(2-(2-фосфоэтокси)этокси)этокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановая кислота (20).

3-(5-Амино-2-(2-метил-4-(2-(2-(2-фосфоэтокси)этокси)этокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановую кислоту (20) получали по методике, описанной в примере 19 - стадия 12, но с применением этил 3-(5-амино-2-{2-[4-(2-{2-[2-(диэтоксифосфорил)этокси]этокси)этокси)-2-метилфенил]этил}бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропаноата из предыдущей стадии 2. Спектр ¹H ЯМР (диметилсульфоксид-d₆), полученный для 3-(5-амино-2-(2-метил-4-(2-(2-(2-фосфоэтокси)этокси)этокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты (20), представлял собой: δ 9,02 (с, 1H), 8,82 (с, 1H), 8,55 (д, 1H, J=8,0 Гц), 7,58 (с, 1H), 7,49 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,06 (д, 1H, J=8,0 Гц), 6,76 (с, 1H), 6,68 (д, 1H, J=8,0 Гц), 4,03-4,00 (м, 2H), 3,71-3,69 (м, 2H), 3,60-3,54 (м, 4H), 3,51-3,49 (м, 2H), 3,16-3,12 (м, 2H), 3,03-2,96 (м, 4H), 2,67-2,66 (м, 2H), 2,33-2,32 (м, 2H), 2,26 (с, 3H). ЖХМС [M+H]=598,2.

Пример 21 (табл. 1: соединение 21). Синтез 3-(5-амино-2-(2-метил-4-(2-(2-фосфоэтокси)этокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты (21)



Стадия 1. Диэтил 2-(2-бромэтокси)этилфосфонат.

Диэтил 2-(2-бромэтокси)этилфосфонат получали по методике, описанной в примере 22 - стадия 1, но с применением коммерчески доступного 1-бром-2-(2-бромэтокси)этана в качестве реагента.

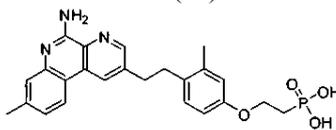
Стадия 2. 3-(5-Амино-2-(4-(2-(2-(диэтоксифосфорил)этокси)этокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановая кислота.

3-(5-Амино-2-(4-(2-(2-(диэтоксифосфорил)этокси)этокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановую кислоту получали по методике, описанной в примере 19 - стадия 11, но с применением диэтил 2-(2-бромэтокси)этилфосфоната из предыдущей стадии 1 в качестве реагента.

Стадия 3. 3-(5-Амино-2-(2-метил-4-(2-(2-фосфоэтокси)этокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановая кислота (21).

3-(5-Амино-2-(2-метил-4-(2-(2-фосфоэтокси)этокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановую кислоту (21) получали по методике, описанной в примере 19 - стадия 12, но с применением 3-(5-амино-2-(4-(2-(2-(диэтоксифосфорил)этокси)этокси)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты из предыдущей стадии 2. Спектр ¹H ЯМР (MeOD-d₄), полученный для 3-(5-амино-2-(2-метил-4-(2-(2-фосфоэтокси)этокси)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты (21), представлял собой: δ 8,59 (с, 1H), 8,45 (с, 1H), 8,18 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,52 (с, 1H), 7,31 (д, 1H, J=8,0 Гц), 6,93 (д, 1H, J=8,4 Гц), 6,72 (с, 1H), 6,65 (д, 1H, J=8,4 Гц), 4,06-4,03 (м, 2H), 3,84-3,76 (м, 4H), 3,15-3,07 (м, 4H), 3,01-2,97 (м, 2H), 2,68-2,64 (м, 2H), 2,22 (с, 3H), 2,03-1,99 (м, 2H). ЖХМС [M+H]=554,2.

Пример 22 (табл. 1: соединение 22). Синтез 2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этилфосфоновой кислоты (22)



Стадия 1. Диэтил 2-бромэтилфосфонат.

Коммерчески доступный 1,2-дибромэтан (1,0 экв.) и триэтилфосфит (1,0 экв.) нагревали с помощью микроволнового облучения при 160°C в течение 20 мин. Полученный осадок очищали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с обратной фазой (0,035% TFA в ACN:0,05% TFA в H₂O, колонка C18) с получением диэтил 2-бромэтилфосфоната в виде бесцветной жидкости.

Стадия 2. Диэтил 2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этилфосфонат.

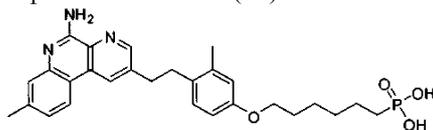
Диэтил 2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этилфосфонат

получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 2, но с применением диэтил 2-бромэтилфосфоната из предыдущей стадии 1 в качестве реагента.

Стадия 3. 2-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этилфосфоновая кислота (22).

2-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этилфосфоновую кислоту (22) получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 3, но с применением диэтил 2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этилфосфоната из предыдущей стадии 2. ТФА добавляли к образцу ^1H ЯМР, чтобы повысить растворимость соединения для проведения анализа. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид), полученный для 2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)этилфосфоновой кислоты (22) представлял собой: δ 8,83 (с, 1H), 8,71 (с, 1H), 8,35 (д, 1H, $J=8,3$ Гц), 7,35 (с, 1H), 7,15 (д, 1H, $J=9,6$ Гц), 7,08 (д, 1H, $J=8,4$ Гц), 7,06-7,03 (ушир., 2H), 6,71 (с, 1H), 6,64 (д, 1H, $J=8,1$ Гц), 4,09-3,99 (м, 2H), 3,07 (т, 2H, $J=6,9$), 2,93 (т, 2H, $J=6,7$), 2,44 (с, 3H), 2,26 (с, 3H), 1,72-1,62 (м, 2H). ЖХМС $[\text{M}+\text{H}]=452,2$.

Пример 23 (табл. 1: соединение 23). Синтез 6-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)гексилфосфоновой кислоты (23)



Стадия 1. Диэтил 6-бромгексилфосфонат.

Диэтил 6-бромгексилфосфонат получали по методике, описанной в примере 22 - стадия 1, но с применением коммерчески доступного 1,6-дибромгексана в качестве реагента.

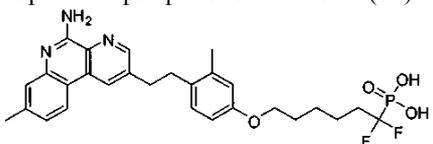
Стадия 2. Диэтил 6-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)гексилфосфонат.

Диэтил 6-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)гексилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 2, но с применением диэтил 6-бромгексилфосфоната из предыдущей стадии 1 в качестве реагента.

Стадия 3. 6-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)гексилфосфоновая кислота (23).

6-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)гексилфосфоновую кислоту (23) получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 3, но с применением диэтил 6-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)гексилфосфоната. ТФА добавляли к образцу ^1H ЯМР, чтобы повысить растворимость соединения для проведения анализа. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид- d_6), полученный для 6-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)гексилфосфоновой кислоты (23) представлял собой: δ 8,95 (с, 1H), 8,81 (с, 1H), 8,50 (д, 1H, $J=8,4$ Гц), 7,52 (с, 1H), 7,40 (д, 1H, $J=8,4$ Гц), 7,01 (д, 1H, $J=8,4$ Гц), 6,71 (с, 1H), 6,64 (д, 1H, $J=10,9$ Гц), 3,87 (т, 2H, $J=6,34$ Гц), 3,13 (т, 2H, $J=7,1$ Гц), 2,96 (т, 2H, $J=7,0$ Гц), 2,69-2,66 (м, 1H), 2,35-2,32 (м, 1H), 2,25 (с, 2H), 1,72-1,62 (м, 2H), 1,62-1,51 (м, 2H), 1,51-1,40 (м, 2H). ЖХМС $[\text{M}+\text{H}]=508, 2$.

Пример 24 (табл. 1: соединение 24). Синтез 6-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторгексилфосфоновой кислоты (24)



Стадия 1. Диэтил 6-бром-1,1-дифторгексилфосфонат.

Диэтил 6-бром-1,1-дифторгексилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 1, но с применением коммерчески доступного 1,5-дибромпентана в качестве реагента.

Стадия 2. Диэтил 6-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторгексилфосфонат.

Диэтил 6-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторгексилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 2, но с применением диэтил 6-бром-1,1-дифторгексилфосфоната из предыдущей стадии 1 в качестве реагента.

Стадия 3. 6-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторгексилфосфоновая кислота (24).

6-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторгексилфосфоновую кислоту (24) получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 3, но с применением диэтил 6-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторгексилфосфоната из предыдущей стадии 2. ТФА добавляли к образцу ^1H ЯМР, чтобы повысить растворимость соединения для проведения анализа. Спектр ^1H ЯМР ($\text{MeOD}-d_4$), полученный для 6-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторгексилфосфоновой кислоты (24),

Стадия 1. Диэтил 5-бромпентилфосфонат.

Диэтил 5-бромпентилфосфонат получали по методике, описанной в примере 22 - стадия 1, но с применением коммерчески доступного 1,5-дибромпентана в качестве реагента.

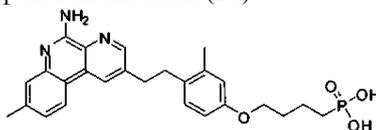
Стадия 2. Диэтил 5-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)пентилфосфонат.

Диэтил 5-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)пентилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 2, но с применением диэтил 5-бромпентилфосфоната из предыдущей стадии 1 в качестве реагента.

Стадия 3. 5-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)пентилфосфоновая кислота (27).

5-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)пентилфосфоновою кислоту (27) получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 3, но с применением диэтил 5-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)пентилфосфоната из предыдущей стадии 2. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид-d6), полученный для 5-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)пентилфосфоновой кислоты (27), представлял собой: δ 8,99 (с, 1H), 8,83 (с, 1H), 8,53 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,51 (с, 1H), 7,39 (д, 1H, J=8,4 Гц), 7,06 (д, 1H, J=8,4 Гц), 6,71 (с, 1H), 6,65 (д, 1H, J=8,3 Гц), 3,87 (т, 2H, J=6,3 Гц), 3,12 (т, 2H, J=7,0 Гц), 2,96 (т, 2H, J=7,0 Гц), 2,5 (с, 3H), 2,26 (с, 3H), 1,73-1,64 (м, 2H), 1,64-1,58 (м, 2H), 1,58-1,51 (м, 2H), 1,51-1,41 (м, 2H). ЖХМС [M+H]=494,2.

Пример 28 (табл. 1: соединение 28). Синтез 4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)бутилфосфоновой кислоты (28)



Стадия 1. Диэтил 4-бромбутилфосфонат.

Диэтил 4-бромбутилфосфонат получали по методике, описанной в примере 22 - стадия 1, но с применением коммерчески доступного 1,4-дибромбутана в качестве реагента.

Стадия 2. Диэтил 4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)бутилфосфонат.

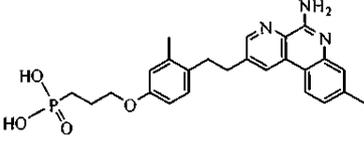
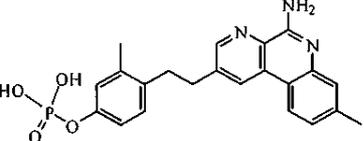
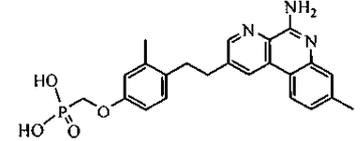
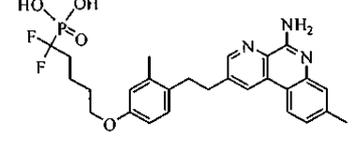
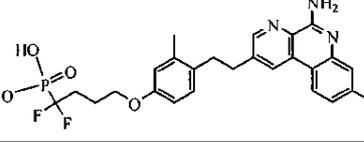
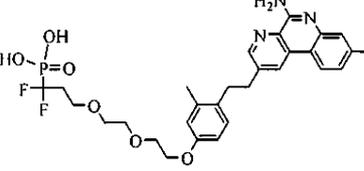
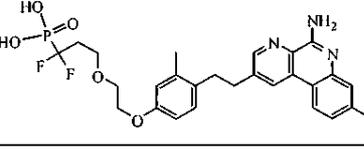
Диэтил 4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)бутилфосфонат получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 2, но с применением диэтил 4-бромбутилфосфоната из предыдущей стадии 1 в качестве реагента.

Стадия 3. 4-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)бутилфосфоновая кислота (28).

4-(4-(2-(5-Амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)бутилфосфоновою кислоту (28) получали по методике, описанной в примере 1 - стадия 3, но с применением диэтил 4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)бутилфосфоната из предыдущей стадии 2. Спектр ^1H ЯМР (диметилсульфоксид-d6), полученный для 4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)бутилфосфоновой кислоты (28) представлял собой: δ 8,93 (с, 1H), 8,79 (с, 1H), 8,48 (д, 1H, J=8,3 Гц), 7,51 (с, 1H), 7,37 (д, 1H, J=8,5 Гц), 7,04 (д, 1H, J=8,4 Гц), 6,71 (с, 1H), 6,63 (д, 1H, J=8,3 Гц), 3,89 (т, 2H, J=6,09 Гц), 3,12 (т, 2H, J=6,8 Гц), 2,96 (т, 2H, J=6,9 Гц), 2,47 (с, 3H), 2,34-2,31 (м, 2H), 2,24 (с, 3H), 1,80-1,61 (м, 4H), 1,67-1,61(м, 2H). ЖХМС [M+H]=480,2.

Соединения формулы (I), полученные согласно методикам, описанным выше, представлены в табл. 1 вместе с результатами [M+H] и данными по EC₅₀ (нМ) TLR7 человека.

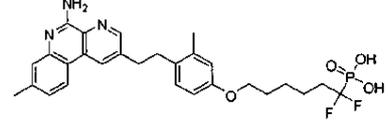
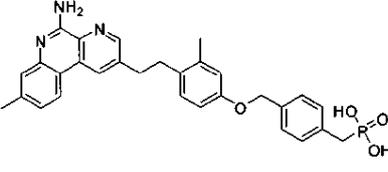
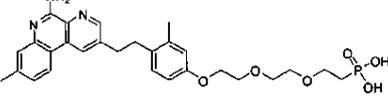
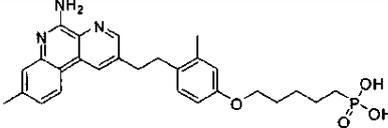
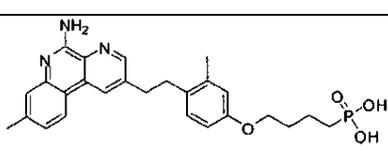
Таблица 1

Номер соединения	Структура	Физические данные ЯМР и/или МС (m/z) [M+H]	ЕС50 (нМ) TLR7 человека для HEK293
1		466,2	226
2		424,0	315
3		438,0	3170
4		530,2	559
5		516,2	308
6		590,2	1640
7		546,3	1010

8		578,2	375
9		502,6	390
10		450,2	153
11		452,2	90
12		468,1	201
13		514,2	1051
14		452,2	885

026401

15		524,2	65
16		574,2	137
17		648,2	5
18		641,6	964
19		604,2	360
20		598,2	384
21		554,2	204
22		452,2	1160
23		508,2	791

24		544, 2	4260
25		528, 2	975
26		540, 2	2592
27		494, 2	921
28		480, 2	524

Анализы.

Соединения формулы (I), предоставляемые в описании, тестировали, чтобы оценить их способность модулировать активность Toll-подобного рецептора 7.

Реакция с мононуклеарными клетками периферической крови человека.

Биоактивность соединений формулы (I), представленных здесь, тестировали в реакции с периферической кровью человека (РВМС человека) с применением панели независимых здоровых доноров-людей в соответствии с методическими рекомендациями, одобренными институтским наблюдательным советом. Человеческие РВМС выделяли из свежесобранной периферической крови на градиенте плотности фикола (GE healthcare 17-1440-03). Периферическую кровь человека, 30-35 мл, наслаивали на 15 мл фикола в конусных пробирках объемом 50 мл, с последующим центрифугированием при 1800 об/мин (центрифуга Eppendorf 5810R, снабженная биологически безопасными крышками поверх ротора с гнездами для пробирок) при комнатной температуре в течение 30 мин без ускорения и торможения. Затем собирали лейкоцитарные пленки и переносили в чистые конические пробирки объемом 50 мл и дважды отмывали в полной среде, содержащей RPMI 1640 (11875085 от Invitrogen Corporation, Carlsbad, California), дополненной 10% термоинактивированной фетальной бычьей сывороткой (Gibco 10099-141), 1% Pen-Strep (Gibco#15140-122), 1 мМ неосновными аминокислотами (Gibco#11140-050), 1 мМ пируватом натрия (Gibco# 11360-070), 2 мМ L-глутамином (Gibco#25030-081) и 1 мМ HEPES (Gibco#15630-080). Затем подсчитывали жизнеспособные клетки с помощью окрашивания трипановым синим, помещали в 96-луночные планшеты с плоским дном (Becton Dickinson #353070) в концентрации 2×10^5 клеток на лунку в 200 мкл общего объема полной среды. Затем добавляли соединения в 10-точечном формате доза-ответ, начиная с 100 мкМ, 3-кратное разведение. Лунки отрицательных контролей содержали такую же концентрацию DMSO. Культуральные супернатанты собирали после 18-24 ч инкубации при 37°C, 5% CO₂, хранили при -20°C до дальнейшего использования.

Концентрации IL-6 в культуральных супернатантах измеряли с применением набора Luminex (Bio-rad). Анализ данных проводили с помощью программного обеспечения Prism от GraphPad (San Diego, CA). Строили кривые доза-ответ для каждого соединения и определяли значения EC₅₀ в виде концентрации, при которой наблюдается 50% максимального сигнала.

Анализ активности репортерного гена.

Клетки человеческой эмбриональной почки 293 (Hek293) стабильно трансфицировали TLR7 человека и люциферазным репортерным вектором NF-κB-driven (pNifty-Luciferase). В качестве контрольной пробы использовали обычные клетки Hek293, трансфицированные pNifty-Luc. Клетки культивировали в среде DMEM, дополненной 2 мМ L-глутамин, 10% термоинактивированной FBS, 1% пенициллина и стрептомицина, 2 мкг/мл пурамицина (InvivoGen, регистрационный номер ant-pr-5) и 5 мкг/мл бластицидин (Invitrogen, регистрационный номер 46-1120). Буфер и субстрат для люциферазного анализа Bright-Glo™ приобретали в Promega, регистрационный номер E263B и регистрационный номер E264B (субстрат и буфер для теста соответственно). Приобретали в Greiner bio-one 384-луночные титрационные микропланшеты с прозрачным пластиковым основанием (регистрационный номер 789163-G), и они представ-

ляли собой планшеты с штрих-кодом.

Клетки наносили в концентрации 25000 клеток/лунку в 384-луночные планшеты в конечном объеме 50 мкл среды. Затем клетки оставляли для адгезии в лунках в культуре на ночь (18 ч) при 37°C и 5% CO₂. Затем в каждую лунку наносили серийные разведения исследуемых соединений и положительных контрольных соединений, и инкубировали в течение 7 ч при 37°C и 5% CO₂. В качестве отрицательных контролей также служили клетки, стимулированные только DMSO. После инкубации в каждую лунку добавляли 30 мкл заранее приготовленной смеси буфера для исследования и субстратного буфера в соответствии с инструкциями производителя. Люминисцентный сигнал считывали с помощью устройства CLIPR со временем интеграции 20 с на планшет.

Кривые доза-ответ строили для каждого соединения и определяли значения EC₅₀ в виде концентрации, при которой наблюдается 50% максимального сигнала.

Некоторые результаты анализа.

Различные соединения формулы (I) в свободной форме или в форме фармацевтически приемлемой соли проявляют фармакологические свойства, которые, например, показаны с помощью тестов *in vitro*, описанных в данной патентной заявке. Значение EC₅₀ в экспериментах представлено в виде концентрации соответствующего тестируемого соединения, которая вызывает ответ, находящийся посередине между исходным значением и максимальными значениями ответа. В конкретных примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 100 мкМ. В других примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 50 мкМ. В других примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 25 мкМ. В других примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 20 мкМ. В других примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 15 мкМ. В других примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 10 мкМ. В других примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 5 мкМ. В других примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 2 мкМ. В других примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 1 мкМ. В других примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 500 нМ. В других примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 250 нМ. В других примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 100 нМ. В других примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 50 нМ. В других примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 25 нМ. В других примерах соединения формулы (I) имели значения EC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до 10 нМ. Указанные значения EC₅₀ получают относительно активности резиквомода, принятой за 100%.

Только в качестве примера значения EC₅₀ для стимуляции TLR-7 некоторыми соединениями формулы (I) перечислены в табл. 1.

Приготовление лекарственной формы с адъювантами, содержащими алюминий.

Связывание соединений формулы (I), представленных в описании, с адъювантами, содержащими алюминий, при pH 9 и pH 6,5 оценивали с помощью ВЭЖХ, чтобы проверить наличие соединений формулы (I) в супернатанте.

Оценка связывания при pH 9.

Соединение 1 (0,5 мг/мл) растворяли в 10 мМ NaOH и добавляли к адъюванту гидроксиду алюминия (2 мг/мл), что давало в результате препарат 100 мкг/дозу. Супернатант оценивали с помощью ВЭЖХ, используя баллистический градиент (от 10% CH₃CN-0,1%TFA до 100% CH₃CN-0,1%TFA в 2,5 мин) на колонке C18 (50 см×4,6 мм) ACE при 45°C. Чтобы оценить эффект температуры супернатанта и времени инкубации на связывание, супернатант оценивали при температуре супернатанта комнатной температуры и при 37°C через 1, 5 и 24 ч. Также оценивали контроль без гидроксида алюминия. Хроматограммы ВЭЖХ препаратов соединения 1 с гидроксидом алюминия и без гидроксида алюминия, при любой температуре или времени инкубации показали, что соединение 1 не представлено в супернатанте, если в состав препарата входил гидроксид алюминия. На фиг. 1 представлена концентрация соединения 1 в супернатанте, измеренная ВЭЖХ, для соединения 1 с гидроксидом алюминия при комнатной температуре и при 37°C, и для соединения 1 в чистом виде (контроль).

Соединение 5 (1 мг/мл) растворяли в 10 мМ NaOH и добавляли к адъюванту гидроксиду алюминия (2 мг/мл), что давало в результате препарат 100 мкг/дозу. Супернатант оценивали с помощью ВЭЖХ, используя баллистический градиент (от 10% CH₃CN-0,1%TFA до 100% CH₃CN-0,1%TFA в 2,5 мин) на колонке C18 (50 см×4,6 мм) ACE при 45°C. Чтобы оценить эффект температуры супернатанта и времени инкубации на связывание, супернатант оценивали при температуре супернатанта комнатной температуры и при 37°C через 1, 5 и 24 ч. Также оценивали контроль без гидроксида алюминия. Хроматограммы ВЭЖХ препаратов соединения 1 с гидроксидом алюминия и без гидроксида алюминия, при любой температуре или времени инкубации показали, что соединение 1 не представлено в супернатанте, если в состав препарата входил гидроксид алюминия.

Оценка связывания при pH 6,5.

Соединение 1 (0,5 мг/мл) растворяли в 10 mM NaOH и добавляли к адьюванту гидроксиду алюминия (2 мг/мл), что давало в результате препарат 100 мкг/дозу. Значение pH раствора доводили до 6,5 с помощью HCl. Супернатант оценивали с помощью ВЭЖХ, используя баллистический градиент (от 10% CH₃CN-0,1%TFA до 100% CH₃CN-0,1%TFA в 2,5 мин) на колонке C18 (50 см×4,6 мм) ACE при 45°C. Чтобы оценить эффект температуры супернатанта и времени инкубации на связывание, супернатант оценивали при температуре супернатанта комнатной температуры и при 37°C через 1, 5 и 24 ч. Также оценивали контроль без гидроксида алюминия. Хроматограммы ВЭЖХ препаратов соединения 1 с гидроксидом алюминия и без гидроксида алюминия, при любой температуре или времени инкубации показали, что соединение 1 не представлено в супернатанте, если в состав препарата входил гидроксид алюминия.

Определение связывания при значении pH 6,7.

Соединение 5 (1 мг/мл) растворяли в 10 mM гистидинового буфера (1 мг/мл) и добавляли к адьюванту гидроксиду алюминия (2 мг/мл), что давало в результате препарат 100 мкг/дозу. Супернатант оценивали с помощью ВЭЖХ, используя баллистический градиент (от 10% CH₃CN-0,1%TFA до 100% CH₃CN-0,1%TFA в 2,5 мин) на колонке C18 (50 см×4,6 мм) ACE при 45°C. Чтобы оценить эффект температуры супернатанта и времени инкубации на связывание, супернатант оценивали при температуре супернатанта комнатной температуры и при 37°C через 1, 5 и 24 ч. Также оценивали контроль без гидроксида алюминия. Хроматограммы ВЭЖХ препаратов соединения 5 с гидроксидом алюминия и без гидроксида алюминия, при любой температуре или времени инкубации показали, что соединение 5 не представлено в супернатанте, если в состав препарата входил гидроксид алюминия.

Оценка связывания при pH 9 (гистидиновый буфер, доведенный до значения pH 9).

Чтобы определить связано ли соединение 1 ковалентной связью с гидроксидом алюминия, применяли метод экстракции органическим растворителем. Препарат готовили следующим образом: 2 мг/мл гидроксида алюминия, 100 мкг/дозу соединения 1, 10 mM гистидинового буфера, и значение pH доводили до 9. Также создавали контрольный препарат, не содержащий гидроксид алюминия.

Один мл препарата, содержащего Alum, смешивали с 1 мл 1 M раствора KН₂РO₄, pH 9 (конечная концентрация 0,5 M, pH 9) и оставляли при слабом перемешивании в течение ночи при 37°C для десорбции соединения 1 (соединения 5) из гидроксида алюминия посредством лигандного обмена с анионами фосфата. Затем проводили органическую экстракцию: 1 мл каждого образца смешивали с 1 мл н-бутанола и перемешивали на вортексе. После образования 2 фаз, верхнюю фазу (бутанол) извлекали, высушивали с помощью N₂ и ресуспендировали в смеси MeOH/10 mM NaOH. Анализ ВЭЖХ проводили для супернатантов препарата и для образцов, экстрагированных бутанолом (колонка C18; 0-100% В в 2 мин; А=0,1% TFA в Н₂О; В=0,1%TFA в АСN). Наблюдали повышенные количества соединения 1 в супернатанте препарата, обработанного Н₂РO₄, что указывало на десорбцию соединения 1 анионами фосфата. Аналогичное изменение наблюдали с экстрагированными образцами. Полученные данные представлены в табл. 2 ниже.

Таблица 2

	Время удерживания (мин)	Площадь	Концентрация (мг/мл)
Соединение 1 супернатант	1,9	2687	0,005+/-0,001
Соединение 1 фосфатный супернатант	1,9	32303	0,059+/-0,001
Соединение 1 супернатант экстракт	1,9	180678	0,329+/-0,001
Соединение 1 экстракт	1,9	15008	0,027+/-0,001
Соединение 1 фосфат/экстракт	1,9	65427	0,119+/-0,001
Соединение 1 контроль/экстракт	1,9	119470	0,217+/-0,001

Адсорбцию соединений 6, 16, 17, 19 и 20 на гидроксид алюминия оценивали следующим образом: к трем объемным эквивалентам водного гидроксида алюминия (2 мг/мл) добавляли один объемный эквивалент соединения в 10 mM гистидиновом буфере (4 мг/мл) при pH 6,8. Полученный раствор разводили 10-кратно раствором сравнения, гистидиновым буфером, до конечной концентрации соединения 0,1

мг/мл. Разведенные растворы инкубировали при 37°C в течение 5 ч. Образцы центрифугировали при 14000 об/мин в течение 10 мин, чтобы осадить нерастворимое вещество. Затем супернатант (как и внутренний стандарт) оценивали с помощью метода ЖХ-МС/МС, используя баллистический градиент (от 5% CH₃CN-0,5% муравьиной кислоты до 95% CH₃CN-1,0% муравьиной кислоты за 3,5 мин) на колонке Waters Atlantis dC 18 (50×2,1 мм) при комнатной температуре в сравнении с калибровочной кривой, полученной с известными концентрациями соединения в диапазоне от 0,005 до 50 мкМ. Концентрацию в супернатанте рассчитывали в виде % вещества, несвязанного с Alum, по сравнению с контролем; % вещества, связанного с Alum, рассчитывали как 100% минус % несвязавшегося вещества. В табл. 3 представлен % связывания соответствующих тестируемых соединений:

Таблица 3

Соединение таблицы 1	% связывания с Alum
6	98,2
16	94,5
17	96,2
19	96,0
20	97,0

Соединение 1 по своей природе является флуоресцентным. Конфокальная микроскопия адьюванта гидроксида алюминия (3 мг/мл) до и после смешивания с соединением 1 (0,25 мг/мл) наглядно показывает, что соединение фосфора ассоциирует с частицами нерастворимой соли металла.

Протокол десорбции применяли для дальнейшего подтверждения связывания соединений с адьювантом гидроксидом алюминия. Препарат (флуоресцентный) соединения/адьювант обрабатывали 0,5 М фосфатным буфером и затем отмывали водой (для водорастворимых соединений) или бутанолом (для слаборастворимых в воде соединений). Затем отмытый адьювант анализировали и, как и адьювант гидроксида алюминия перед тем, как его смешали с соединением, он не проявлял флуоресценции.

Исследования стабильности показали, что адсорбированные соединения стабильны в течение нескольких недель, в значениях стабильности соединения и адсорбции. Все соединения 1, 6, 16, 17, 19 и 20 показали по меньшей мере 95% адсорбции на протяжении по меньшей мере 3-недельного периода. Продолженное исследование соединений 19 и 20 показало, что они стабильны в течение 6 недель или более.

Системное воздействие после введения *in vivo*.

Соединения 6, 16, 19 и 20 вводили мышам Balb/C с помощью внутримышечной инъекции в дозе 100 мкг (4 мг/кг), либо только с буфером, либо после адсорбции на адьювант гидроксид алюминия. Системное сывороточное воздействие соединений регистрировали в течение 24 ч. Как показано на фиг. 3 для соединения 16, в то время как неадсорбированные соединения характеризовались высокой начальной сывороточной концентрацией, которая быстро уменьшалась, адсорбированные соединения показали значительно более пологую кривую ответа, который поддерживался в течение длительного периода времени.

Аналогичным образом, мышечные уровни соединений 1, 6, 16, 17, 19 и 20 измеряли через 24 ч после внутримышечной инъекции (100 мкг) мышам Balb/C (по 3 в группе) комбинации с белковыми антигенами, с применением или без применения адьюванта гидроксида алюминия. За исключением соединения 1, соединения не обнаруживали, если их вводили без адьюванта, но без труда обнаруживали, если вводили с адьювантом. Соединение 1 слаборастворимо в гистидиновом буфере, что объясняет отличие в его динамике. Таким образом, адсорбция на адьювант поддерживала высокий уровень растворимых фосфонатов в локальных участках инъекции.

Сывороточные цитокины измеряли через 24 ч после иммунизации соединением 6 с применением или без применения адьюванта гидроксида алюминия, или после иммунизации только буфером. Уровни IL-6 и mKC были приблизительно ~4 раза выше после иммунизации соединением 6 без адьюванта, и уровни MCP-1 были ~20 раз выше (по сравнению со значениями, наблюдаемыми при иммунизации средой для лекарства). В отличие от этого, при введении в комбинации с адьювантом, уровни были <2 раза выше (см. фиг. 4; и на фиг. 5 результаты для соединения 20). Аналогичным образом, адсорбция на адьювант гидроксид алюминия снижает долю CD4+ Т-клеток, которые также являются CD69+ и долю CD19+ В-клеток, которые также являются CD86+, и указанный эффект наблюдается в селезенке в дренирующих лимфатических узлах. Например, адсорбция уменьшает долю CD86+ В-клеток с -75 до -15%.

Действие на связывание антигенов MenB с гидроксидом алюминия.

Метод ДСН-ПААГ применяли для оценки эффекта связывания соединения 1 с адьювантом гидроксидом алюминия на способность антигенов MenB связываться с адьювантом гидроксидом алюминия. Соединение 1 растворяли в 10 мМ NaOH из расчета конечной концентрации 0,5 мг/мл. Alum и соединение 1 объединяли в весовом отношении 1:6 (соединение 1:Alum) в присутствии гистидина в конечной концентрации 10 мМ. Значение pH доводили до 9,2, и смесь осторожно перемешивали в течение 3 ч при комнатной температуре, обеспечивая проведение реакции. Смесь центрифугировали при 5000×g в течение

ние 10 мин и удаляли супернатант. Осадок (т.е. соединение 1 - модифицированный Alum) ресуспендировали в исходном буфере Alum для получения начальной концентрации Alum. Значение pH доводили до 6,5. Затем модифицированный Alum применяли для приготовления состава с антигенами MenB.

Анализ ДСН-ПААГ супернатанта антигенов MenB, включенных в состав только с адьювантом гидроксидом алюминия (Alum) или с адьювантом гидроксидом алюминия вместе с соединением 1, представлен на фиг. 2. Оцениваемые антигены MenB представляли собой 287-953, 936-741 и 961с, указанные антигены описаны в международном патенте WO2004/032958 и в публикации Giuliani et al. (2006) PNAS USA 103: 10834-9. Полоски, обозначенные "Sn" и TCA" представляют собой анализ супернатантов препаратов после центрифугирования для осаждения адьюванта гидроксида алюминия.

Полоски, обозначенные "Des", представляют собой анализ антигенов, полученных после десорбции из гидроксида алюминия 0,5 М фосфатным буфером. На фиг. 2 показано, что связывание антигенов MenB с гидроксидом алюминия в присутствии соединения 1 происходит также эффективно, как и без соединения 1.

Адсорбцию соединения 16 и соединения 17 на гидроксид алюминия также оценивали с применением препарата гидроксида алюминия, описанного выше для соединения 1. Анализ ВЭЖХ на наличие обоих соединений показал, что после добавления гидроксида алюминия в супернатанте не обнаруживали соединений. Однако соединение 16 и соединение 17 получали вновь после десорбции 0,5 М KH_2PO_4 . Следует отметить, что не требовалось экстракции органическим растворителем ввиду водорастворимости указанных двух соединений. Кроме того, анализ ДСН-ПААГ связывания антигенов в присутствии соединения 16 или соединения 17 осуществляли, как описано выше. В случае обоих соединений все 3 антигена MenB полностью адсорбировались на Alum, модифицированный соединением 16 и на Alum, модифицированный соединением 17.

Антигены MenB тестируют на иммуногенность *in vivo* с помощью теста с сывороточными бактерицидными антителами (SBA). На фиг. 6 представлены бактерицидные титры против штамма NZ98 сыворотки, полученной после иммунизации 5CVMB, в сочетании с (a) только адьювантом гидроксид алюминия, (b) адьювантом гидроксид алюминия + 25 мкг соединения 6, (c) адьювантом гидроксид алюминия + 100 мкг соединения 6, (d) только соединением 6, или (e) адьювантом гидроксид алюминия и везикулами наружной мембраны MenB. Предварительная адсорбция соединения 6 на адьювант гидроксид алюминия дает значительное увеличение титра SBA, и оно является значительно больше, чем можно было бы ожидать, исходя из результатов, наблюдаемых при применении только одного соединения.

Аналогичные эффекты наблюдают с другими агонистами TLR7 изобретения. Например, на фиг. 7 представлены результаты для соединения 20, с применением 5CVMB, включенным в состав (a) без адьюванта, (b) с адьювантом гидроксид алюминия + OMV, (c) с 100 мкг соединения 20, (d) с 25 мкг соединения 20 + адьювант гидроксид алюминия, или (e) с 100 мкг соединения 20 + адьювант гидроксид алюминия. На фиг. 8 представлены результаты для соединения 19 с 5CVMB, включенными в состав (a) без адьюванта, (b) с адьювантом гидроксид алюминия и везикулы, (c) с 100 мкг соединения 19, (d) с 25 мкг соединения 19 (e) с 100 мкг соединения 19 + адьювант гидроксид алюминия, или (f) с 25 мкг соединения 19 + адьювант гидроксид алюминия.

Соединение 20 преадсорбируют на гидроксид алюминия, чтобы изучить охват штаммов сыворотки, получаемой после иммунизации модифицированным 5CVMB, в котором гибридный белок GNA2091/1870 заменен гибридным белком '936-10A-10A', раскрытым в международной патентной заявке, зарегистрированной 27 августа 2010 г., заявляющей приоритет USSN 61/237576 (SEQ ID NO: 126 в заявке). В следующей таблице представлены титры против пяти различных штаммов после введения в состав трех различных полипептидов с (a) адьювантом гидроксид алюминия только, (b) адьювантом гидроксид алюминия + 25 мкг везикул наружной мембраны, (c) адьювантом гидроксид алюминия с 100 мкг соединения 20, (d) адьювантом гидроксид алюминия с 25 мкг соединения 20, (e) адьювантом гидроксид алюминия с 5 мкг соединения 20 или (f) адьювантом гидроксид алюминия + IC31™.

	MC58	NZ98	961-5945	UK355	599
(a)	16384	1024	16384	256	65536
(b)	32768	4096	8192	2048	>65536
(c)	>65536	16384	32768	4096	>65536
(d)	32768	2048	16384	1024	>65536
(e)	>65536	4096	8192	2048	>65536
(f)	>65536	8192	16384	2048	>65536

Таким образом, соединение 20 улучшает охват штаммов по сравнению с применением только одного гидроксида алюминия.

Следует понимать, что примеры и варианты осуществления, описанные здесь, представлены только в иллюстративных целях и, учитывая вышесказанное, различные модификации или изменения, которые будут предложены специалистами в данной области, должны быть включены в пределы сущности и сферы действия данной заявки и объема прилагаемой формулы изобретения. Все публикации, патенты и патентные заявки, упоминаемые в описании, таким образом, включены посредством ссылки во всех смыслах.

Список последовательностей

<110> NOVARTIS AG

<120> ИММУНОГЕННЫЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ МОДУЛЯТОРЫ АКТИВНОСТИ TLR

<130> P055393WO

<140> PCT/IB2010/_____

<141> 2010-09-01

<150> US 61/239,156

<151> 2009-09-02

<160> 8

<170> SeqWin2010 версия 1.0

<210> 1

<211> 248

<212> PRT

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 1

Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
 1 5 10 15

Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser
 20 25 30

Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys
 35 40 45

Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp
 50 55 60

Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln
 65 70 75 80

Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His
 85 90 95

Ser Ala Leu Thr Ala Phe Gln Thr Glu Gln Ile Gln Asp Ser Glu His
 100 105 110

Ser Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala
 115 120 125

Gly Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr
 130 135 140

Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr
 145 150 155 160

Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly Asn Gly Lys Ile Glu His
 165 170 175

Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys
 180 185 190

Pro Asp Gly Lys Arg His Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn
 195 200 205

026401

Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala
 210 215 220
 Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg
 225 230 235 240
 His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
 245
 <210> 2
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Neisseria meningitidis
 <400> 2
 Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
 1 5 10 15
 Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser
 20 25 30
 Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys
 35 40 45
 Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp
 50 55 60
 Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln
 65 70 75 80
 Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His
 85 90 95
 Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys
 100 105 110
 Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly
 115 120 125
 Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr
 130 135 140
 His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr
 145 150 155 160
 Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu
 165 170 175
 Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala
 180 185 190
 Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser
 195 200 205
 Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln
 210 215 220
 Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu
 225 230 235 240
 Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
 245
 <210> 3

026401

<211> 250
 <212> PRT
 <213> *Neisseria meningitidis*

 <400> 3
 Val Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
 1 5 10 15
 Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser
 20 25 30
 Ile Pro Gln Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys
 35 40 45
 Thr Phe Lys Ala Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu
 50 55 60
 Lys Asn Asp Lys Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val
 65 70 75 80
 Asp Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys
 85 90 95
 Gln Asn His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn
 100 105 110
 Pro Asp Lys Thr Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser
 115 120 125
 Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys
 130 135 140
 Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg
 145 150 155 160
 Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile
 165 170 175
 Glu His Leu Lys Thr Leu Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu
 180 185 190
 Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg
 195 200 205
 Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp
 210 215 220
 Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys
 225 230 235 240
 Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
 245 250

<210> 4
 <211> 644
 <212> PRT
 <213> *Neisseria meningitidis*

<400> 4
 Met Ala Ser Pro Asp Val Lys Ser Ala Asp Thr Leu Ser Lys Pro Ala
 1 5 10 15
 Ala Pro Val Val Ser Glu Lys Glu Thr Glu Ala Lys Glu Asp Ala Pro
 20 25 30

026401

Gln Ala Gly Ser Gln Gly Gln Gly Ala Pro Ser Ala Gln Gly Gly Gln
35 40 45

Asp Met Ala Ala Val Ser Glu Glu Asn Thr Gly Asn Gly Gly Ala Ala
50 55 60

Ala Thr Asp Lys Pro Lys Asn Glu Asp Glu Gly Ala Gln Asn Asp Met
65 70 75 80

Pro Gln Asn Ala Ala Asp Thr Asp Ser Leu Thr Pro Asn His Thr Pro
85 90 95

Ala Ser Asn Met Pro Ala Gly Asn Met Glu Asn Gln Ala Pro Asp Ala
100 105 110

Gly Glu Ser Glu Gln Pro Ala Asn Gln Pro Asp Met Ala Asn Thr Ala
115 120 125

Asp Gly Met Gln Gly Asp Asp Pro Ser Ala Gly Gly Glu Asn Ala Gly
130 135 140

Asn Thr Ala Ala Gln Gly Thr Asn Gln Ala Glu Asn Asn Gln Thr Ala
145 150 155 160

Gly Ser Gln Asn Pro Ala Ser Ser Thr Asn Pro Ser Ala Thr Asn Ser
165 170 175

Gly Gly Asp Phe Gly Arg Thr Asn Val Gly Asn Ser Val Val Ile Asp
180 185 190

Gly Pro Ser Gln Asn Ile Thr Leu Thr His Cys Lys Gly Asp Ser Cys
195 200 205

Ser Gly Asn Asn Phe Leu Asp Glu Glu Val Gln Leu Lys Ser Glu Phe
210 215 220

Glu Lys Leu Ser Asp Ala Asp Lys Ile Ser Asn Tyr Lys Lys Asp Gly
225 230 235 240

Lys Asn Asp Gly Lys Asn Asp Lys Phe Val Gly Leu Val Ala Asp Ser
245 250 255

Val Gln Met Lys Gly Ile Asn Gln Tyr Ile Ile Phe Tyr Lys Pro Lys
260 265 270

Pro Thr Ser Phe Ala Arg Phe Arg Arg Ser Ala Arg Ser Arg Arg Ser
275 280 285

Leu Pro Ala Glu Met Pro Leu Ile Pro Val Asn Gln Ala Asp Thr Leu
290 295 300

Ile Val Asp Gly Glu Ala Val Ser Leu Thr Gly His Ser Gly Asn Ile
305 310 315 320

Phe Ala Pro Glu Gly Asn Tyr Arg Tyr Leu Thr Tyr Gly Ala Glu Lys
325 330 335

Leu Pro Gly Gly Ser Tyr Ala Leu Arg Val Gln Gly Glu Pro Ser Lys
340 345 350

Gly Glu Met Leu Ala Gly Thr Ala Val Tyr Asn Gly Glu Val Leu His
355 360 365

026401

Phe His Thr Glu Asn Gly Arg Pro Ser Pro Ser Arg Gly Arg Phe Ala
 370 375 380

Ala Lys Val Asp Phe Gly Ser Lys Ser Val Asp Gly Ile Ile Asp Ser
 385 390 395 400

Gly Asp Gly Leu His Met Gly Thr Gln Lys Phe Lys Ala Ala Ile Asp
 405 410 415

Gly Asn Gly Phe Lys Gly Thr Trp Thr Glu Asn Gly Gly Gly Asp Val
 420 425 430

Ser Gly Lys Phe Tyr Gly Pro Ala Gly Glu Glu Val Ala Gly Lys Tyr
 435 440 445

Ser Tyr Arg Pro Thr Asp Ala Glu Lys Gly Gly Phe Gly Val Phe Ala
 450 455 460

Gly Lys Lys Glu Gln Asp Gly Ser Gly Gly Gly Ala Thr Tyr Lys
 465 470 475 480

Val Asp Glu Tyr His Ala Asn Ala Arg Phe Ala Ile Asp His Phe Asn
 485 490 495

Thr Ser Thr Asn Val Gly Gly Phe Tyr Gly Leu Thr Gly Ser Val Glu
 500 505 510

Phe Asp Gln Ala Lys Arg Asp Gly Lys Ile Asp Ile Thr Ile Pro Val
 515 520 525

Ala Asn Leu Gln Ser Gly Ser Gln His Phe Thr Asp His Leu Lys Ser
 530 535 540

Ala Asp Ile Phe Asp Ala Ala Gln Tyr Pro Asp Ile Arg Phe Val Ser
 545 550 555 560

Thr Lys Phe Asn Phe Asn Gly Lys Lys Leu Val Ser Val Asp Gly Asn
 565 570 575

Leu Thr Met His Gly Lys Thr Ala Pro Val Lys Leu Lys Ala Glu Lys
 580 585 590

Phe Asn Cys Tyr Gln Ser Pro Met Ala Lys Thr Glu Val Cys Gly Gly
 595 600 605

Asp Phe Ser Thr Thr Ile Asp Arg Thr Lys Trp Gly Val Asp Tyr Leu
 610 615 620

Val Asn Val Gly Met Thr Lys Ser Val Arg Ile Asp Ile Gln Ile Glu
 625 630 635 640

Ala Ala Lys Gln

<210> 5
 <211> 434
 <212> PRT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 5
 Met Val Ser Ala Val Ile Gly Ser Ala Ala Val Gly Ala Lys Ser Ala
 1 5 10 15

026401

Val Asp Arg Arg Thr Thr Gly Ala Gln Thr Asp Asp Asn Val Met Ala
20 25 30

Leu Arg Ile Glu Thr Thr Ala Arg Ser Tyr Leu Arg Gln Asn Asn Gln
35 40 45

Thr Lys Gly Tyr Thr Pro Gln Ile Ser Val Val Gly Tyr Asn Arg His
50 55 60

Leu Leu Leu Leu Gly Gln Val Ala Thr Glu Gly Glu Lys Gln Phe Val
65 70 75 80

Gly Gln Ile Ala Arg Ser Glu Gln Ala Ala Glu Gly Val Tyr Asn Tyr
85 90 95

Ile Thr Val Ala Ser Leu Pro Arg Thr Ala Gly Asp Ile Ala Gly Asp
100 105 110

Thr Trp Asn Thr Ser Lys Val Arg Ala Thr Leu Leu Gly Ile Ser Pro
115 120 125

Ala Thr Gln Ala Arg Val Lys Ile Val Thr Tyr Gly Asn Val Thr Tyr
130 135 140

Val Met Gly Ile Leu Thr Pro Glu Glu Gln Ala Gln Ile Thr Gln Lys
145 150 155 160

Val Ser Thr Thr Val Gly Val Gln Lys Val Ile Thr Leu Tyr Gln Asn
165 170 175

Tyr Val Gln Arg Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
180 185 190

Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
195 200 205

Gly Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys
210 215 220

Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp
225 230 235 240

Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
245 250 255

Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser
260 265 270

Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Phe
275 280 285

Gln Thr Glu Gln Ile Gln Asp Ser Glu His Ser Gly Lys Met Val Ala
290 295 300

Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe
305 310 315 320

Asp Lys Leu Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe
325 330 335

Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala
340 345 350

026401

Ala Lys Gln Gly Asn Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu
355 360 365

Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys Pro Asp Gly Lys Arg His
370 375 380

Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser
385 390 395 400

Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
405 410 415

Ala Glu Val Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala
420 425 430

Lys Gln

<210> 6
<211> 327
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 6
Ala Thr Asn Asp Asp Val Lys Lys Ala Ala Thr Val Ala Ile Ala
1 5 10 15

Ala Ala Tyr Asn Asn Gly Gln Glu Ile Asn Gly Phe Lys Ala Gly Glu
20 25 30

Thr Ile Tyr Asp Ile Asp Glu Asp Gly Thr Ile Thr Lys Lys Asp Ala
35 40 45

Thr Ala Ala Asp Val Glu Ala Asp Asp Phe Lys Gly Leu Gly Leu Lys
50 55 60

Lys Val Val Thr Asn Leu Thr Lys Thr Val Asn Glu Asn Lys Gln Asn
65 70 75 80

Val Asp Ala Lys Val Lys Ala Ala Glu Ser Glu Ile Glu Lys Leu Thr
85 90 95

Thr Lys Leu Ala Asp Thr Asp Ala Ala Leu Ala Asp Thr Asp Ala Ala
100 105 110

Leu Asp Ala Thr Thr Asn Ala Leu Asn Lys Leu Gly Glu Asn Ile Thr
115 120 125

Thr Phe Ala Glu Glu Thr Lys Thr Asn Ile Val Lys Ile Asp Glu Lys
130 135 140

Leu Glu Ala Val Ala Asp Thr Val Asp Lys His Ala Glu Ala Phe Asn
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asp Ser Leu Asp Glu Thr Asn Thr Lys Ala Asp Glu Ala
165 170 175

Val Lys Thr Ala Asn Glu Ala Lys Gln Thr Ala Glu Glu Thr Lys Gln
180 185 190

Asn Val Asp Ala Lys Val Lys Ala Ala Glu Thr Ala Ala Gly Lys Ala
195 200 205

Glu Ala Ala Ala Gly Thr Ala Asn Thr Ala Ala Asp Lys Ala Glu Ala
 210 215 220

Val Ala Ala Lys Val Thr Asp Ile Lys Ala Asp Ile Ala Thr Asn Lys
 225 230 235 240

Asp Asn Ile Ala Lys Lys Ala Asn Ser Ala Asp Val Tyr Thr Arg Glu
 245 250 255

Glu Ser Asp Ser Lys Phe Val Arg Ile Asp Gly Leu Asn Ala Thr Thr
 260 265 270

Glu Lys Leu Asp Thr Arg Leu Ala Ser Ala Glu Lys Ser Ile Ala Asp
 275 280 285

His Asp Thr Arg Leu Asn Gly Leu Asp Lys Thr Val Ser Asp Leu Arg
 290 295 300

Lys Glu Thr Arg Gln Gly Leu Ala Glu Gln Ala Ala Leu Ser Gly Leu
 305 310 315 320

Phe Gln Pro Tyr Asn Val Gly
 325

<210> 7
 <211> 26
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Иммуностимуляторный олигонуклеотид

<220>
 <221> модифицированное_основание
 <222> 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25
 <223> 'n' is '1' (Inosine)

<400> 7
 ncnncnncnnc ncnncnncnnc ncnncnnc 26

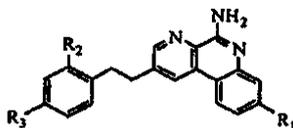
<210> 8
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Поликатионный олигопептид

<400> 8
 Lys Leu Lys Leu Leu Leu Leu Lys Leu Lys
 1 5 10

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Иммуногенная композиция, содержащая (i) соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, (ii) антиген и (iii) адъювант, содержащий алюминий, в которой адъювант, содержащий алюминий, выбран из гидроксида алюминия, оксигидроксида алюминия и гидроксифосфата алюминия и соединение формулы (I) представляет собой агонист TLR7



Формула (I)

где R^1 представляет собой H, C_1 - C_6 -алкил, $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ или $-OL^2R^6$;
 L^1 представляет собой $-C(O)-$ или $-O-$;
 L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен, C_2 - C_6 -алкенилен, фенилен или $((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$, где C_1 - C_6 -алкилен и C_2 - C_6 -алкенилен L^2 необязательно замещены 1-4 фторгруппами;
каждый L^3 независимо выбран из C_1 - C_6 -алкилена и $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$, где C_1 - C_6 -алкилен L^3 обязательно замещен 1-4 фторгруппами;
 L^4 представляет собой фенилен;
 R^2 представляет собой H или C_1 - C_6 -алкил;
 R^3 выбран из C_1 - C_4 -алкила, $-L^3R^5$, $-L^1R^5$, $-L^3R^7$, $-L^3L^4L^3R^7$, $-L^3L^4R^5$, $-L^3L^4L^3R^5$, $-OL^3R^5$, $-OL^3R^7$, $-OL^3L^4R^7$, $-OL^3L^4L^3R^7$, $-OR^8$, $-OL^3L^4R^5$, $-OL^3L^4L^3R^5$ и $-C(R^5)_2OH$;
каждый R^4 независимо выбран из H и фтора;

R^5 представляет собой $-P(O)(OR^9)_2$,
 R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ или $-C(O)OR^{10}$;
 R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$;
 R^8 представляет собой H или C_1 - C_4 -алкил;
каждый R^9 независимо выбран из H и C_1 - C_6 -алкила;
 R^{10} представляет собой H или C_1 - C_4 -алкил;
каждое p независимо выбрано из 1, 2, 3, 4, 5 и 6;
q представляет собой 1, 2, 3 или 4;
при условии, что, когда R^3 представляет собой C_1 - C_4 -алкил или $-OR^8$, R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ или $-OL^2R^6$, где R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$.

2. Иммуногенная композиция по п. 1, в которой R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил;

R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил;

R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$;

R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$;

R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$ и

L^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен.

3. Иммуногенная композиция по п. 1,

в которой R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил;

R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил;

R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$;

R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$;

R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$;

L^3 представляет собой $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$;

R^4 представляет собой H;

q представляет собой 1 или 2 и

r представляет собой 2.

4. Иммуногенная композиция по п. 1,

в которой R^1 представляет собой $-L^2R^6$;

R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил;

R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$;

R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$;

R^6 представляет собой $-C(O)OH$;

R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$;

L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен и

L^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен.

5. Иммуногенная композиция по п. 1,

в которой R^1 представляет собой $-L^2R^6$;

R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил;

R^3 представляет собой $-OL^3R^5$ или $-OL^3R^7$;

R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$;

R^6 представляет собой $-C(O)OH$;

R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$;

L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен;

L^3 представляет собой $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p$;

R^4 представляет собой H;

q представляет собой 1 или 2 и

r представляет собой 2.

6. Иммуногенная композиция по п. 1,

в которой R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^2R^5$ или $-L^1R^6$;

R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил;

R^3 представляет собой $-OR^8$;

R^8 представляет собой C_1 - C_6 -алкил;

R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$;

R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$;

L^1 представляет собой $-C(O)-$ и

L^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен или C_2 - C_6 -алкенилен, где каждый необязательно замещен 1-4 фторгруппами.

7. Иммуногенная композиция по п. 1,

в которой R^1 представляет собой C_1 - C_6 -алкил;

R^2 представляет собой C_1 - C_6 -алкил;

R^3 представляет собой $-OL^3L^4R^5$, $-OL^3L^4L^3R^5$ или $-OL^3L^4L^3R^7$;

- R^5 представляет собой $-P(O)(OH)_2$;
 R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OH)_2$;
каждый L^3 независимо представляет собой C_1-C_6 -алкилен и
 L^4 представляет собой фенилен.
8. Иммуногенная композиция по п. 1,
в которой R^1 представляет собой C_1-C_6 -алкил;
 R^2 представляет собой C_1-C_6 -алкил;
 R^3 представляет собой $-C(R^5)_2OH$ или $-L^1R^5$;
 R^b представляет собой $-P(O)(OH)_2$ и
 L^1 представляет собой $-C(O)-$ или $-O-$.
9. Иммуногенная композиция по п. 1 или 6, в которой R^8 представляет собой метил.
10. Иммуногенная композиция по любому из пп. 1-3 или 7-9, в которой R^1 представляет собой метил.
11. Иммуногенная композиция по любому из пп. 1-10, в которой R^2 представляет собой метил.
12. Иммуногенная композиция по п. 1, в которой соединение выбрано из
- 4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенокси)-1,1-дифторбутилфосфоновой кислоты;
3-(5-амино-2-(4-(4,4-дифтор-4-фосфонобутоксид)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты;
3-(5-амино-2-(4-(2-(3,3-дифтор-3-фосфонопропокси)этоксид)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты;
3-(5-амино-2-(2-метил-4-(2-(2-(2-фосфоноэтоксид)этоксид)этоксид)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты;
4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенилдигидрофосфата;
(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфеноксид)метилфосфоновой кислоты;
5-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфеноксид)-1,1-дифторпентилфосфоновой кислоты;
3-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфеноксид)этоксид)-1,1-дифторпропилфосфоновой кислоты;
2-(4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфеноксид)метил)фенил)-1,1-дифторэтилфосфоновой кислоты;
2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1,1-дифтор-2-оксоэтилфосфоновой кислоты;
(Е)-2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)винилфосфоновой кислоты;
2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)этилфосфоновой кислоты;
(Е)-2-(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)-1-фторвинилфосфоновой кислоты;
3-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфеноксид)метил)фенилфосфоновой кислоты;
5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-карбонилфосфоновой кислоты;
3-(5-амино-2-(2-метил-4-(3-фосфонопропоксид)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты;
(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфенил(гидроксид)метилендифосфоновой кислоты;
3-(5-амино-2-(4-(2-(2-(3,3-дифтор-3-фосфонопропоксид)этоксид)этоксид)-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты;
(5-амино-2-(4-метокси-2-метилфенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)(гидроксид)метилендифосфоновой кислоты;
3-(5-амино-2-(2-метил-4-(2-(2-фосфоноэтоксид)этоксид)фенэтил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил)пропановой кислоты;
2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфеноксид)этилфосфоновой кислоты;
6-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфеноксид)гексилфосфоновой кислоты;
6-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфеноксид)-1,1-дифторгексилфосфоновой кислоты;
4-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфеноксид)метил)бензилфосфоновой кислоты;
2-(2-(2-(4-(2-(5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил)этил)-3-метилфеноксид)этоксид)этоксид)этилфосфоновой кислоты;

3-[5-амино-2-(2-{4-[2-(3,3-дифтор-3-фосфопропокси)этокси]-2-метилфенил}этил)бензо[f][1,7]нафтиридин-8-ил]пропановой кислоты;
 {5-[4-(2-{5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил}этил)-3-метилфеноксипентил}фосфоновой кислоты и
 {4-[4-(2-{5-амино-8-метилбензо[f][1,7]нафтиридин-2-ил}этил)-3-метилфеноксипентил}фосфоновой кислоты.

13. Иммуногенная композиция по любому из пп.1-12, в которой соединение присутствует в количестве, достаточном, чтобы получить при введении иммуностимулирующий эффект.

14. Иммуногенная композиция по любому из пп.1-12, в которой соединение присутствует в количестве, эффективном для увеличения иммунного ответа на антиген у субъекта, которому вводят композицию.

15. Иммуногенная композиция по любому из пп.1-14, в которой антиген представляет собой бактериальный антиген.

16. Иммуногенная композиция по п.15, в которой бактериальный антиген является антигеном *Neisseria meningitidis*.

17. Иммуногенная композиция по п.16, в которой антиген является сахаридом.

18. Иммуногенная композиция по п.17, в которой сахарид является сахаридом *Neisseria meningitidis* серогруппы A, W135, Y или C.

19. Иммуногенная композиция по п.16, в которой антиген является полипептидом.

20. Иммуногенная композиция по п.19, в которой полипептид имеет по меньшей мере 85% идентичности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-6.

21. Иммуногенная композиция по любому из пп.1-14, в которой антиген является вирусным антигеном.

22. Иммуногенная композиция по п.21, в которой вирусный антиген является антигеном респираторного синцитиального вируса (RSV).

23. Иммуногенная композиция по п.22, в которой антиген выбран из группы, состоящей из F, G, M и их гибридных белков.

24. Иммуногенная композиция по любому из пп.1-23, содержащая, кроме того, дополнительный адъювант.

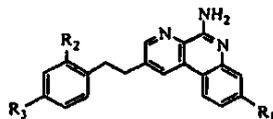
25. Иммуногенная композиция по любому из пп.1-24, в которой соединение присутствует в терапевтически эффективном количестве и связано с адъювантом, содержащим алюминий.

26. Иммуногенная композиция по любому из пп.1-24, в которой адъювант, содержащий алюминий, представляет собой оксигидроксид алюминия и гидроксид алюминия.

27. Иммуногенная композиция по любому из пп.1-26, где иммуногенная композиция является твердым веществом.

28. Иммуногенная композиция по п.27, где иммуногенная композиция является лиофилизированным сухим веществом.

29. Способ увеличения эффективности иммуногенной композиции, включающий добавление эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, где иммуногенная композиция содержит адъювант, содержащий алюминий, и антиген, где адъювант, содержащий алюминий, выбран из гидроксида алюминия, оксигидроксида алюминия и гидроксифосфата алюминия, соединение формулы (I) является агонистом TLR7



Формула (I)

в которой R¹ представляет собой H, C₁-C₆-алкил, -C(R⁵)₂OH, -L¹R⁵, -L¹R⁶, -L²R⁵, -L²R⁶, -OL²R⁵ или -OL²R⁶;

L¹ представляет собой -C(O)- или -O-;

L² представляет собой C₁-C₆-алкилен, C₂-C₆-алкенилен, фенилен или ((CR⁴R⁴)_pO)_q(CH₂)_p, где C₁-C₆-алкилен и C₂-C₆-алкенилен L² необязательно замещены 1-4 фторгруппами;

каждый L³ независимо выбран из C₁-C₆-алкилена и -((CR⁴R⁴)_pO)_q(CH₂)_p, где C₁-C₆-алкилен L³ необязательно замещен 1-4 фторгруппами;

L⁴ представляет собой фенилен;

R² представляет собой H или C₁-C₆-алкил;

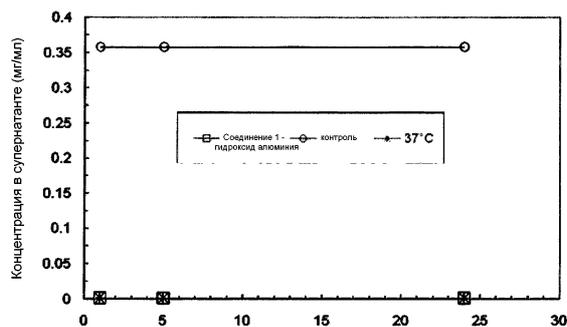
R³ выбран из C₁-C₄-алкила, -L³R⁵, -L¹R⁵, -L³R⁷, -L³L⁴L³R⁷, -L³L⁴R⁵, -L³L⁴L³R⁵, -OL³R⁵, -OL³R⁷, -OL³L⁴R⁷, -OL³L⁴L³R⁷, -OR⁸, -OL³L⁴R⁵, -OL³L⁴L³R⁵ и -C(R⁵)₂OH;

каждый R⁴ независимо выбран из H и фтора;

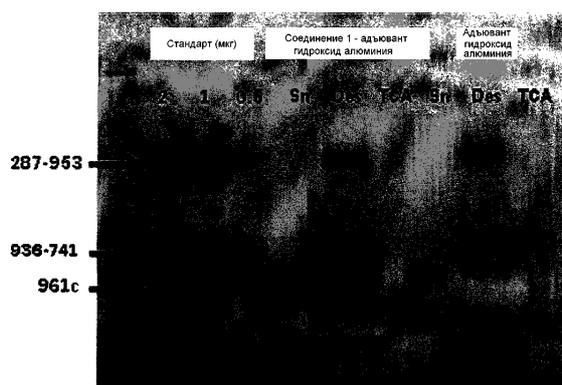
R⁵ представляет собой -P(O)(OR⁹)₂;

R⁶ представляет собой -CF₂P(O)(OR⁹)₂ или -C(O)OR¹⁰;

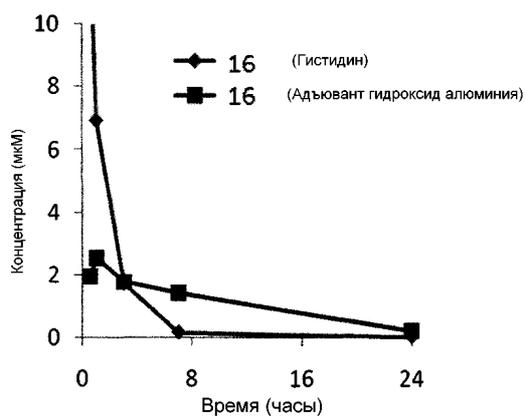
R^7 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$;
 R^8 представляет собой H или C_1-C_4 -алкил;
каждый R^9 независимо выбран из H и C_1-C_6 -алкила;
 R^{10} представляет собой H или C_1-C_4 -алкил;
каждое p независимо выбрано из 1, 2, 3, 4, 5 и 6;
 q представляет собой 1, 2, 3 или 4;
при условии, что, когда R^3 представляет собой C_1-C_4 -алкил или $-OR^8$, R^1 представляет собой $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ или $-OL^2R^6$, где R^6 представляет собой $-CF_2P(O)(OR^9)_2$.
30. Применение композиции по любому из пп.1-28 для получения лекарственного средства для повышения иммунного ответа у пациента.



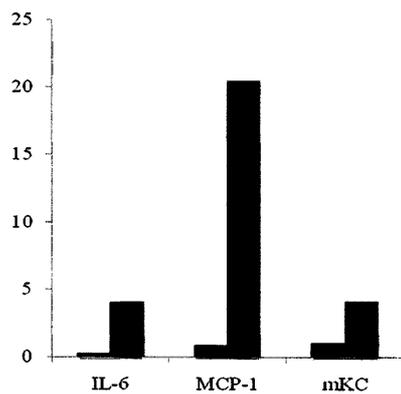
Фиг. 1



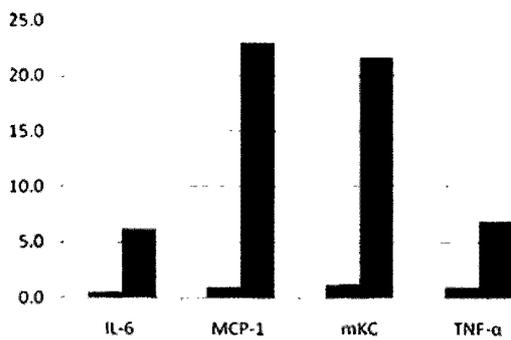
Фиг. 2



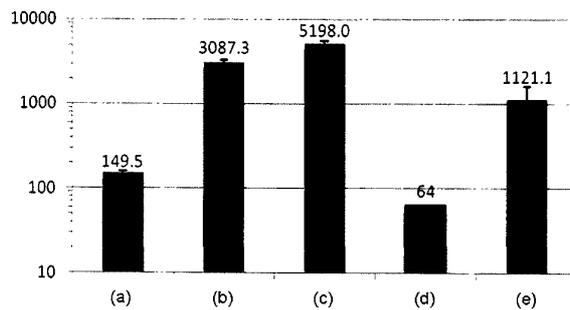
Фиг. 3



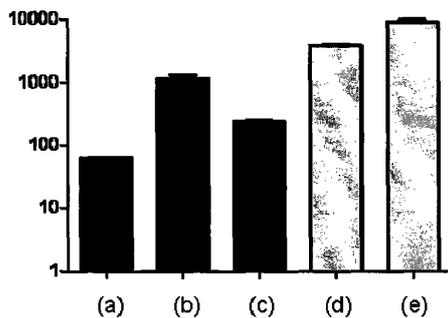
Фиг. 4



Фиг. 5

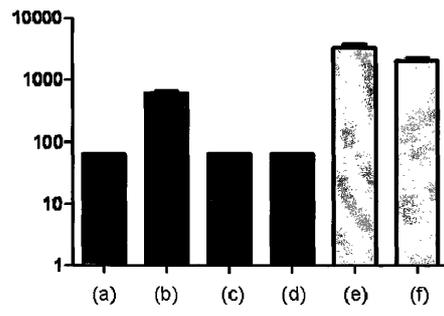


Фиг. 6



Фиг. 7

026401



Фиг. 8

