



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 39/395 (2020.05); A61K 2121/00 (2020.05); A61P 35/00 (2020.05)

(21)(22) Заявка: 2017102926, 15.07.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
15.07.2015Дата регистрации:
06.10.2020

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
15.07.2014 US 62/024,988

(43) Дата публикации заявки: 15.08.2018 Бюл. № 23

(45) Опубликовано: 06.10.2020 Бюл. № 28

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 15.02.2017(86) Заявка РСТ:
US 2015/040582 (15.07.2015)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2016/011160 (21.01.2016)Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр. 3, ООО
"Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(72) Автор(ы):

ДЖУНТИЛА Мелисса (US)

(73) Патентообладатель(и):

ДЖЕНЕНТЕК, ИНК. (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: MENZIES AM et al. Recent advances
in melanoma systemic therapy. BRAF inhibitors,
CTLA4 antibodies and beyond. Eur J Cancer.,
2013, 49(15), p.3229-41. WO 2013019906 A1,
07.02.2013. LIANG X et al. The activation of
MAPK in melanoma cells resistant to BRAF
inhibition promotes PD-L1 expression that is
reversible by MEK and PI3K inhibition. Clin
(см. прод.)

R U 2 7 3 3 7 3 5 C 2

(54) КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА С ПРИМЕНЕНИЕМ АНТАГОНИСТОВ,
СВЯЗЫВАЮЩИХСЯ С КОМПОНЕНТОМ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ PD-1, И ИНГИБИТОРОВ МЕК

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, а именно к онкологии, и предназначено для лечения или замедления прогрессирования меланомы, устойчивой к антагонисту B-raf у индивидуума. Для лечения или замедления прогрессирования меланомы, устойчивой к антагонисту B-raf у индивидуума, индивидууму вводят эффективное количество связывающего антагониста PD-L1, и ингибитора MEK, при этом указанного индивидуума ранее лечили от меланомы антагонистом B-raf. Указанным

антагонистом B-raf является вемурафениб, указанным PD-L1 агонистом является анти-PD-L1 антитело и указанным ингибитором MEK является GDC-0973 или его фармацевтически приемлемая соль или сольват. Использование изобретения позволяет повысить эффективность лечения или замедления прогрессирования меланомы, устойчивой к вемурафенибу, у индивидуума, которого ранее лечили от меланомы указанным антагонистом B-raf. 18 з.п. ф-лы, 1 табл., 1 пр., 2 ил.

(56) (продолжение):

Cancer Res., 2013, 19(3), p.598-609. VELLA LJ et al. The kinase inhibitors dabrafenib and trametinib affect isolated immune cell populations. Oncoimmunology, 03.07.2014, 3(7), e946367.

R U 2 7 3 3 7 3 5 C 2

R U 2 7 3 3 7 3 5 C 2



(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61K 39/395 (2020.05); A61K 2121/00 (2020.05); A61P 35/00 (2020.05)

(21)(22) Application: 2017102926, 15.07.2015

(24) Effective date for property rights:
15.07.2015Registration date:
06.10.2020

Priority:

(30) Convention priority:
15.07.2014 US 62/024,988

(43) Application published: 15.08.2018 Bull. № 23

(45) Date of publication: 06.10.2020 Bull. № 28

(85) Commencement of national phase: 15.02.2017

(86) PCT application:
US 2015/040582 (15.07.2015)(87) PCT publication:
WO 2016/011160 (21.01.2016)Mail address:
129090, Moskva, ul. B. Spasskaya, 25, str. 3, OOO
"Yuridicheskaya firma Gorodisskij i Partnery"(72) Inventor(s):
JUNTTILA, Melissa (US)(73) Proprietor(s):
GENENTECH, INC. (US)C 2
C 5
C 3
C 7
C 3
C 7
C 2
R UR U
2 7 3 3 7 3 5
C 2

(54) COMPOSITIONS FOR TREATING CANCER USING ANTAGONISTS WHICH BIND TO THE PD-1 SIGNALING PATHWAY COMPONENT AND MEK INHIBITORS

(57) Abstract:

FIELD: medicine; oncology.

SUBSTANCE: invention is intended for treating or slowing progression of melanoma resistant to individual antagonist B-raf. For treating or slowing progression of melanoma, resistant to B-raf antagonist in individual, effective amount of binding antagonist PD-L1, and MEK inhibitor is introduced to individual, wherein said individual previously treated with melanoma by B-raf antagonist. Said B-raf antagonist is vemurafenib, said

PD-L1 agonist is an anti-PD-L1 antibody and said MEK inhibitor is GDC-0973 or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof.

EFFECT: use of the invention provides higher clinical effectiveness or slower progression of melanoma resistant to vemurafenib, in an individual previously treated for melanoma with said B-raf antagonist.

19 cl, 1 tbl, 1 ex, 2 dwg

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Данная заявка заявляет приоритет по предварительной заявке США № 62/024988, поданной 15 июля 2014 года, содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

**5 ПРЕДСТАВЛЕНИЕ ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ТЕКСТОВОМ
ФАЙЛЕ В ФОРМАТЕ ASCII**

[0002] Содержание данного представления в текстовом файле в формате ASCII включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме:

машиночитаемый вид (МЧВ) перечня последовательностей (имя файла:

10 146392027540SeqList.txt, дата записи: 8 июля 2015 года, размер: 22 КБ).

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Обеспечение двух различных сигналов Т-клеткам является широко распространенной моделью активации лимфоцитов у покоящихся Т-лимфоцитов антигенпрезентирующими клетками (АПК). Lafferty et al., Aust. J. Exp. Biol. Med. ScL 53: 27-42 (1975). Данная модель дополнительно предусматривает распознавание своего и

чужого, и иммунную толерантность. Bretscher et al., Science 169: 1042-1049 (1970); Bretscher, P.A., P.N.A.S. USA 96: 185-190 (1999); Jenkins et al., J. Exp. Med. 165: 302-319 (1987). Первичный сигнал или антигенспецифический сигнал трансдуцируется Т-клеточным рецептором (ТКР) после распознавания чужеродного антигена пептида,

20 представленного в тесной связи с главным комплексом гистосовместимости (ГКГС). Второй или костимулирующий сигнал поступает на Т-клетки с помощью костимулирующих молекул, экспрессируемых на антигенпрезентирующих клетках (АПК), и индуцирует Т-клетки, что способствует клonalной экспансии, секреции цитокинов и эффекторной функции. Lenschow et al., Ann. Rev. Immunol. 14:233 (1996).

25 При отсутствии костимуляции Т-клетки могут стать невосприимчивыми к антигенней стимуляции, не оказывая эффективный иммунный ответ, и в дальнейшем могут привести к истощению или к толерантности к чужеродным антигенам.

[0004] В двухсигнальной модели Т-клетки получают как положительные, так и отрицательные вторичные костимулирующие сигналы. Регулирование таких 30 положительных и отрицательных сигналов имеет решающее значение для максимального повышения защитных иммунных реакций хозяина, сохраняя при этом иммунную толерантность и предотвращая аутоиммунные реакции. Отрицательные вторичные сигналы кажутся необходимыми для индукции Т-клеточной толерантности, в то время как позитивные сигналы способствуют активации Т-клеток. В то время как простая

35 двухсигнальная модель по-прежнему обеспечивает корректное объяснение для наивных лимфоцитов, иммунный ответ хозяина представляет собой динамический процесс, а костимулирующие сигналы также могут обеспечиваться Т-клетками, «обученными» антигенами. Механизм костимуляции имеет терапевтический интерес, так как показано, что манипулирование костимулирующими сигналами обеспечивает средства или

40 усиливает, или прекращает клеточный иммунный ответ. Недавно было обнаружено, что Т-клеточная дисфункция или анергия возникает одновременно с индуцированной и устойчивой экспрессией ингибирующего рецептора, полипептида программируемой смерти 1 (PD-1). В результате терапевтическое нацеливание PD-1 и других молекул, которые передают сигналы посредством взаимодействия с PD-1, такие как лиганд 1 45 белка программируемой смерти (PD-L1) и лиганд 2 белка программируемой смерти (PD-L2) представляет собой область повышенного интереса.

[0005] PD-L1 сверхэкспрессируется при многих видах рака и часто связан с плохим прогнозом (Okazaki T et al., Intern. Immun. 2007 19(7):813) (Thompson RH et al., Cancer Res

2006, 66(7):3381). Интересно отметить, что большинство Т-лимфоцитов, проникающих в опухолевые ткани, преимущественно экспрессируют PD-1, в отличие от Т-лимфоцитов в нормальных тканях и Т-лимфоцитов периферической крови, что указывает на то, что повышение экспрессии PD-1 в опухолево-реактивных Т-клетках может привести к

5 нарушению противоопухолевых иммунных ответов (Blood 2009 114(8):1537). Это может быть связано с использованием сигнального PD-L1, опосредованного опухолевыми клетками, экспрессирующими PD-L1, взаимодействующие с PD-1-экспрессирующими Т-клетками, что приводит к ослаблению активации Т-клеток и ускользанию от иммунологического надзора (Sharpe et al., Nat Rev 2002) (Keir ME et al., 2008 Annu. Rev. 10 Immunol. 26:677). Таким образом, ингибиование PD-L1/PD-1 взаимодействия может усиливать CD8+Т-клеточно-опосредованный лизис опухолей.

[0006] Ингибиование сигнального пути PD-1 напрямую через его лиганды (например, PD-L1, PD-L2) было предложено в качестве средства для усиления Т-клеточного иммунитета для лечения рака (например, невосприимчивость к опухоли). К тому же, 15 подобные усиления Т-клеточного иммунитета наблюдали при ингибиции связывания PD-L1 с партнером по связыванию B7-1. Кроме того, комбинируя ингибицию сигнального пути PD-1 с другими сигнальными путями (например, сигнальный путь MAPK, «МЕК»), которые deregулированы в опухолевых клетках, можно дополнительно повысить эффективность лечения. Тем не менее оптимальное терапевтическое 20 воздействие будет комбинировать блокаду взаимодействия рецептор/лиганд PD-1 с агентом, который непосредственно ингибирует рост опухолей, возможно, дополнительно включая уникальные иммуностимулирующие свойства, не предусмотренные только блокадой PD-1. Сохраняется потребность в такой оптимальной терапии для лечения, стабилизации, профилактики и/или замедления развития различных видов рака.

25 [0007] Все ссылки, публикации и патентные заявки, раскрытые в данном документе, включены в настоящий документ путем ссылки во всей их полноте.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0008] В настоящем документе представлены способы лечения или замедления 30 прогрессирования рака у индивидуума, включающие введение индивидууму эффективного количества антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора МЕК, причем индивидуум страдает или подвержен риску развития рака, который устойчив к антагонисту B-raf. В некоторых вариантах реализации изобретения способ дополнительно включает постановку диагноза индивидууму как страдающему раком, который устойчив к антагонисту B-raf, при этом постановка 35 диагноза проводится перед введением эффективного количества антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора МЕК. В некоторых вариантах реализации изобретения способ дополнительно включает выбор индивидуума для лечения, основанный на индивидууме, страдающем раком, который устойчив к антагонисту B-raf, или оценку риска развития рака, который устойчив к антагонисту 40 B-raf, у индивидуума, отличающийся тем, что выбор происходит перед введением эффективного количества антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора МЕК. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум ранее не проходил лечение антагонистом B-raf. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум ранее проходил лечение антагонистом B-raf.

45 [0009] В другом аспекте в данном документе предложены способы лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума, включающие (а) постановку диагноза индивидууму как страдающему раком, который устойчив к антагонисту B-raf; и (б) введение индивидууму эффективного количества антагониста, связывающегося с

компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора MEK, отличающиеся тем, что введение производят после диагностирования личности. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум ранее не проходил лечение антагонистом B-raf. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум ранее проходил лечение антагонистом B-raf.

[0010] В другом аспекте в данном документе предложены способы лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума, включающие (а) выбор индивидуума для лечения, основанный на индивидууме, страдающем раком, который устойчив к антагонисту B-raf, или оценку риска развития рака, который устойчив к антагонисту

10 B-raf, у индивидуума, и (б) введение индивидууму эффективного количества антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора MEK, отличающиеся тем, что введение производят после выбора индивидуума. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум ранее не проходил лечение антагонистом B-raf. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум ранее проходил

15 лечение антагонистом B-raf.

[0011] В другом аспекте в данном документе предложены способы лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума, включающие введение индивидууму эффективного количества антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора MEK, отличающиеся тем, что индивидуум ранее проходил

20 лечение антагонистом B-raf против рака.

[0012] В некоторых вариантах реализации изобретения рак у индивидуума прогрессировал в течение 1 месяца, 6 месяцев, 1 года или 5 лет после прохождения курса лечения антагонистом B-raf. В некоторых вариантах реализации изобретения антагонист B-raf представляет собой низкомолекулярный ингибитор, антитело, пептид,

25 пептидомиметик, аптамер или полинуклеотид. В некоторых вариантах реализации изобретения антагонист B-raf представляет собой дабрафениб, vemuraфениб, GSK 2118436, RAF265, XL281, ARQ736, BAY73-4506, сорафениб, PLX4720, PLX-3603, GSK2118436, GDC-0879, или N-(3-(5-(4-хлорфенил)-1Н-пирроло[2,3-*b*]пиридин-3-карбонил)-2,4-дифторфенил) пропан-1-сульфонамид. В некоторых вариантах реализации

30 изобретения антагонист B-raf представляет собой селективный B-raf антагонист B-raf V600. В некоторых вариантах реализации изобретения селективный B-raf антагонист B-raf V600 представляет собой селективный антагонист B-raf V600E. В некоторых вариантах реализации изобретения селективный B-raf антагонист B-raf V600 представляет собой селективный антагонист B-raf V600E, B-raf V600K, и/или V600D. В некоторых

35 вариантах реализации изобретения селективный B-raf антагонист B-raf V600 представляет собой селективный антагонист B-raf V600R.

[0013] В некоторых вариантах реализации изобретения рак содержит мутацию BRAF V600E, BRAF дикого типа, KRAS дикого типа или активирующую мутацию KRAS. В некоторых вариантах реализации изобретения лечение приводит к устойчивому ответу

40 индивидуума после прекращения лечения. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум имеет колоректальный рак, меланому, рак легкого, рак яичника, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, гемобластоз, рак мочевого пузыря и/или почечно-клеточную карциному. В некоторых вариантах реализации изобретения рак является метастатическим.

45 [0014] В некоторых вариантах реализации изобретения антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, выбран из группы, состоящей из PD-1-связывающего антагониста, PD-L1-связывающего антагониста и PD-L2-связывающего антагониста. В некоторых вариантах реализации изобретения антагонист,

связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, представляет собой PD-1-связывающий антагонист. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-1-связывающий антагонист ингибитирует связывание PD-1 с его лигандом-партнером по связыванию. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-1-связывающий антагонист ингибитирует связывание PD-1 с PD-L1, PD-1 с PD-L2, или PD-1 как с PD-L1, так и с PD-L2. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-1-связывающий антагонист представляет собой антитело. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-1-связывающий антагонист представляет собой MDX-1106, Merck 3745, CT-011, MEDI-0680, PDR001, REGN2810, BGB-108, BGB-A317 или AMP-224. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-1-связывающий антагонист представляет собой ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб, MEDI-0680, PDR001, REGN2810, BGB-108, BGB-A317 или AMP-224. В некоторых вариантах реализации изобретения антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, представляет собой PD-L1-связывающий антагонист. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-L1-связывающий антагонист ингибитирует связывание PD-L1 с PD-1, PD-L1 с B7-1 или PD-L1 как с PD-1, так и с B7-1. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-L1-связывающий антагонист представляет собой анти-PD-L1 антитело. В некоторых вариантах реализации изобретения анти-PD-L1 антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах реализации изобретения анти-PD-L1 антитело представляет собой фрагмент антитела, выбранный из группы, состоящей из фрагментов Fab, Fab'-SH, Fv, scFv и (Fab')2. В некоторых вариантах реализации изобретения анти-PD-L1 антитело представляет собой гуманизированное антитело или человеческое антитело. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-L1-связывающий антагонист выбран из группы, состоящей из: YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI4736, MDX-1105 и MSB0010718C. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-L1-связывающий антагонист выбран из группы, состоящей из: YW243.55.S70, атезолизумаба, дурвалумаба, MDX-1105 и авелумаба. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность HVR-H1 из SEQ ID NO: 15, последовательность HVR-H2 из SEQ ID NO: 16, и последовательность HVR-H3 из SEQ ID NO: 3; и легкую цепь, содержащую последовательность HVR-L1 из SEQ ID NO: 17, последовательность HVR-L2 из SEQ ID NO: 18, и последовательность HVR-L3 из SEQ ID NO: 19. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело содержит вариабельный участок тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24 или 28, и вариабельный участок легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах реализации изобретения антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, представляет собой PD-L2-связывающий антагонист. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-L2-связывающий антагонист представляет собой антитело. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-L2-связывающий антагонист представляет собой иммуноадгезин. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK представляет собой конкурентный ингибитор MEK. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK является более селективным в отношении активирующей мутации KRAS. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK представляет собой аллостерический ингибитор MEK. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK является более селективным в отношении активирующей мутации BRAF. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK представляет собой соединение формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII), или его фармацевтически

приемлемую соль, или сольват. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK выбран из группы, состоящей из G02442104, G-38963, G02443714, G00039805 и GDC-0973 или его фармацевтически приемлемой соли, или сольвата. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK представляет собой

5 G02443714, G02442104 или G00039805.

[0015] В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK вводят постоянно. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK вводят периодически. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK вводят перед антагонистом, связывающимся с компонентом сигнального пути PD-1. В

10 некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK вводят одновременно с антагонистом, связывающимся с компонентом сигнального пути PD-1. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK вводят после антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1. В некоторых вариантах

15 реализации изобретения антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, и/или ингибитор MEK вводят внутривенно, внутримышечно, подкожно, местно, перорально, трансдермально, внутрибрюшинно, интраорбитально, путем имплантации, путем ингаляции, интратекально, интравентрикулярно, или интраназально.

[0016] В другом аспекте в данном документе предложены наборы, содержащие антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, и листок-вкладыш

20 в упаковке, содержащий инструкции по применению антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, в комбинации с ингибитором MEK для лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума, причем индивидуум страдает раком или подвержен риску развития рака, который устойчив к антагонисту B-raf. В другом аспекте в данном документе предложены наборы, содержащие антагонист,

25 связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитор MEK, и листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора MEK для лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума, причем индивидуум страдает раком или подвержен риску развития рака, который устойчив к антагонисту B-raf. В

30 другом аспекте в данном документе предложены наборы, содержащие ингибитор MEK и листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению ингибитора MEK в комбинации с антагонистом, связывающимся с компонентом сигнального пути PD-1, для лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума, причем индивидуум страдает раком или подвержен риску развития рака, который устойчив к

35 антагонисту B-raf. В другом аспекте в данном документе предложены наборы, содержащие антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, и листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, в комбинации с ингибитором MEK для лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума, причем

40 индивидуум ранее проходил лечение антагонистом B-raf против рака. В другом аспекте в данном документе предложены наборы, содержащие антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитор MEK и листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитор MEK для лечения или замедления прогрессирования

45 рака у индивидуума, причем индивидуум ранее проходил лечение антагонистом B-raf против рака. В другом аспекте в данном документе предложены наборы, содержащие ингибитор MEK и листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению ингибитора MEK в комбинации с антагонистом, связывающимся с компонентом

сигнального пути PD-1, для лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума, причем индивидуум ранее проходил лечение антагонистом B-raf против рака.

[0017] В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум представляет собой человека.

[0018] Следует понимать, что одно, несколько или все свойства различных вариантов реализации изобретения, описанные в данном документе, могут быть объединены с образованием других вариантов реализации настоящего изобретения. Данные и другие 10 аспекты настоящего изобретения станут очевидными для специалиста в данной области техники. Данные и другие варианты реализации настоящего изобретения далее описаны подробным описанием сущности изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0019] На фиг. 1 показано возобновление роста опухоли после обработки анти-PDL1, ингибитором MEK, или обоими. На графике показано процентное изменение объема 15 опухоли с течением времени в процессе лечения указанным агентом(ами).

[0020] На фиг. 2 показаны ответы конкретных животных на лечение Вемурафенибом, за которым следует лечение анти-PDL1, ингибитором MEK, или обоими. Каждый столбик показывает процентное изменение роста опухоли после перевода от Вемурафениба к указанному лечению для конкретных животных.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

I. Общепринятые методики

[0021] Методики и процедуры, описанные или упомянутые в данном документе, как правило, хорошо известны и обычно применяются с использованием обычных методик специалистами в данной области техники, такими как, например, общепринятые

25 методики, описанные в Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3rd edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel, et al. eds., (2003)); серия Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.): PCR 2: A Practical Approach (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, и Animal Cell Culture

30 (R.I. Freshney, ed. (1987)); Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I. Freshney), ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J.P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures

35 (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: A Practical Approach (D. Catty, ed.,

40 IRL Press, 1988-1989); Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); и Cancer: Principles and Practice of Oncology (V.T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993).

II. Термины

[0022] Термин «антагонист» используется в наиболее широком смысле, и включает любую молекулу, которая частично или полностью блокирует, ингибирует или нейтрализует биологическую активность нативного полипептида, описанного в данном

документе. Аналогичным образом, термин «агонист» используется в самом широком смысле и включает любую молекулу, которая имитирует биологическую активность нативного полипептида, описанного в данном документе. Подходящие молекулы агониста или антагониста специфически включают антитела агониста или антагониста

5 или фрагменты антител, фрагменты или варианты аминокислотных последовательностей нативных полипептидов, пептидов, антисмыловых олигонуклеотидов, малых органических молекул и т.д. Способы идентификации агонистов или антагонистов полипептида могут включать приведение в контакт полипептида с молекулой-кандидатом агониста или антагониста и измерение, обнаруживающее изменение в

10 одном или более видов биологической активности, обычно связанных с полипептидом.

[0023] Термин «аптамер» относится к молекуле нуклеиновой кислоты, которая способна связываться с молекулой-мишенью, такой как полипептид. Например, аптамер согласно изобретению может специфически связываться с полипептидом B-raf, или с молекулой сигнального пути, которая модулирует экспрессию или активность B-raf.

15 Создание и терапевтическое применение аптамеров хорошо известно в данной области техники. См., например, патент США. № 5475096, и терапевтическую эффективность Macugen® (Eyetech, Нью-Йорк) для лечения возрастной макулярной дегенерации.

[0024] Термин «антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1,» представляет собой молекулу, которая ингибирует взаимодействие партнера, 20 связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, направленная на устранение дисфункции Т-клеток, возникающую из-за передачи сигналов на PD-1 сигнальный путь, что приводит к восстановлению или усилению функции Т-клеток (например, пролиферация, продукция цитокинов, уничтожение клеток-мишений). Используемый в данном документе, антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути 25 PD-1, включает PD-1-связывающий антагонист, PD-L1-связывающий антагонист и PD-L2-связывающий антагонист.

[0025] Термин «PD-1-связывающие антагонисты» представляет собой молекулу, которая снижает, блокирует, ингибирует, подавляет или нарушает сигнальную трансдукцию, возникающую из-за взаимодействия PD-1 с одним или более его 30 партнерами по связыванию, такими как PD-L1, PD-L2. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-1-связывающий антагонист представляет собой молекулу, которая ингибирует связывание PD-1 с его партнерами по связыванию. В конкретном аспекте PD-1-связывающий антагонист ингибирует связывание PD-1 с PD-L1 и/или PD-L2. Например, PD-1-связывающие антагонисты включают антитела анти-PD-1, их 35 антигенсвязывающие фрагменты, иммуноадгезины, гибридные белки, олигопептиды и другие молекулы, которые снижают, блокируют, ингибируют, подавляют или нарушают сигнальную трансдукцию, возникающую из-за взаимодействия PD-1 с PD-L1 и/или PD-L2. В одном варианте реализации изобретения PD-1-связывающий антагонист уменьшает негативный костимулирующий сигнал, опосредованный или с 40 помощью клеточных поверхностных белков, экспрессируемых на Т-лимфоцитах, которые опосредуют сигналинг через PD-1, чтобы сделать дисфункциональную Т-клетку менее дисфункциональной (например, повышение эффекторного отклика на распознавание антигена). В некоторых вариантах реализации изобретения PD-1-связывающий антагонист представляет собой антитело анти-PD-1. В конкретном аспекте 45 PD-1-связывающий антагонист представляет собой MDX-1106, описанный в данном документе. В другом конкретном аспекте PD-1-связывающий антагонист представляет собой Merck 3745, описанный в данном документе. В другом конкретном аспекте PD-1-связывающий антагонист представляет собой CT-011, описанный в данном документе.

[0026] Термин «PD-L1-связывающие антагонисты» представляет собой молекулу, которая снижает, блокирует, ингибитирует, подавляет или нарушает сигнальную трансдукцию, возникающую из-за взаимодействия PD-L1 с одним или более его партнерами по связыванию, такими как PD-1, B7-1. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-L1-связывающий антагонист представляет собой молекулу, которая ингибитирует связывание PD-L1 с его партнерами по связыванию. В конкретном аспекте PD-L1-связывающий антагонист ингибитирует связывание PD-L1 с PD-1 и/или B7-1. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-L1-связывающие антагонисты включают антитела анти-PD-L1, их антигенсвязывающие фрагменты, иммуноадгезины, гибридные белки, олигопептиды и другие молекулы, которые снижают, блокируют, ингибитируют, подавляют или нарушают сигнальную трансдукцию, возникающую из-за взаимодействия PD-L1 с одним или более его партнерами по связыванию, такими как PD-1, B7-1. В одном варианте реализации изобретения PD-L1-связывающий антагонист уменьшает негативный костимулирующий сигнал, опосредованный или с помощью клеточных поверхностных белков, экспрессируемых на Т-лимфоцитах, которые опосредуют сигналинг через PD-L1, так как делают дисфункциональную Т-клетку менее дисфункциональной (например, повышение эффекторного отклика на распознавание антигена). В некоторых вариантах реализации изобретения PD-L1-связывающий антагонист представляет собой анти-PD-L1 антитело. В конкретном аспекте анти-PD-L1 антитело представляет собой YW243.55.S70, описанное в данном документе. В другом конкретном аспекте анти-PD-L1 антитело представляет собой MDX-1105, описанное в данном документе. В еще одном конкретном аспекте анти-PD-L1 антитело представляет собой MPDL3280A (атезолизумаб), описанное в данном документе.

[0027] Термин «PD-L2-связывающие антагонисты» представляет собой молекулу,

которая снижает, блокирует, ингибитирует, подавляет или нарушает сигнальную трансдукцию, возникающую из-за взаимодействия PD-L2 с одним или более его партнерами по связыванию, такими как PD-1. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-L2-связывающий антагонист представляет собой молекулу, которая ингибитирует связывание PD-L2 с его партнерами по связыванию. В конкретном аспекте PD-L2-связывающий антагонист ингибитирует связывание PD-L2 с PD-1. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-L2-связывающие антагонисты включают антитела анти-PD-L2, их антигенсвязывающие фрагменты, иммуноадгезины, гибридные белки, олигопептиды и другие молекулы, которые снижают, блокируют, ингибитируют, подавляют или нарушают сигнальную трансдукцию, возникающую из-за взаимодействия PD-L2 с одним или более его партнерами по связыванию, такими как PD-1. В одном варианте реализации изобретения PD-L2-связывающий антагонист уменьшает негативный костимулирующий сигнал, опосредованный или с помощью клеточных поверхностных белков, экспрессируемых на Т-лимфоцитах, которые опосредуют сигналинг через PD-L2, чтобы сделать дисфункциональную Т-клетку менее дисфункциональной (например, повышение эффекторного отклика на распознавание антигена). В некоторых вариантах реализации изобретения PD-L2-связывающий антагонист представляет собой иммуноадгезин.

[0028] Термин «дисфункция» в контексте дисфункции иммунной системы, относится к состоянию пониженной иммунологической реактивности к антигенной стимуляции.

45 Термин включает общие элементы как истощение, так и/или анергию, при которых может происходить распознавание антигена, но последующий иммунный ответ неэффективен в контроле инфекции или роста опухоли.

[0029] Термин «дисфункциональный», используемый в данном документе, также

включает рефрактерность или неотвечаеомость к распознаванию антигена, в частности, нарушенную способность перевода распознавания антигена к последующим Т-клеточным эффекторным функциям, таким как пролиферация, продукция цитокинов (например, ИЛ-2) и/или уничтожение клетки-мишени.

- 5 [0030] Термин «анергия» относится к состоянию неотвечаеомости к антигеннной стимуляции, возникающее из-за неполных или недостаточных сигналов, подаваемых через Т-клеточный рецептор (например, повышение внутриклеточного Са+2 при отсутствии активации Ras). Также Т-клеточная анергия может возникнуть после стимуляции антигеном при отсутствии костимуляции, в результате чего клетки 10 становятся рефрактерными к последующей активации антигеном даже в контексте костимуляции. Состояние неотвечаеомости часто можно преодолеть присутствием интерлейкина-2. Анергичные Т-клетки не претерпевают клональную экспансию и/или не приобретают эффекторные функции.

- 15 [0031] Термин «истощение» относится к истощению Т-клетки как к состоянию Т-клеточной дисфункции, которое возникает из-за устойчивого ТКР-сигналинга, который происходит при многих хронических инфекциях и раке. Оно отличается от анергии в том, что оно возникает не в результате неполного или недостаточного сигналинга, а из-за устойчивого сигналинга. Оно определяется слабой эффекторной функцией, стабильной экспрессией ингибиторных рецепторов и состоянием транскрипции, 20 отличными от функциональных эффекторных Т-клеток или клеток памяти. Истощение не позволяет оптимально контролировать инфекции и опухоли. Истощение может быть результатом как внешней негативной регуляции путей (например, иммунорегуляторных цитокинов), так и внутриклеточной негативной регуляции (костимуляцией) путей (PD-1, B7-H3, B7-H4 и т.д.).

- 25 [0032] «Усиление функции Т-клетки» подразумевает индуцирование, изменение или стимуляцию Т-клетки для пролонгирования или усиления биологической функции, или возобновления или повторной активации истощенных или неактивных Т-клеток. Примеры усиления функции Т-клеток включают: повышение секреции γ-интерферона с CD8+ Т-клеток, усиление пролиферации, повышение антигеннной реактивности 30 (например, клиренс вируса, патогена или опухоли) по отношению к таким уровням до вмешательства. В одном варианте реализации изобретения уровень повышения составляет по меньшей мере 50%, альтернативно 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 120%, 150% или 200%. Способ измерения данного усиления хорошо известен специалисту в данной области техники.

- 35 [0033] «Т-клеточное дисфункциональное расстройство» представляет собой расстройство или состояние Т-клеток, характеризующихся снижением отвечаеомости к антигеннной стимуляции. В конкретном варианте реализации изобретения Т-клеточное дисфункциональное расстройство представляет собой расстройство, которое специфически связано с неприемлемым повышением сигналинга через PD-1. В другом 40 варианте реализации изобретения при Т-клеточном дисфункциональном расстройстве Т-клетки анергичны или имеют сниженную способность к секреции цитокинов, пролиферации или осуществлению цитолитической активности. В конкретном аспекте снижение отвечаеомости приводит к неэффективному контролю патогена или опухоли, экспрессирующих иммуноген. Примеры Т-клеточных дисфункциональных расстройств, 45 характеризующихся дисфункцией Т-клеток, включают нерешенные острые инфекции, хронические инфекции и невосприимчивость к опухоли.

[0034] «Невосприимчивость к опухоли» относится к процессу, при котором опухоли избегают иммунное распознавание и клиренс. Таким образом, в качестве

терапевтической концепции невосприимчивость к опухоли «лечится», когда такое избегание ослабляется, и опухоль распознается и атакуется иммунной системой. Примеры распознавания опухоли включают связывание опухоли, уменьшение размеров опухоли и клиренс опухоли.

5 [0035] «Иммуногенность» относится к способности конкретного вещества вызвать иммунный ответ. Опухоли иммуногенны, и повышение иммуногенности опухоли помогает в клиренсе опухолевых клеток иммунной системой. Примеры повышения иммуногенности опухоли включает лечение антителами анти-PDL и ингибитором МЕК.

10 [0036] «Устойчивый ответ» относится к устойчивому эффекту на снижение роста опухоли после прекращения лечения. Например, размер опухоли может оставаться таким же или меньше по сравнению с размером в начале фазы введения. В некоторых вариантах реализации изобретения устойчивый ответ имеет длительность по меньшей мере такую же, как продолжительность лечения, по меньшей мере 1,5Х, 2,0Х, 2,5Х или 3,0Х продолжительности лечения.

15 [0037] Используемый в данном документе, термин «рак» и «раковый» относятся или описывают физиологическое состояние у млекопитающих, которое обычно характеризуется неконтролируемым ростом клеток. Данный термин включает доброкачественные и злокачественные опухоли, а также дремлющие опухоли или микрометастазы. Примеры рака включают, без ограничений, карциному, лимфому, 20 бластому, саркому и лейкоз. Более конкретные примеры таких видов рака включают, без ограничений, плоскоклеточный рак, рак легких (в том числе мелкоклеточный рак легких, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого и плоскоклеточный рак легких), рак брюшной полости, гепатоцеллюлярный рак желудка или рак желудка (в том числе рак желудочно-кишечного тракта), рак поджелудочной железы,

25 глиобластому, рак шейки матки, рак яичника, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак эндометрия или матки, карциному слюнной железы, рак почки или ренальный, рак печени, рак предстательной железы, рак вульвы, рак щитовидной железы, карциному печени и различные типы рака головы и шеи, а также В-клеточную лимфому (в том

30 числе медленнорастущая/фолликулярная неходжкинская лимфома (НХЛ); мелкоклеточная лимфоцитарная (МЛ) НХЛ, среднеаггрессивная/фолликулярная НХЛ, среднеаггрессивная диффузная НХЛ, быстрорастущая иммунобластная НХЛ, быстрорастущая лимфобластная НХЛ, быстрорастущая мелкоклеточная НХЛ, генерализованная НХЛ; мантийноклеточная лимфома; СПИД-ассоциированная

35 лимфома; и макроглобулинемия Вальденстрема); хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ); острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ); волосатоклеточный лейкоз; хронический миелобластный лейкоз; и посттрансплантационное лимфопролиферативное расстройство (ПТЛД), а также ненормальную пролиферацию сосудов, связанную с факоматозами, отек (такой как связанный с опухолями головного мозга) и синдром Мейгса. Примеры

40 рака могут включать первичные опухоли любого из вышеуказанных типов рака или на втором месте метастатические опухоли, полученные из любого из вышеуказанных видов рака.

[0038] Термин «антитело» включает моноклональные антитела (включая полноразмерные антитела, которые имеют Fc-область иммуноглобулина), композиции 45 антител с полиэпипотопной специфичностью, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела, димеры и одноцепочечные молекулы, а также фрагменты антител (например, Fab, F(ab')2 и Fv). Термин «иммуноглобулин» (Ig) используется наравне с «антителом» в данном документе.

[0039] Основная единица 4-цепочечного антитела представляет собой гетеротетрамерный гликопротеин, состоящий из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Антитело IgM состоит из 5 стандартных гетеротетрамерных единиц вместе с дополнительным полипептидом, называемым J-цепью, и содержит 10 сайтов связывания с антигеном, в то время как антитела IgA включают 2-5 стандартных 4-цепочечные единицы, которые могут полимеризоваться, образуя поливалентные комплексы в комбинации с J-цепью. В случае IgG 4-цепочечная единица обычно имеет молекулярную массу около 150000 дальтон. Каждая L-цепь соединяется с H-цепью посредством одной ковалентной дисульфидной связи, в то время как две H-цепи соединяются друг с другом посредством одной или нескольких дисульфидных связей, в зависимости от изотипа H-цепи. Каждая H- и L-цепь также содержит равномерно расположенные дисульфидные мостики внутри цепи. Каждая H-цепь содержит на N-конце вариабельный домен (VH), за которым в α и γ -изотипах следуют три константных домена (CH), а в μ и ϵ -изотипах - четыре CH-домена. Каждая L-цепь на N-конце несет вариабельный домен (VL) за которым следует константный домен на другом ее конце. VL присоединен к VH, а CL присоединен к первому константному домену тяжелой цепи (CH1). Считается, что определенные аминокислотные остатки образуют поверхность взаимодействия между вариабельными доменами легкой и тяжелой цепей. Объединение VH и VL в одно целое образует единичный антигенсвязывающий сайт. Структура и свойства различных классов антител представлена, например, в Basic and Clinical Immunology, 8th Edition, Daniel P. Sties, Abba I. Terr and Tristram G. Parsolw (eds), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, page 71 and Chapter 6. L-цепь любого вида позвоночных на основе аминокислотной последовательности ее константного домена можно отнести к одному из двух различаемых типов, называемых каппа и лямбда. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелых цепей (CH), иммуноглобулины можно отнести к различным классам или изотипам. Выделяют пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, имеющие тяжелые цепи, обозначаемые α , δ , ϵ , γ и μ , соответственно. Классы γ и α подразделяют на подклассы на основании относительно небольших различий в последовательности CH и функциях; например, у человека экспрессируются следующие подклассы: IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2.

[0040] Термин «вариабельная область» или «вариабельный домен» антитела относятся к аминоконцевым доменам тяжелой или легкой цепи антитела. Вариабельные домены тяжелой цепи и легкой цепи могут быть отнесены к «VH» и «VL», соответственно. Эти домены, как правило, наиболее вариабельные части антитела (по отношению к другим антителам того же класса) и содержат антигенсвязывающие сайты.

[0041] Термин «вариабельный» обозначает тот факт, что определенные сегменты вариабельных доменов существенно различаются в последовательности между антителами. V-домен опосредует связывание антигена и определяет специфичность конкретного антитела к его конкретному антигену. В то же время, вариабельность неравномерно распределена на всем протяжении вариабельного домена. Вместо этого она сконцентрирована в трех сегментах, называемых гипервариабельными областями (HVR) в вариабельных доменах как легкой цепи, так и тяжелой цепи. Наиболее высококонсервативные участки вариабельных доменов называются каркасными областями (FR). Вариабельные домены нативных тяжелых и легких цепей содержат четыре FR, преимущественно принимающих конформацию бета-листа, соединенные тремя HVR, которые образуют петли, соединяющие и, в некоторых случаях, образующие часть структуры бета-листа. HVR в каждой цепи тесно сближены друг с другом с

помощью FR и вместе с HVR другой цепи участвуют в образовании антигенсвязывающего сайта антител (см., Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Константные домены не вовлечены напрямую в связывание антитела с антигеном, однако проявляют различные 5 эфекторные функции, например, участвуют в антителозависимой клеточно-обусловленной цитотоксичности.

[0042] Термин «моноклональное антитело», используемый в данном документе, относится к антителу, полученному из популяции в значительной степени однородных антител, т.е. отдельные антитела в составе популяции являются идентичными, за исключением возможных мутаций, происходящих по естественным причинам, или посттрансляционных модификаций (изомеризаций, амидаций), которые могут присутствовать в небольших количествах. Моноклональные антитела 10 высокоспецифичны, так как они направлены против единичного антигенного сайта. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые обычно содержат различные 15 антитела, направленные против различных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против единичной детерминанты на антигене. В дополнение к их специфичности, моноклональные антитела обладают преимуществом, заключающимся в том, что они могут быть синтезированы культурой гибридомы без примеси других иммуноглобулинов. Определение «моноклональное» указывает на 20 особенность антител, заключающуюся в том, что они получены из практически однородной популяции антител, и это не должно расцениваться как необходимость получения антител с помощью какого-либо конкретного способа. Например, моноклональные антитела для использования в соответствии с настоящим изобретением можно получить с помощью различных методик, включая, например, гибридомную 25 технологию, (например, Kohler and Milstein., Nature, 256:495-97 (1975); Hongo et al., Hybridoma, 14 (3): 253-260 (1995), Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling et al., в: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)), технологий рекомбинантной ДНК (см., например, патент США № 4816567), технологий фагового дисплея (см., например, 30 Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); и Lee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132 (2004), и методики для получения антител человека или антител, подобных антителам человека, в животных, которые содержат части или 35 целые человеческие иммуноглобулиновые локусы или гены, кодирующие последовательности иммуноглобулинов человека (см., например, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 2551 (1993); Jakobovits et al., Nature 362: 255-258 (1993); Bruggemann et al., Year in Immunol. 7:33 (1993); патент США №№ 5545807; 5545806; 5569825; 5625126; 5633425; и 40 5661016; Marks et al., Bio/Technology 10: 779-783 (1992); Lonberg et al., Nature 368: 856-859 (1994); Morrison, Nature 368: 812-813 (1994); Fishwild et al., Nature Biotechnol. 14: 845-851 (1996); Neuberger, Nature Biotechnol. 14: 826 (1996); и Lonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93 (1995).

[0043] Термин «голое антитело» означает антитело, которое не конъюгировано с

45 цитотоксическим фрагментом или радиоизотопной меткой.

[0044] Термины «полноразмерное антитело», «интактное антитело» или «полное антитело» используют взаимозаменямо, и они относятся к антителу в его, по существу, интактной форме в отличие от фрагмента антитела. Конкретно, полные антитела

включают антитела с тяжелыми и легкими цепями, включающими Fc-область. Константные домены могут представлять собой константные домены нативной последовательности (например, константные домены нативной последовательности человека) или их варианты аминокислотной последовательности. В некоторых случаях 5 интактные антитела могут иметь одну или более эффекторных функций.

[0045] «Фрагмент антитела» содержит часть интактного антитела, предпочтительно антигенсвязывающую или вариабельную область интактного антитела. Примеры фрагментов антител включают Fab, Fab', F(ab')2 и Fv-фрагменты; диатела; линейные антитела (см., патент США 5641870, пример 2; Zapata et al., Protein Eng. 8(10): 1057-1062

10 [1995]); молекулы одноцепочечных антител и мультиспецифичные антитела, образованные из фрагментов антител. Папаиновый гидролиз антител приводит к образованию двух идентичных антигенсвязывающих фрагментов, называемых «Fab»-фрагментами, и остаточного «Fc»-фрагмента, чье обозначение указывает на хорошую способность к кристаллизации. Fab-фрагмент состоит из полноразмерной L-цепи вместе 15 с вариабельным доменом Н-цепи (VH) и первым константным доменом одной тяжелой цепи (CH1). Каждый Fab-фрагмент является моновалентным по отношению к связыванию антигена, т.е. он имеет единичный антигенсвязывающий сайт. Обработка антитела пепсином позволяет выделить одиночный крупный F(ab')2-фрагмент, который 20 приблизительно соответствует двум Fab-фрагментам с различной антигенсвязывающей активностью, соединенным дисульфидной связью, и сохраняющий способность к перекрестному сшиванию антигена. Fab'-фрагменты отличаются от Fab-фрагментов наличием нескольких дополнительных остатков на карбоксильном конце домена CH1, в том числе одного или нескольких цистеинов из шарнирной области антитела. Fab'-SH 25 в данном документе обозначает Fab', в котором остаток(ки) цистеина константных доменов несет(ут) свободную тиольную группу. F(ab')2-фрагменты антител первоначально получали как пары Fab'-фрагментов, которые соединены между собой цистеинами шарнирной области. Также известны другие способы химической сшивки фрагментов антител.

[0046] Fc-фрагмент содержит части карбоксильного конца обеих Н-цепей, соединенные 30 вместе дисульфидными связями. Эффекторные функции антител определяются последовательностями Fc-области, которую также распознают Fc-рецепторы (FcR), встречающиеся на некоторых типах клеток.

[0047] «Fv» представляет собой минимальный фрагмент антитела, содержащий 35 полный сайт распознавания и связывания антигена. Этот фрагмент состоит из димера вариабельных доменов одной тяжелой и одной легкой цепей, жестко связанных посредством нековалентных связей. При укладке этих двух доменов наружу выступают шесть гипервариабельных петель (по три петли из Н- и L-цепи), аминокислотные участки которых участвуют в связывании с антигеном и придают антителу специфичность по 40 отношению к связыванию антигена. В то же время, даже одиночный вариабельный домен (или половина Fv-фрагмента, включающая только три HVR, специфичных к антигену) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя и с более низкой аффинностью по сравнению с полноразмерным сайтом связывания.

[0048] «Одноцепочечные Fv», также сокращенно обозначаемые как «sFv» или «scFv» 45 представляют собой фрагменты антител, содержащие домены VH и VL, соединенные в одиночную полипептидную цепь. Предпочтительно, полипептид sFv также содержит полипептидный линкер между доменами VH и VL, позволяющий sFv формировать структуру, необходимую для связывания с антигеном. Обзор sFv описан в Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-

Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

[0049] «Функциональные фрагменты» антител согласно изобретению содержат часть интактного антитела, как правило, включая антигенсвязывающую или вариабельную область интактного антитела или Fc-область антитела, которая сохраняет или изменяет способность к связыванию FcR. Примеры фрагментов антител включают линейные антитела; молекулы одноцепочечных антител и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

[0050] Термин «диатела» относится к небольшим фрагментам антител, полученным путем конструирования sFv-фрагментов (см. предыдущий абзац) с короткими линкерами (около 5-10 остатков) между доменами VH и VL, благодаря чему достигается межцепочечное, а не внутрицепочечное сопряжение V-доменов, приводящее к образованию бивалентного фрагмента, т.е. фрагмента, несущего два антигенсвязывающих сайта. Биспецифические диатела представляют собой гетеродимеры двух «скрещенных» sFv-фрагментов, в которых VH- и VL-домены двух антител присутствуют на различных полипептидных цепях. Более подробное описание диател приведено, например, в EP 404,097; WO 93/11161; Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993).

[0051] Моноклональные антитела в данном документе конкретно включают «химерные» антитела (иммуноглобулины), в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, полученных от конкретного вида или принадлежащих к конкретному классу или подклассу антител, тогда как остальная часть цепи(ей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, полученных из другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагментам таких антител, если они обладают требуемой биологической активностью (патент США № 4816567; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)). Химерные антитела, представляющие интерес в данном документе, включают антитела PRIMATIZED®, причем антигенсвязывающий участок антитела получают из антитела, продуцируемого, например, при иммунизации обезьян (макак) нужным антигеном.

Используемый в данном документе, термин «гуманизированное антитело» относится к подмножеству «химерных антител».

[0052] «Гуманизированные» формы антител из организмов, отличных от человека (например, мышиные), представляют собой химерные антитела, которые содержат минимальную последовательность, полученную из иммуноглобулина, не относящегося к человеку. В одном варианте реализации изобретения гуманизированное антитело представляют собой иммуноглобулин человека (реципиентное антитело), в котором остатки из HVR (определение дано далее) реципиента заменены на остатки из HVR вида, отличного от человека (донорное антитело), такого как мышь, крыса, кролик или отличных от человека приматов, имеющих требуемую специфичность, аффинность и/или активность. В некоторых случаях остатки каркасной области (FR) иммуноглобулина человека заменяют соответствующими остатками из вида, отличного от человека. Кроме того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, которые не обнаружены в реципиентном антителе или в донорном антителе. Эти модификации производят для дополнительного улучшения свойств антитела, таких как аффинность связывания. В целом, гуманизированное антитело будет содержать, в существенной мере, все из по меньшей мере одного, а в типичном случае двух вариабельных доменов, в которых все или в существенной мере все гипервариабельные петли соответствуют таковым у иммуноглобулина, не принадлежащего человеку, и все или в существенной

мере все области FR являются таковыми с последовательностью иммуноглобулина человека, хотя области FR могут включать одну или более отдельных замен остатков FR, которые улучшают свойства антитела, такие как аффинность связывания, изомеризация, иммуногенность и т.д. Число таких аминокислотных замен в FR обычно не более 6 в Н-цепи, и не более 3 в L-цепи. Гуманизированное антитело необязательно будет также содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, из человеческого иммуноглобулина. Для более подробного описания см., например, Jones et al., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); and Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992). См. также, например, Vaswani and Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1:105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995); Hurle and Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5:428-433 (1994); и патент США. №№ 6982321 и 7087409.

[0053] «Человеческое антитело» представляет собой антитело, которое обладает аминокислотной последовательностью, соответствующей антителу, продуцируемого человеком и/или получено с использованием любой из методик для получения человеческих антител, как описано в данном документе. Данное определение человеческого антитела прямо исключает гуманизированное антитело, содержащее нечеловеческие антигенсвязывающие остатки. Человеческие антитела могут быть получены с использованием различных методик известных в данной области техники, включая библиотеки фагового дисплея. Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991). Для получения человеческих моноклональных антител также доступны способы, описанные в Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., *J. Immunol.*, 147(1): 86-95 (1991). См. также van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 5: 368-74 (2001). Человеческие антитела могут быть получены путем введения антигена трансгенному животному, которое было изменено для получения таких антител в ответ на антигенную стимуляцию, но чьи эндогенные локусы были в неактивном состоянии, например, иммунизированной ксеномыши (см, например, патент США. №№ 6075181 и 6150584 о технологии XENOMOUSETM). См. также, например, Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006) о человеческих антителах, полученных с помощью человеческой В-клеточной гибридомной технологии.

[0054] Термин «гипервариабельная область», «HVR» или «HV», используемый в данном документе, относится к областям вариабельного домена антитела, которые являются гипервариабельными в последовательности и/или образуют структурно определенные петли. Как правило, антитела включают в себя шесть HVR; три в VH (H1, H2, H3), и три в VL (L1, L2, L3). В нативных антителах H3 и L3 проявляют все разнообразие шести HVR и, в частности, полагают, что H3 играет уникальную роль в придании тонкой специфичности антителам. См., например, Xu et al., *Immunity* 13:37-45 (2000); Johnson and Wu, in *Methods in Molecular Biology* 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003). Действительно, верблюжьи антитела природного происхождения, состоящие только из тяжелой цепи, функциональны и стабильны при отсутствии легкой цепи. См., например, Hamers-Casterman et al., *Nature* 363:446-448 (1993); Sheriff et al., *Nature Struct. Biol.* 3:733-736 (1996).

[0055] Ряд определений гипервариабельной области используют и рассматривают в данном документе. По Kabat области, определяющие комплементарность (CDR), определяют на основании вариабельности последовательности, и их используют чаще всего (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). Вместо этого Chothia ссылается

на местоположение структурных петель (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). HVR AbM представляют собой компромисс между HVR по Kabat и структурными петлями по Chothia, и их используют в программном обеспечении для моделирования антител Oxford Molecular AbM. «Контактные» HVR определяют на основе анализа 5 доступных кристаллических структур комплексов. Остатки каждой из этих HVR приводятся ниже.

Петля Kabat AbM Chothia Контактные
 L1 L24-L34 L24-L34 L26-L32 L30-L36
 L2 L50-L56 L50-L56 L50-L52 L46-L55
 10 L3 L89-L97 L89-L97 L91-L96 L89-L96
 H1 H31-H35B H26-H35B H26-H32 H30-H35B (нумерация Kabat)
 H1 H31-H35 H26-H35 H26-H32 H30-H35 (нумерация Chothia)
 H2 H50-H65 H50-H58 H53-H55 H47-H58
 H3 H95-H102 H95-H102 H96-H101 H93-H101

15 [0056] HVR могут содержать «расширенные HVR», как указано далее: 24-36 или 24-34 (L1), 46-56 или 50-56 (L2) и 89-97 или 89-96 (L3) в VL и 26-35 (H1), 50-65 или 49-65 (H2) и 93-102, 94-102, или 95-102 (H3) в VH. Остатки вариабельного домена пронумерованы согласно Kabat et al., выше, для каждого из этих определений.

[0057] Термин «нумерация остатков вариабельных доменов как в Kabat» или 20 «нумерация положений аминокислот как в Kabat» и их вариации, относится к системе нумерации, используемой для вариабельных доменов тяжелой цепи или вариабельных доменов легкой цепи, составляющих антитела в Kabat и др., выше. При использовании этой системы нумерации, фактическая линейная аминокислотная последовательность может содержать меньше или больше аминокислот, что соответствует укорочению или 25 вставкам в FR или HVR вариабельного домена. Например, вариабельный домен тяжелой цепи может включать вставку одной аминокислоты (остаток 52а в соответствии с Kabat) после остатка 52 H2 и вставленные остатки, например, остатки 82а, 82b, и 82c, и т.д. в соответствии с Kabat) после остатка 82 FR тяжелой цепи. В нумерации Kabat остатки 30 могут быть определены для данного антитела выравниванием по участкам гомологии последовательности антитела со «стандартной» последовательностью, пронумерованной по Kabat.

[0058] «Каркасные» или «FR»-остатки являются такими остатками вариабельного домена, которые отличаются от остатков HVR, как это определено в данном документе.

[0059] «Человеческий консенсусный каркасный участок» или «человеческий 35 акцепторный каркасный участок» представляет собой каркасный участок, который содержит аминокислотные остатки, наиболее часто встречающиеся в наборе последовательностей каркасных участков VL или VH человеческих иммуноглобулинов. Как правило, набор последовательностей VL или VH человеческих иммуноглобулинов относится к подгруппе последовательностей вариабельных доменов. Как правило, 40 подгруппа последовательностей представляет собой подгруппу, описанную в Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). Примеры включают VL, подгруппа которого может быть подгруппой каппа I, каппа II, каппа III или каппа IV в соответствии с Kabat et al., выше. Дополнительно, VH, подгруппа которого может быть подгруппой I, 45 подгруппой II или подгруппой III, в соответствии с Kabat et al., выше. В качестве альтернативы, человеческий консенсусный каркасный участок может быть получен, исходя из вышеизложенного, причем определенные остатки, такие как остатки человеческого каркасного участка выбираются на основании их гомологии к донорному

каркасному участку выравниванием последовательности донорного каркасного участка с набором различных последовательностей человеческих каркасных участков.

Человеческий акцепторный каркасный участок «полученный из» каркасного участка иммуноглобулина человека или человеческого консенсусного каркасного участка

5 может содержать ту же его аминокислотную последовательность, или он может содержать уже существующие изменения в аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах реализации изобретения количество ранее существовавших аминокислотных изменений составляет 10 или менее, 9 или менее, 8 или менее, 7 или менее, 6 или менее, 5 или менее, 4 или менее, 3 или менее, или 2 или менее.

10 [0060] «Консенсусный каркасный участок подгруппы III VH» содержит консенсусную последовательность, полученную из аминокислотных последовательностей в вариабельной тяжелой подгруппе III по Kabat et al., выше. В одном варианте реализации изобретения аминокислотная последовательность консенсусного каркасного участка подгруппы III VH содержит по меньшей мере часть или все из каждой из следующих 15 последовательностей: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (HC-FR1) (SEQ ID NO:4), WVRQAPGKGLEWV (HC-FR2), (SEQ ID NO:5), RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAV YYCAR (HC-FR3, SEQ ID NO:6), WGQGTLTVSA (HC-FR4), (SEQ ID NO:7).

[0061] «Консенсусный каркасный участок каппа I VL» содержит консенсусную последовательность, полученную из аминокислотных последовательностей в 20 вариабельной легкой каппа подгруппе I по Kabat et al., выше. В одном варианте реализации изобретения аминокислотная последовательность консенсусного каркасного участка подгруппы I VH содержит по меньшей мере часть или все из каждой из следующих последовательностей: DIQMTQSPSSLSASVGDRVITC (LC-FR1) (SEQ ID NO:11), WYQQKPGKAPKLLIY (LC-FR2) (SEQ ID NO:12), GVPSRFSGSGSGTDFTLTISS 25 LQPEDFATYYC (LC-FR3) (SEQ ID NO:13), FGQGTKVEIKR (LC-FR4) (SEQ ID NO:14).

[0062] «Аминокислотная модификация» в указанной позиции, например, в Fc-области, относится к замене или удалению указанного остатка, или вставке по меньшей мере одного аминокислотного остатка, смежного с указанным остатком. Вставка «смежная» к указанному остатку означает вставку в пределах от одного до двух их остатков.

30 Вставка может быть N-концевой или C-концевой по отношению к указанному остатку. Предпочтительной модификацией аминокислоты в данном документе является замена.

[0063] Антитело с «созревшей аффинностью» представляет собой антитело с одним или более изменениями в одной или более его HVR, что приводит к улучшению аффинности антитела к антигену, по сравнению с исходным антителом, которое не 35 обладает этим изменением(ями). В одном варианте реализации изобретения антитело с созревшей аффинностью обладает наномолярной или даже пикомолярной аффинностью к антигену-мишени. Антитело с созревшей аффинностью получают способами известными в данной области техники. Например, Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992) описывает созревание аффинности посредством перестановок VH- и 40 VL-доменов. Случайный мутагенез HVR и/или остатков каркасного участка описан, например, Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813 (1994); Schier et al. Gene 169: 147-155 (1995); Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., J. Immunol. 154 (7):3310-9 (1995); и Hawkins et al, J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992).

[0064] Используемый в данном документе, термин «специфически связывается с» 45 или «специфичен для» относится к измеримым и воспроизводимым взаимодействиям, таким как связывание между мишенью и антителом, которое определяет присутствие мишени в гетерогенной популяции молекул, включая биологические молекулы. Например, антитело, которое специфически связывается с мишенью (которая может

быть эпитопом), представляет собой антитело, которое связывает эту мишень с большей аффинностью, авидностью, более легко, и/или с большей продолжительностью, чем оно связывается с другими мишениями. В одном варианте реализации изобретения степень связывания антитела с мишенью без родства составляет менее чем около 10% от связывания антитела с мишенью, как измерено, например, радиоиммуноанализом (РИА). В некоторых вариантах реализации изобретения антитело, которое специфически связывается с мишенью имеет константу диссоциации (K_d) $\leq 1\text{мкM}$, $\leq 100 \text{ нM}$, $\leq 10 \text{ нM}$, $\leq 1 \text{ нM}$, или $\leq 0,1 \text{ нM}$. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело специфически связывается с эпитопом на белке, который является консервативным белком от различных видов. В другом варианте реализации изобретения специфическое связывание может включать, но не требует, взаимоисключающее связывание.

[0065] Используемый в данном документе, термин «иммуноадгезин» обозначает антителоподобные молекулы, которые сочетают специфичность связывания гетерологичного белка («адгезина») с эффекторными функциями константных доменов иммуноглобулина. Структурно иммуноадгезины содержат слияние аминокислотной последовательности с требуемой специфичностью связывания, которая является отличной от антигенраспознающего и связывающего сайта антитела (т.е. являются «гетерологичными») и последовательности константного домена иммуноглобулина. Адгезиновая часть молекулы иммуноадгезина обычно представляет собой непрерывную аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере сайт связывания с рецептором или лигандом. Последовательность константного домена иммуноглобулина в иммуноадгезине может быть получена из любого иммуноглобулина, такого как подтипы IgG-1, IgG-2 (включая IgG2a и IgG2b), IgG-3 или IgG-4, IgA (включая IgA-1 и IgA-2), IgE, IgD или IgM. Гибриды Ig предпочтительно включают замену домена полипептида или антитела, описанного в данном документе, по меньшей мере в положении одной вариабельной области в пределах молекулы Ig. В конкретном варианте реализации изобретения гибридный иммуноглобулин содержит шарнир CH2 и CH3, или шарнир, CH1, CH2 и CH3 областей молекулы IgG1. Для приготовления гибридных иммуноглобулинов см. также патент США № 5428130, опубликованный 27 июня, 1995.

Например, полезные иммуноадгезины в качестве дополнительных лекарственных средств, пригодные для комбинированной терапии по данному документу, включают полипептиды, которые включают внеклеточные или PD-1-связывающие части PD-L1 или PD-L2, или внеклеточные или PD-L1, или PD-L2-связывающие части PD-1, слитые с константным доменом последовательности иммуноглобулина, такой как PD-L1 ECD - Fc, с PD-L2 ECD - Fc, и PD-1 ECD - Fc соответственно. Комбинации иммуноадгезина Ig Fc и ECD рецепторов клеточной поверхности иногда называют растворимыми рецепторами.

[0066] «Слитный белок» и «слитный полипептид» относится к полипептиду, имеющему две части, ковалентно связанные друг с другом, причем каждый из участков представляет собой полипептид, имеющий разные свойства. Свойство может быть биологическим свойством, таким как активность *in vitro* или *in vivo*. Свойство также может быть простым химическим или физическим свойством, например, связыванием с молекулой-мишенью, катализом реакции, и т. д. Эти две части могут быть соединены непосредственно одной пептидной связью или через пептидный линкер, но в рамке считывания друг с другом.

[0067] «Олигопептид PD-1», «олигопептид PD-L1», или «олигопептид PD-L2» представляет собой олигопептид, который предпочтительно специфично связывается с негативным костимулирующим полипептидом PD-1, PD-L1 или PD-L2, соответственно,

включая рецептор, лиганд или компонент сигналинга, соответственно, как описано в данном документе. Такие олигопептиды могут быть химически синтезированы с использованием известной методики синтеза олигопептидов или могут быть получены и очищены с использованием рекомбинантной технологии. Такие олигопептиды, как правило, составляют по меньшей мере около 5 аминокислот в длину, альтернативно, по меньшей мере около 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, или 100 аминокислот в длину или более. Такие олигопептиды могут быть идентифицированы с использованием хорошо известных методов. В связи с этим следует отметить, что способы скрининга библиотек олигопептидов для олигопептидов, которые способны специфически связываться с полипептидом-мишенью, хорошо известны в данной области техники (см., например, патент США №№ 5556762, 5750373, 4708871, 4833092, 5223409, 5403484, 5571689, 5663143; публикации РСТ №№ WO 84/03506 и WO84/03564; Geysen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81:3998-4002 (1984); Geysen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 82:178-182 (1985); Geysen et al., в Synthetic Peptides as Antigens, 130-149 (1986); Geysen et al., J. Immunol. Meth., 102:259-274 (1987); Schoofs et al., J. Immunol., 140:611-616 (1988), Cwirla, S. E. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6378 (1990); Lowman, H.B. et al. Biochemistry, 30:10832 (1991); Clackson, T. et al. Nature, 352: 624 (1991); Marks, J. D. et al., J. Mol. Biol., 222:581 (1991); Kang, A.S. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:8363 (1991), and Smith, G. P. Current Opin. Biotechnol., 2:668 (1991).

[0068] «Блокирующее» антитело или антитело-«антагонист» представляет собой антитело, которое ингибирует или уменьшает биологическую активность антигена его связыванием. В некоторых вариантах реализации изобретения блокирующие антитела или антитела-антагонисты в значительной степени или полностью ингибируют биологическую активность антигена. Антитела анти-PD-L1 согласно изобретению блокируют сигналинг через PD-1, чтобы восстановить функциональный ответ Т-клетками (например, пролиферацию, продукцию цитокинов, уничтожение клетки-мишени) с дисфункционального состояния к антигенней стимуляции.

[0069] Антитело-«агонист» или активирующее антитело является тем, которое усиливает или инициирует сигналинг антигеном с которым оно связывается. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела-агонисты вызывают или активируют сигналинг без присутствия природного лиганда.

[0070] В данном документе термин «Fc-область» используется для определения С-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, в том числе нативной последовательности Fc-областей и вариантов Fc-областей. Хотя границы Fc-области тяжелой цепи иммуноглобулина могут варьироваться, Fc-область тяжелой цепи человеческого IgG обычно тянется от аминокислотного остатка в положении Cys226 или от Pro230 к ее карбоксильному концу. С-концевой лизин (остаток 447 в соответствии с системой нумерации EU) в Fc-области может быть удален, например, во время получения или очистки антитела, либо рекомбинантно конструированием нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь антитела. Соответственно, композиция интактных антител может содержать популяции антител со всеми удаленными остатками K447, популяции антител, без удаленных остатков K447, и популяции антител, имеющие смесь антител с остатками и без остатков K447. Подходящие природные последовательности Fc-областей для использования антител согласно изобретению включают человеческий IgG1, IgG2 (IgG2a, IgG2b), IgG3 и IgG4.

[0071] «Fc-рецептор» или «FcR» описывает рецептор, который связывается с Fc-областью антитела. Предпочтительным FcR является нативная последовательность человеческого FcR. Кроме того, предпочтительным FcR является тот, который связывается с антителом IgG (гамма-рецептор) и включает подклассы рецепторов Fc γ RI,

5 Fc γ RII и Fc γ RIII, включая аллельные варианты и альтернативно сплайсированные формы этих рецепторов, рецепторы Fc γ RII включают Fc γ RIIA («активирующий рецептор») и Fc γ RIIB («ингибирующий рецептор»), которые имеют сходные аминокислотные последовательности, которые отличаются главным образом своими цитоплазматическими доменами. Активирующий рецептор Fc γ RIIA содержит

10 иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM) в своем цитоплазматическом домене. Ингибирующий рецептор Fc γ RIIB содержит иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив (ITIM) в своем цитоплазматическом домене. (см., M. Daëron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997). FcR рассматриваются в Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92 (1991); Capel et al., 15 Immunomethods 4: 25-34 (1994); and de Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126: 330-41 (1995). Другие FcR, включая те, которые будут идентифицированы в будущем, в данном документе охватываются термином «FcR».

[0072] Термин «Fc-рецептор» или «FcR» также включает неонатальный рецептор FcRn который отвечает за перенос материнских IgG к плоду. Guyer et al., J. Immunol. 20 117: 587 (1976) and Kim et al., J. Immunol. 24: 249 (1994). Способы измерения связывания с FcRn известны (см, например, Ghetie and Ward, Immunol. Today 18: (12): 592-8 (1997); Ghetie et al., Nature Biotechnology 15 (7): 637-40 (1997); Hinton et al., J. Biol. Chem. 279 (8): 6213-6 (2004); WO 2004/92219 (Hinton et al.). Связывание с FcRn в условиях *in vivo* и период полуыведения из сыворотки полипептидов FcRn человека, связывающихся с 25 высокой аффинностью, может быть проанализировано, например, на трансгенных мышах или на трансфектированных клеточных линиях человека, экспрессирующих человеческий FcRn, или на приматах, которым вводят полипептиды, содержащие варианты Fc-области. WO 2004/42072 (Presta) описывает варианты антител, которые улучшают или уменьшают связывание с FcRs. См. также, например, Shields et al., J. Biol. 30 Chem. 9(2): 6591-6604 (2001).

[0073] Термин «существенно снижается» или «существенно отличается», используемый в данном документе, обозначает достаточно высокую степень различия между двумя числовыми значениями (обычно одно связано с молекулой, а другое связано с эталонной/контрольной молекулой) таким образом, что специалист в данной области техники 35 будет учитывать разницу между этими двумя значениями как статистически значимую в контексте биологической характеристики, измеряемой указанным показателем (например, значения Kd). Различие между указанными двумя значениями, например, более чем около 10%, более чем около 20%, более чем около 30%, более чем около 40%, и/или более чем около 50% в зависимости от значения для эталонной/контрольной 40 молекулы.

[0074] Термин «по существу аналогичный» или «по существу такой же», используемый в данном документе, обозначает достаточно высокую степень сходства между двумя числовыми значениями (например, одно связано с антителом согласно изобретению, а другое связано с эталонным/контрольным антителом), таким образом, что специалист 45 данной области техники будет учитывать разницу между этими двумя значениями, которые имеют небольшое или не имеют биологически и/или статистически значимых различий в контексте биологической характеристики, измеряемой указанным показателем (например, значения Kd). Различие между указанными двумя значениями,

например, менее чем около 50%, менее чем около 40%, менее чем около 30%, менее чем около 20%, и/или менее чем около 10% в зависимости от эталонного/контрольного значения.

[0075] Термин «носители», используемый в данном документе, включают

- 5 фармацевтически приемлемые носители, наполнители или стабилизаторы, которые являются нетоксичными для клетки или млекопитающих, подвергающихся воздействию ими в используемых дозах и концентрациях. Часто физиологически приемлемый носитель представляет собой pH-регулирующий водный буферный раствор. Примеры физиологически приемлемых носителей включают буфера, такие как фосфатный,
- 10 цитратный и других органических кислот; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту; полипептид с низкой молекулярной массой (менее около 10 остатков); белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая
- 15 глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТК; сахарные спирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как TWEENTM, полиэтиленгликоль (ПЭГ) и PLURONICSTM.

[0076] «Листок-вкладыш в упаковке» относится к инструкциям, обычно включаемым

- 20 в упаковку, предназначеннной для реализации лекарственных средств, которые содержат информацию о показаниях, обычно включаемые в серийные упаковки лекарственных средств, которые содержат информацию о показаниях, использовании, дозировке, способах введения, противопоказаниях, других лекарственных средствах, которые комбинируются с упакованным товаром, и/или предупреждения, относящиеся к
- 25 использованию таких лекарственных средств и т.д.

[0077] Термин «лечение», используемый в данном документе, относится к клиническому вмешательству, направленному на изменение естественного развития индивидуума или клетки, которые подвергается лечению в течение клинической патологии. Желаемое воздействие лечения включают уменьшение скорости

- 30 прогрессирования заболевания, улучшение или уменьшение болезненного состояния, и ремиссию или улучшение прогноза у больных. Например, индивидуум успешно «лечится», если один или более симптомов, связанных с раком минимизированы или устранены, включая, без ограничений, уменьшение пролиферации (или уничтожение) раковых клеток, уменьшение симптомов, вызванных заболеванием, повышение качества
- 35 жизни людей, страдающих от этой болезни, снижение доз других лекарственных средств, необходимых для лечения заболевания, замедление прогрессирования заболевания, и/или продление срока выживания индивидуума.

[0078] Термин «замедление прогрессирование болезни», используемый в данном документе, означает замедлить, воспрепятствовать, сдержать, затормозить,

- 40 стабилизировать и/или отсрочить развитие заболевания (например, рака). Это замедление может быть разным по продолжительности, в зависимости от истории болезни и/или индивидуума, которого лечат. Как очевидно специалисту в данной области техники достаточное или значительное замедление может фактически включать профилактические меры, в том смысле, что у индивидуума не будет развиваться болезнь.
- 45 Например, поздняя стадия рака, такая как развитие метастаз, может быть отсрочена.

[0079] «Уменьшение или ингибирование рецидива рака», используемое в данном документе, относится к уменьшению или ингибированию опухоли или рецидиву рака или опухоли или прогрессированию рака. Используемый в данном документе, рецидив

рака и/или прогрессирование рака включает, без ограничений, метастазирование рака.

[0080] «Эффективное количество» представляет собой по меньшей мере минимальную концентрацию, необходимую для поддающегося измерению улучшения или профилактики конкретного заболевания. Эффективное количество в данном документе

5 может варьироваться в зависимости от таких факторов, как состояние болезни, возраст, пол и масса пациента и от способности антитела вызывать желаемый ответ у индивидуума. Эффективное количество является таким, для которого любые токсические или вредные эффекты лечения перевешиваются терапевтически благоприятными эффектами. Для профилактического применения, благоприятные или желаемые

10 результаты включают результаты, такие как устранение или снижение риска, уменьшения тяжести или задержки начала заболевания, в том числе биохимические, гистологические и/или поведенческие симптомы заболевания, его осложнения и промежуточные патологические фенотипы, присутствовавшие при развитии заболевания. Для терапевтического применения, благоприятные или желаемые результаты включают

15 клинические результаты, такие как уменьшение одного или более симптомов, в результате заболевания, повышения качества жизни людей, страдающих от этой болезни, уменьшение дозы других лекарственных средств, необходимых для лечения заболевания, усиление эффекта другого препарата, среди которых таргетинг, замедление прогрессирования заболевания, и/или продление срока выживания индивидуума. В

20 случае рака или опухоли эффективное количество лекарственного средства может иметь эффект в снижении количества раковых клеток; уменьшении размера опухоли; ингибирирование (т.е. замедлить до некоторой степени или желательно остановить) инфильтрации раковых клеток в периферические органы; ингибирировании (т.е. замедлить до некоторой степени и желательно остановить) метастазирование опухоли;

25 ингибирирование до некоторой степени роста опухоли; и/или облегчение до некоторой степени одного или более симптомов, связанных с расстройством. Эффективное количество можно вводить в один или более приемов. Для целей настоящего изобретения эффективное количество лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции представляет собой количество, достаточное для достижения

30 профилактического или терапевтического воздействия, или непосредственно, или косвенно. Как понимается в клиническом контексте эффективное количество лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции может или не может быть достигнуто в комбинации с другим препаратом, соединением или фармацевтической композицией. Таким образом, «эффективное количество» может

35 рассматриваться в контексте введения одного или более терапевтических агентов, и один агент может рассматриваться как получаемый в эффективном количестве, если в комбинации с одним или более другими агентами желаемый результат может быть достигнут.

[0081] «В сочетании с», используемое в данном документе, относится к применению 40 одного способа лечения в дополнение к другому способу лечения. Таким образом, «в сочетании с» относится к применению одного способа лечения до, во время или после применения другого способа лечения к индивидууму.

[0082] Термин «полный ответ» или «CR», используемый в данном документе, относится к исчезновению всех целевых поражений; «частичный ответ» или «PR» 45 относится по меньшей мере к 30% уменьшению суммы наибольших диаметров (SLD) целевых поражений, принимая в качестве контроля базовый SLD; и «стабилизация заболевания» или «SD» относится ни к достаточному уменьшению целевых поражений, чтобы относится к PR, ни к достаточному увеличению, чтобы относится к PD, принимая

в качестве контроля наименьший SLD с начала лечения.

[0083] Термин «прогрессирующее заболевание» или «PD», используемый в данном документе, относится по меньшей мере к увеличению SLD целевых поражений на 20%, принимая в качестве контроля наименьший SLD, отмечавшийся с начала лечения или

5 наличие одного, или более новых поражений.

[0084] Термин «выживаемость без прогрессирования» (PFS), используемый в данном документе, относится к отрезку времени во время и после лечения, при котором заболевание, подлежащее лечению (например, рак) не усугубляется. Выживаемость без прогрессирования может включать количество времени, при котором пациенты

10 испытывали полный ответ или частичный ответ, а также количество времени, при котором пациенты испытывали стабилизацию заболевания.

[0085] Термин «частота общего ответа» (ORR), используемый в данном документе, относится к сумме частоты полного ответа (CR) и частоты частичного ответа (PR).

[0086] «Общая выживаемость», используемая в данном документе, относится к

15 проценту индивидуумов в группе, которые, вероятно, останутся в живых после определенного периода времени.

[0087] «Химиотерапевтический агент» представляет собой химическое соединение, используемое для лечения рака. Примеры химиотерапевтических агентов включают алкилирующие агенты, такие как тиотепа и циклофосфамид (CYTOXAN®);

20 алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импрусульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая алтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентиофосфорамид и триметилолмеламин; ацетогенины (особенно буллатацин и буллатацинол); дельта-9-тетрагидроканнабинол (дронабинол, MARINOL®); бета-25 лапакон; лапахол; колхицины; бетулиновая кислота; камптокецин (включая синтетический аналог топотекан (HYCAMTIN®), CPT-11 (иринотекан, CAMPTOSAR®), ацетилкамптокецин, скополетин, и 9-аминокамптокецин); бриостатин; пеметрексед; включающей каллистатин; СС-1065 (включая его синтетические аналоги адозелезин, карзелезин и бизелезин); подофиллотоксин; подофиллиновая кислота; тенипозид;

30 криптофицины (в частности, криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (включая синтетические аналоги, KW-2189 и CB1-TM1); элеутеробин; панкратистатин; ТЛК-286; CDP323, ингибитор перорального альфа-4-интегрина; саркодиктин; спонгистатин; азотистый иприт, такой как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, гидрохлорид оксида мехлорэтамина, мелфалан, 35 новембихин, фенэстерин, преднимустин, трофосфамид, урациловый иприт; производные нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие как энедииновые антибиотики (например, калихимицин, особенно калихимицин гамма1I и калихимицин омега1I (см, например, Nicolaou et al., Angew. Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)); динемицин, включая

40 динемицин A; эксперамицин; а также хромофор неокарциностатина и родственные хромопротеиновые эндиеновые антибиотические хромофоры), аклациномизины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, дактиномицин, карабицин, карминомицин, карцинофилин, хромомицины, дактиномицином, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин (включая ADRIAMYCIN®,

45 морфолинодоксорубицин, цианоморфолинодоксорубицин, 2-пирролинодоксорубицин, введение липосом доксорубицин-HCl (DOXIL®) (инъекции) и дезоксидоксорубицин), эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марцеломицин, митомицины, такие как митомицин С, миофеноловая кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфиромицин,

пуромицин, квеламицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убениМЕКс, зиностатин, зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат, гемцитабин (GEMZAR®), тегафур (UFTORAL®), капцитабин (XELODA®), эпотилона и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, 5-триметрексат; пуриновые аналоги, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азаситидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, ди-деоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин и иматиниб (производное 2-фениламинопиримидин), а также другие ингибиторы рецепторной тирозинкиназы, продукта гена KIT; средства, угнетающие функции надпочечников, такие как аминоглютетимид, митотан, трилостан; компенсаторы фолиевой кислоты, такие как фолиновая кислота; ацеглатон; гликозид алдофосфамида; аминолевулиновая кислота; энилурацил; амсакрин; бестрабуцил; бизантрен; эдатраксат; дефофамин; демЕКолицин; диазиквон; эльфорнитин; эллиптиум ацетат; этоглюцид; нитрат галлия; гидроксимочевина; лентинан; лонидайнин; майтанзиноиды, такие как 10 майтанзин и ансамитоцины; митогуазон; митоксанtron; мопиданмол; нитраэрин; пентостатин; фенамет; пирапубицин; лозоксанtron; 2-этилгидразид; прокарбазин; полисахаридный комплекс PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); разоксан; ризоксин; сизофиран; спирогерманий; тенуазоновая кислота; триазиквон; 2,2', 2"-трихлортриэтиламин; трихотецины (особенно токсин Т-2, верракурин А, роридин А и 15 ангуидин); уретан; винdezин (ELDISINE®, FILDESIN®); дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипобромуан; гацитозин; арабинозид («Ara-C»); тиотепа; таксоиды, например, паклитаксел (TAXOL®), препарат, созданный на основе альбумина наночастиц паклитаксела (ABRAXANETM), и доцетаксел (TAXOTERE®); хлоранбуцил; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин и 20 карбоплатин; винбластин (VELBAN®); платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксанtron; винкристин (ONCOVIN®); оксалиплатина; фолиновая кислота; винорелбин (NAVELBINE®); новантрон; эдатрексат; дауномицин; аминоптерин; ибандронат; ингибитор топоизомеразы RFS 2000; дифторметилорнитин (DMFO); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; их фармацевтически приемлемые соли, кислоты или 25 производные любого из указанного выше значения, а также комбинации, двух или более из указанных выше, такие как CHOP - аббревиатура для комбинированной терапии циклофосфамидом, доксорубицином, винкристином и преднизолон, и FOLFOX - аббревиатура для схемы лечения с оксалиплатином (ELOXATIN TM) в комбинации с 5-FU и фолиновой кислотой.

30 [0088] Дополнительные примеры химиотерапевтических агентов включают антигормональные препараты, которые регулируют, уменьшают, блокируют или ингибируют действие гормонов, которые могут стимулировать рост рака, и часто в виде системной терапии или на уровне всего тела. Они могут быть сами гормонами. Примеры включают антиэстрогены и селективные модуляторы рецепторов эстрогена (SERM), в том числе, например, тамоксифен (включая тамоксифен NOLVADEX®), 35 ралоксифен (EVISTA®), дролоксифен, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онастистон и торемифен (FARESTON®); антипрогестероны; ингибиторы рецепторов эстрогена (ERDs); антагонисты рецепторов эстрогена, такие как фулвестрант (Faslodex®); агенты, которые функционируют, чтобы подавить или прекратить 40 функционирование яичника, например, агонисты рилизинг-гормона лутеинизирующего гормона (LHRH), такие как лейпролидацетат (LUPRON® и ELIGARD®), ацетат гозерелина, ацетат бузерелина и триптерелин; антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид и бикалутамид; и ингибиторы ароматазы, ингибирующие фермент ароматазы, 45

который регулирует выработку эстрогена в надпочечниках, такие как, например, 4 (5)-имидазолы, аминоглютетимид, мегестролацетат (MEGASE®), экземестан (AROMASIN®), форместан, фадрозол, ворозол (RIVISOR®), летрозол (FEMARA®) и анастрозол (ARIMIDEX®). Кроме того, такое определение химиотерапевтических агентов включает 5 бисфосфонаты, такие как клодронат (например, BONEFOS® или OSTAC®), этидронат (DIDROCAL®), CB-58095, золедроновая кислота/золедронат (Zometa®), алендронат (FOSAMAX®), памидронат (Aredia®), тилудронат (SKELID®) или ризедронат (Actonel®); а также троксаситабин (1,3-диоксолановый аналог нуклеозина цитозина); 10 антисмыловые олигонуклеотиды, в частности те, которые ингибируют экспрессию генов сигнальных путей, вовлеченных в пролиферацию адгезивных клеток, таких как, например, РКС-альфа, Raf, H-Ras, и рецептор эпидермального фактора роста (EGF-R); вакцины, такие как вакцины THERATOPE®, и вакцины для генной терапии например, вакцина ALLOVECTIN®, вакцина LEUVECTIN® и вакцина VAXID®; ингибитор топоизомеразы 1(например, LURTOTECAN®); антиэстроген, такой как фулвестврант; 15 ингибитор Kit, такой как иматиниб или EXEL-0862 (ингибитор тирозинкиназы); ингибитор EGFR, такие как эрлотиниб или цетуксимаб; ингибитор анти-VEGF, такой как бевацизумаб; аринотекан; rmRH (например, ABARELIX®); лапатиниб и лапатиниб дитозилат (двойной низкомолекулярный ингибитор тирозинкиназы ErbB-2 и EGFR, также известный как GW572016); 17AAG (производное гелданамицина, который 20 представляет собой белок теплового шока 90 (Hsp90)), и их фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеуказанного.

[0089] Термин «цитокин», используемый в данном документе, обобщенно относится к белкам, высвобождаемым одной популяцией клеток, которые действуют на другие клетки как межклеточные медиаторы, или имеют аутокринное действие на клетки, 25 производящие белки. Примеры таких цитокинов включают лимфокины, монокины; интерлейкины («ИЛ»), такие как ИЛ-1, ИЛ-1 α , ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9, ИЛ-10, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17A-F, от ИЛ-18 до ИЛ-29 (например, ИЛ-23), ИЛ-31, включая PROLEUKIN® рекомбинантный ИЛ-2; фактор некроза опухоли, такой как ФНО- α или ФНО- β , ФНО- β 1-3; и другие полипептидные 30 факторы, включая фактор, ингибирующий лейкемию («LIF»), цилиарный нейротрофический фактор («CNTF»), CNTF-подобный цитокин («CLC»), кардиотрофин («CT»), а также лиганд kit («KL»).

[0090] Термин «хемокин», используемый в данном документе, относится к растворимым факторам (например, цитокины), которые обладают способностью 35 селективно индуцировать хемотаксис и активацию лейкоцитов. Они также вызывают процессы ангиогенеза, воспаления, заживления ран, и онкогенеза. Например, хемокины включают ИЛ-8 - человеческий гомолог мышиного хемоаттрактанта кератиноцитов (KC).

[0091] Используемые в данном документе и в прилагаемой формуле изобретения, 40 формы единственного числа включают формы множественного числа, если из контекста явно не следует иное.

[0092] Ссылка на «около» значение или показатель в данном документе включает (и описывает) варианты, которые направлены к этому значению или показателю, по существу. Например, описание со ссылкой на «около X» включает описание «X».

[0093] Термин «алкил», используемый в данном документе, относится к насыщенному линейному или с разветвленной цепью одновалентному углеводородному радикалу, содержащему от одного до двенадцати атомов углерода. Примеры алкильных групп включают, без ограничений, метил (Me, -CH₃), этил (Et, -CH₂CH₃), 1-пропил (n-Pr, n-

пропил, -CH₂CH₂CH₃), 2-пропил (i-Pr, i-пропил, -CH(CH₃)₂), 1-бутил (n-Bu, n-бутил, -CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-метил-1-пропил (i-Bu, i-бутил, -CH₂CH(CH₃)₂), 2-бутил (s-Bu, s-бутил, -CH(CH₃)CH₂CH₃), 2-метил-2-пропил (t-Bu, t-бутил, -C(CH₃)₃), 1-пентил (n-пентил, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-пентил (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃), 3-пентил (-CH(CH₂CH₃)₂), 2-

5 метил-2-бутил (-C(CH₃)₂CH₂CH₃), 3-метил-2-бутил (-CH(CH₃)CH(CH₃)₂), 3-метил-1-бутил (-CH₂CH₂CH(CH₃)₂), 2-метил-1-бутил (-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃), 1-гексил (-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-гексил (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₃), 3-гексил (-CH(CH₂CH₃)₂), 2-метил-2-пентил (-C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₃), 3-метил-2-пентил (-CH(CH₃)CH(CH₃)₂), 4-метил-2-пентил (-CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)₂), 3-метил-3-пентил (-CH(CH₃)₂CH₂CH₃), 2-метил-3-пентил (-CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)₂), 2,3-диметил-2-бутил (-C(CH₃)₂CH(CH₃)₂), 3,3-диметил-2-бутил (-CH(CH₃)C(CH₃)₃, 1-гептил, 1-октил, и тому подобное.

10 [0094] Термин «алкенил» относится к линейному или с разветвленной цепью одновалентному углеводородному радикалу, содержащему от двух до двенадцати атомов углерода, по меньшей мере один сайт ненасыщенности, т.е. углерод-углерод, sp²-двойную связь, в котором алкенильный радикал включает радикалы, имеющие ориентации «цис» и «транс», или в качестве альтернативы, ориентации «E» и «Z». Примеры включают, без ограничений, этиленил или винил (-CH=CH₂), аллил (-CH₂CH=CH₂) и т.п.

20 [0095] Термин «алкинил» относится к линейному или разветвленному одновалентному углеводородному радикалу, содержащему от двух до двенадцати атомов углерода с по меньшей мере одной ненасыщенной связью, т.е. углерод-углерод, sp тройной связью. Примеры включают, без ограничений, этинил (-C≡CH), пропинил (пропаргил, -CH₂C≡CH), и тому подобное.

25 [0096] Термины «карбоцикл», «карбоциклиз», «карбоциклическое кольцо» и «циклоалкил» относится к одновалентному неароматическому, насыщенному или частично ненасыщенному циклу, содержащему от 3 до 12 атомов углерода в виде моноциклического кольца, или от 7 до 12 атомов углерода в виде бициклического кольца. Бициклические карбоциклы, имеющие от 7 до 12 атомов могут быть расположены, например, как бицикло[4,5], [5,5], [5,6] или [6,6] система, а также бициклические карбоциклы, имеющие 9 или 10 кольцевых атомов могут быть организованы в виде бицикло[5,6] или [6,6] систем, или как мостиковые системы, такие, как [2,2,1]гептан, бицикло[2,2,2]октан и бицикло[3,2,2]нонан. Примеры моноциклических карбоциклов включают, без ограничений, циклопропил, циклобутил, циклопентил, 1-цикlopент-1-енил, 1-цикlopент-2-енил, 1-цикlopент-3-енил, циклогексил, 1-циклогексен-1-енил, 1-циклогексен-2-енил, 1-циклогексен-3-енил, циклогексадиенил, циклогептил, циклооктил, циклононил, циклодецил, циклоундекил, циклододекил, и тому подобное.

30 [0097] «Арил» означает одновалентный ароматический углеводородный радикал, содержащий 6-18 атомов углерода, полученные удалением одного атома водорода от одного атома углерода исходной ароматической кольцевой системы. Некоторые арильные группы представлены в иллюстративных структурах как «Ar». Арил включает бициклические радикалы, содержащие ароматическое кольцо, конденсированное с насыщенным, частично ненасыщенным кольцом или ароматическим карбоциклическим или гетероциклическим кольцом. Типичные арильные группы включают, без ограничений, радикалы, образованные из бензола (фенил), замещенные бензолы, нафталин, антрацен, инденил, инданил, 1,2-дигидронафталин, 1,2,3,4-тетрагидронафтил и тому подобное.

35 [0098] Термины «гетероцикл», «гетероциклиз» и «гетероциклическое кольцо»

используются в данном документе взаимозаменямо и относятся к насыщенному или частично ненасыщенному (т.е. имеющему одну или более двойных и/или тройных связей в кольце) карбоциклическому радикалу из 3 до 18 кольцевых атомов в которых по меньшей мере один кольцевой атом представляет собой гетероатом, выбранный из

- 5 азота, кислорода и серы, а остальные кольцевые атомы представляют собой С, где один или более кольцевых атомов необязательно замещены независимо одним или более заместителями, описанными ниже. Гетероцикл может быть моноциклом, содержащим от 3 до 7 членов кольца (от 2 до 6 атомов углерода и от 1 до 4 гетероатомов, выбранных из N, O, P и S) или бициклом, содержащим от 7 до 10 кольцевых членов (от 4 до 9 атомов
- 10 углерода, и от 1 до 6 гетероатомов, выбранных из N, O, P и S), например: бицикло[4,5], [5,5], [5,6], или [6,6] система. Гетероциклы описаны Paquette, Leo A.; «Principles of Modern Heterocyclic Chemistry» (W.A. Benjamin, New York, 1968), в частности в главах 1, 3, 4, 6, 7 и 9; «The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs» (John Wiley & Sons, New York, с 1950 по настоящее время), в частности в томах 13, 14, 16, 19, и 28; и J. 15 Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566. «Гетероциклик» также включает радикалы, где гетероциклические радикалы конденсированы с насыщенным, частично ненасыщенным кольцом или ароматическим карбоциклическим, или гетероциклическим кольцом. Примеры гетероциклических колец включают, без ограничений, пирролидинил, тетрагидрофуранил, дигидрофуранил, тетрагидротиенил, тетрагидропирианил,
- 20 дигидропирианил, тетрагидротиопирианил, пиперидинил, морфолинил, тиоморфолинил, тиоксанил, пиперазинил, гомопиперазинил, азетидинил, оксетанил, тиетанил, гомопиперидинил, оксепанил, тиепанил, оксазепинил, диазепинил, тиазепинила, 2-пирролинил, 3-пирролинил, индолинил, 2Н-пиранил, 4Н-пиранил, диоксанил, 1,3-диоксоланил, пиразолинил, дитианил, дитиоланил, дигидропирианил, дигидротиенил,
- 25 дигидрофуранил, пиразолидинилимидазолинил, имидазолидинил, 3-азабицикло[3,1,0]гексанил, 3-азабицикло[4,1,0]гептанил, и азабицикло[2,2,2]гексанил. Фрагменты спиро также включены в объем данного определения. Примеры гетероциклической группы, в которых кольцевые атомы замещены группами оксо (=O) являются пиридинонил и 1,1-диоксотиоморфолинил.
- 30 [0099] Термин «гетероарил» относится к одновалентному ароматическому радикалу, содержащему 5- или 6-кольцевых членов, и включает слитые кольцевые системы (по меньшей мере один из которых является ароматическим) 5-18 атомов, содержащие один или более гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. Примерами гетероарильных групп являются пиридинил (в том числе, например, 2-гидроксипиридинил), имидазолил, имидазопиридинил, пиридинонил (в том числе, например, 4-гидроксипиридинонил), пиразолил, триазолил, пиразинил, тетразолил, фурил, тиенил, изоксазолил, тиазолил, оксазолил, тиазолил, пирролил, хинолинил, изохинолинил, индолил,ベンзимидазолил,ベンзофуранил,циннолинил, индазолил, индолизинил, фталазинил, пиридазинил, триазинил, изоиндолил, птеридинил, пуринил,
- 35 оксадиазолил, триазолил, тиадиазолил, фуразанил,ベンзофуразанил,ベンゾтиофенил,ベンゾтиазолил,ベンзоксазолил,хиназолинил,хиноксалинил,нафтиридинил, и фуропиридинил.
- 40 Гетероциклические или гетероарильные группы могут быть присоединены, где такое возможно, через углерод (углерод-связанный) или азот (азот-связанный). В качестве неограничивающего примера углеродные гетероциклы или гетероарилы соединены в положении 2, 3, 4, 5, или 6 пиридина, положении 3, 4, 5, или 6 пиридазина, положении 2, 4, 5, или 6 пиридинона, положении 2, 3, 5, или 6 пиразина, положении 2, 3, 4, или 5 фурана, тетрагидрофурана, тиофурана, тиофена, пиррола или тетрагидропиррола,

положении 2, 4, или 5 оксазола, имидазола или тиазола, положении 3, 4 или 5 изоксазола, пиразола или изотиазола, положении 2 или 3 азиридина, положении 2, 3, или 4 азетидина, положении 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 хинолина или положении 1, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 изохинолина.

В качестве неограничивающего примера азотные гетероциклы или гетероарилы

5 соединены в положении 1 азиридина, азетидина, пиррола, пирролидина, 2-пирролина, 3-пирролина, имидазола, имидазолидина, 2-имидаэзолина, 3-имидаэзолина, пиразола, пиразолина, 2-пиразолина, 3-пиразолина, пиперидина, пиперазина, индола, индолина, 1Н-индазола, положении 2 изоиндола или изоиндолина, положении 4 морфолина и положении 9 карбазола, или β-карболина.

10 Гетероатомы, присутствующие в гетероариле или гетероциклиле включают окисленные формы, такие как $\text{N}+\rightarrow\text{O}-$, $\text{S}(\text{O})$ и $\text{S}(\text{O})2$.

Термин «галоген» относится к F, Cl, Br или I.

15 Термин «фармацевтически приемлемая соль», используемый в данном документе, относится к фармацевтически приемлемым органическим или неорганическим солям соединения согласно настоящему изобретению. Иллюстративные соли включают, без ограничений, сульфат, цитрат, ацетат, оксалат, хлорид, бромид, иодид, нитрат, бисульфат, фосфат, кислый фосфат, изоникотинат, лактат, салицилат, кислый цитрат, тартрат, олеат, таннат, пантотенат, битартрат, аскорбат, сукцинат, малеат, гентизинат, фумарат, глюконат, глюкуронат, сахарат, формиат, бензоат, глутамат, метансульфонат «мезилат», этансульфонат, бензолсульфонат, р-толуолсульфонат, памоат (то есть, 1,1'-метилен-бис-(2-гидрокси-3-нафтоат)), соли щелочных металлов (например, натрия и калия), соли щелочно-земельных металлов (например, магния), соли аммония.

20 Фармацевтически приемлемая соль может включать присоединение другой молекулы, такой как ацетат-ион, ион сукцината или другой противоион. Противоион может быть любым органическим или неорганическим фрагментом, который стабилизирует заряд в исходном соединении. Кроме того, фармацевтически приемлемая соль может иметь более чем один заряженный атом в своей структуре. В тех случаях, когда множество заряженных атомов являются частью фармацевтически приемлемой соли, она может иметь несколько противоионов. Следовательно, фармацевтически приемлемая соль

30 может иметь один или более заряженных атомов и/или один или более противоионов.

Если соединение согласно настоящему изобретению представляет собой основание, то необходимая фармацевтически приемлемая соль может быть получена любым подходящим способом, доступным в данной области техники, например, обработкой свободного основания неорганической кислотой, такой как соляная кислота,

35 бромистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота, метансульфоновая кислота, фосфорная кислота и тому подобное, или органической кислотой, такой как уксусная кислота, малеиновая кислота, янтарная кислота, миндальная кислота, фумаровая кислота, малоновая кислота, пировиноградная кислота, щавелевая кислота, гликолевая кислота, салициловая кислота, пираносидиловая кислота, такие как

40 глюкуроновая кислота или галактуроновая кислота, альфагидроксикислота, такая как лимонная кислота или винная кислота, аминокислота, такая как аспарагиновая кислота или глутаминовая кислота, ароматическая кислота, такая как бензойная кислота или коричная кислота, сульфоновая кислота, такая как р-толуолсульфоновая кислота или этансульфоновая кислота, или тому подобное.

45 Если соединение согласно настоящему изобретению представляет собой кислоту, необходимая фармацевтически приемлемая соль может быть получена любым подходящим способом, например, обработкой свободной кислоты неорганическим или органическим основанием, таким как амин (первичный, вторичный или третичный),

гидроксидом щелочного металла или гидроксидом щелочноземельного металла или тому подобное. Иллюстративные примеры подходящих солей включают, без ограничений, органические соли, полученные из аминокислот, такие как глицин и аргинин, аммиак, первичные, вторичные и третичные амины, а также циклические амины, такие как пиперидин, морфолин и пиперазин, и неорганические соли, полученные из натрия, кальция, калия, магния, марганца, железа, меди, цинка, алюминия и лития.

5 Термин «фармацевтически приемлемый» означает, что вещество или композиция должны быть совместимы химически и/или токсикологически с другими ингредиентами, которые содержатся в лекарственном препарате, и/или млекопитающим, которое 10 подлежит лечению.

15 Термин «сольват» относится к ассоциации или комплексу одной или более молекул растворителя и соединения согласно настоящему изобретению. Примеры растворителей, которые образуют сольваты, включают, без ограничений, воду, изопропанол, этанол, метанол, ДМСО, этилацетат, уксусную кислоту и этаноламин. Термин «гидрат» относится к комплексу, в котором молекула растворителя представляет собой воду.

Следует понимать, что аспекты и варианты согласно изобретению, описанные в данном документе, включают «состоящий из» и «состоящий по существу из» аспектов и вариантов.

III. Способы

20 В одном из аспектов в данном документе предложен способ лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора MEK.

Способы согласно настоящему изобретению могут найти применение в лечении 25 состояний, при которых желательно повышение иммуногенности такое как повышение иммуногенности опухоли для лечения рака. Различные виды рака можно лечить, или можно отсрочить их прогрессирование, в том числе, без ограничений, рака, который может содержать мутацию B-raf V600E, рака, который может содержать B-raf дикого типа, рака, который может содержать KRAS дикого типа, или рака, который может 30 содержать активирующую мутацию KRAS.

В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает раком или подвержен риску развития рака, который устойчив к антагонисту B-raf. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум ранее проходил лечение антагонистом B-raf против рака. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум ранее 35 не проходил лечение антагонистом B-raf. B-raf представляет собой серинтреонинкиназу, как известно, часто мутирует при раке, например, злокачественной меланоме, раке толстой и прямой кишки, яичника и щитовидной железы. Как правило, мутации B-raf, наблюдаемые при раке включают активирующие мутации, такие как мутации V600E. Не желая быть связанным теорией, полагают, что активирующие мутации в B-raf 40 способствуют дерегуляции сигналинга МАРК/ERK, что приводит к пролиферации опухолевых клеток и выживаемости.

Несмотря на то, что антагонисты B-raf (например, ингибиторы B-raf), как известно, приводят к эффективному краткосрочному повышению выживаемости пациентов и регрессии опухоли, часто наблюдается устойчивость к ингибированию B-raf (см., 45 например, Tentori, L., et al. Trends Pharmacol. Sci. 34(12):656-66 (2013)). Устойчивость к ингибированию B-raf может быть охарактеризована многочисленными явлениями. В некоторых вариантах реализации изобретения устойчивость к ингибированию B-raf может быть охарактеризована одной или более реактивацией сигнального пути МАРК,

активацией PI3K, повышением уровня CRAF, мутацией NRAS, сверхэкспрессией PDGFR, сверхэкспрессией COT1, сверхэкспрессией IGFR-1, мутацией MEK1, экспрессией HGF, сверэкспрессией PD-L1, мутацией MEK2, локальной амплификацией фактора транскрипции MITF, мутацией AKT (например, AKT1 или AKT3), амплификацией B-raf, и образованием димеров RAF (например, димеров CRAF/CRAF, димеров CRAF/B-raf, и мутированным димеризованным B-raf, таким как B-raf, лишенным 4-8 экзонов).

В некоторых вариантах реализации изобретения устойчивость к ингибиованию B-raf может относиться к раковой клетке или опухоли, которая является резистентной к ингибиованию B-raf. Устойчивость к ингибиованию B-raf используется в данном

10 документе в самом широком смысле и может включать любые раковые клетки, которые предварительно или как могут быть чувствительны к ингибиованию B-raf посредством какого-либо конкретного механизма или какой-либо конкретной дозы антагониста B-raf согласно настоящему раскрытию. Устойчивость к ингибиованию B-raf может относиться к активности B-raf в присутствии антагониста B-raf. Устойчивость к 15 ингибиованию B-raf может относиться к клетке, которая в присутствии антагониста B-raf, не будет расти в таких условиях, вне зависимости от ферментативной активности B-raf, которая может присутствовать.

В некоторых вариантах реализации изобретения антагонист B-raf представляет собой 20 низкомолекулярный ингибитор, антитело, пептид, пептидомиметик, аптамер или полинуклеотид.

В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум ранее проходил лечение антагонистом B-raf. В некоторых вариантах реализации изобретения антагонист B-raf может включать вемурафениб (также известный как Zelboraf®), дабрафениб (также известный как Tafinlar®), LGX818, GSK 2118436, RAF265, XL281, ARQ736, BAY73-4506, 25 сорафениб, PLX4720, PLX-3603, GSK2118436, GDC-0879, или N-(3-(5-(4-хлорфенил)-1Н-пирроло[2,3-*b*]пиридин-3-карбонил)-2,4-дифторфенил)пропан-1-сульфонамид. В некоторых вариантах реализации изобретения антагонист B-raf может включать MLN2480, LY3009120, ингибитор MEK такой как траметиниб (также известный как Mekinist®), или ингибитор EGFR, такой как эрлотиниб (также известный как Tarceva®). 30 Подробные описания ингибиторов B-raf могут быть найдены в Zambon, A. et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 22(2):789-92 (2012); Tentori, L., et al. Trends Pharmacol. Sci. 34(12):656-66 (2013); и Martin-Liberal, J. and Larkin, J. Expert Opin. Pharmacother. 15(9):1235-45 (2014), WO2007/002325, WO2007/002433, WO2009111278, WO2009111279, WO2009111277, WO2009111280 и патент США № 7491829.

35 В некоторых вариантах реализации изобретения антагонист B-raf представляет собой селективный B-raf антагонист B-raf V600. В некоторых вариантах реализации изобретения селективный B-raf антагонист B-raf V600 представляет собой селективный антагонист B-raf V600E. В некоторых вариантах реализации изобретения селективный B-raf антагонист B-raf V600 представляет собой селективный антагонист B-raf V600E, B-raf 40 V600K, и/или V600D. В некоторых вариантах реализации изобретения селективный B-raf антагонист B-raf V600 представляет собой селективный антагонист B-raf V600R. Способы получения и исследования антагонистов B-raf, которые являются селективными в отношении B-raf V600, были описаны в данной области техники; см., например, Tsai, J, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 105(8):3041-6 (2008).

45 В некоторых вариантах реализации изобретения рак содержит мутацию BRAF V600E, BRAF дикого типа, KRAS дикого типа или активирующую мутацию KRAS. Способы детектирования присутствия таких мутаций, могут включать, без ограничений, ПЦР, секвенирование по Сенгеру, использование специфических к мутации антител, и тому

подобное. Способы определения экспрессии раком B-raf V600 известны в данной области техники, включая, без ограничений, набор для анализа мутации B-raf V600 COBAS® 4800 (Roche).

В некоторых вариантах реализации изобретения рак пациента продемонстрировал

5 экспрессию биомаркера B-raf. В некоторых вариантах реализации изобретения биомаркер B-raf представляет собой мутантный B-raf. В некоторых вариантах реализации изобретения мутантный B-raf представляет собой B-raf V600. В некоторых вариантах реализации изобретения B-raf V600 представляет собой B-raf V600E. В некоторых вариантах реализации изобретения мутантный B-raf является конститутивно активным.

10 В некоторых вариантах реализации изобретения рак у пациента прогрессировал в течение терапии антагонистом B-raf (т.е. пациент является «B-raf-рефрактерным»), или у пациента прогрессировал в течение 1 месяца, 2 месяцев, 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев или более после прохождения курса лечения антагонистом B-raf.

15 В некоторых вариантах реализации изобретения вемурафениб-резистентный рак означает, что рак у пациента прогрессировал во время прохождения курса лечения вемурафенибом (т.е. пациент является «вемурафениб-рефрактерным»). В некоторых вариантах реализации изобретения рак у пациента прогрессировал в течение 1 месяца, 2 месяцев, 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 20 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев или более после завершения прохождения курса лечения вемурафенибом. В некоторых вариантах реализации изобретения рак у индивидуума прогрессировал в течение 1 месяца, 2 месяцев, 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 1 год, 2 лет, 3 лет, 4 лет, или через 5 лет после завершения курса лечения антагонистом B-raf.

25 В некоторых вариантах реализации изобретения лечение приводит к устойчивому ответу индивидуума после прекращения лечения.

В некоторых вариантах реализации изобретения устойчивость, например, ингибитора B-raf развивается (приобретается) после лечения антагонистом B-raf. В других вариантах реализации изобретения пациент (например, пациент, страдающий B-raf-резистентным 30 раком) ранее не проходил лечение антагонистом B-raf.

35 В некоторых вариантах реализации изобретения пациент в настоящее время проходит лечение антагонистом B-raf, таким как ингибитор B-raf. В некоторых вариантах реализации изобретения пациент ранее проходил лечение антагонистом B-raf. В некоторых вариантах реализации изобретения пациент ранее не проходил лечение антагонистом B-raf.

40 В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум имеет колоректальный рак, меланому, рак легкого, рак яичника, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, гемобластоз, рак мочевого пузыря и/или почечно-клеточную карциному. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает немелкоклеточным раком легкого. Немелкоклеточный рак легкого может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает мелкоклеточным раком легкого. Мелкоклеточный рак легкого может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает почечно-клеточным раком. Почечно-клеточный рак может быть на 45 ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает колоректальным раком. Колоректальный рак может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает раком яичника. Рак яичника может быть на ранней стадии или

на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает раком молочной железы. Рак молочной железы может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает раком поджелудочной железы. Рак поджелудочной железы может быть на ранней 5 стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает раком желудка. Рак желудка может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает раком мочевого пузыря. Рак мочевого пузыря может быть на ранней стадии или на 10 поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает раком пищевода. Рак пищевода может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает мезотелиомой. Мезотелиома может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых 15 вариантах реализации изобретения индивидуум страдает меланомой. Меланома может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает раком головы и шеи. Рак головы и шеи может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает раком щитовидной железы. Рак щитовидной железы может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум 20 страдает саркомой. Саркома может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает раком простаты. Рак простаты может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает глиобластомой. Глиобластома могут быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых 25 вариантах реализации изобретения индивидуум страдает раком шейки матки. Рак шейки матки может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает карциномой тимуса. Карцинома тимуса может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает лейкозом. Лейкоз может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум 30 страдает лимфомами. Лимфомы могут быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает миеломами. Миеломы могут быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает грибовидной гранулемой. Грибовидная гранулема может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах 35 реализации изобретения индивидуум страдает раком из клеток Меркеля. Рак из клеток Меркеля может быть на ранней стадии или на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум страдает гемабластозами. Гемабластозы могут быть на ранней стадии и на поздней стадии. В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум представляет собой человека. В некоторых вариантах 40 реализации изобретения рак является метастатическим.

В некоторых вариантах реализации изобретения индивидуум представляет собой млекопитающее, такое как одомашненные животные (например, коровы, овцы, кошки, собаки и лошади), приматы (например, у человека и других приматов, таких как обезьяны), кролики, грызуны (например, мыши и крысы). В некоторых вариантах 45 реализации изобретения индивидуум, который лечится, представляет собой человека.

В другом аспекте в данном документе предложен способ усиления иммунной функции у индивидуума, страдающего раком, включающий введение эффективного количества антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора

МЕК.

В некоторых вариантах реализации изобретения CD8 Т-клетки у индивидуумов имеют повышенное примирение, активацию, пролиферативную и/или цитолитическую активность относительно до введения антагониста, связывающегося с компонентом

- 5 сигнального пути PD-1, и ингибитора МЕК. В некоторых вариантах реализации изобретения примирение CD8 Т-клеток характеризуется повышением экспрессии CD44 и/или повышением цитолитической активности в CD8 Т-клетках. В некоторых вариантах реализации изобретения активация CD8 Т-клеток характеризуется увеличением количества γ -ИФН+ CD8 Т-клеток. В некоторых вариантах реализации изобретения
- 10 CD8 Т-клетка представляет собой антигенспецифическую Т-клетку. В некоторых вариантах реализации изобретения иммунный надзор путем сигналинга через экспрессию поверхностного PD-L1 ингибируется.

В некоторых вариантах реализации изобретения раковые клетки у индивидуумов имеют повышенную экспрессию антигена ГКГС I класса относительно до введения

15 антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора МЕК.

В некоторых вариантах реализации изобретения антигенпрезентирующие клетки у индивидуумов имели повышенную зрелость и активацию относительно до введения антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора

20 МЕК. В некоторых вариантах реализации изобретения антигенпрезентирующие клетки представляют собой дендритные клетки. В некоторых вариантах реализации изобретения созревание антигенпрезентирующих клеток характеризуется увеличением количества CD83+ дендритных клеток. В некоторых вариантах реализации изобретения активация антигенпрезентирующих клеток характеризуется повышенной экспрессией CD80 и

25 CD86 на дендритных клетках.

В некоторых вариантах реализации изобретения содержание в сыворотке крови цитокина ИЛ-10 и/или хемокина ИЛ-8, человеческого гомолога мышного КС, у индивидуума уменьшаются относительно до введения антитела анти-PD-L1 и ингибитора МЕК.

30 В некоторых вариантах реализации изобретения рак имеет повышенные уровни Т-клеточной инфильтрации.

В некоторых вариантах реализации комбинированная терапия согласно изобретению включает введение антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора МЕК. Антагонист, связывающийся с компонентом сигнального

35 пути PD-1, и ингибитор МЕК могут вводиться любым подходящим способом известным в данной области техники. Например, антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитор МЕК могут вводиться последовательно (в разное время) или параллельно (одновременно).

В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор МЕК вводят постоянно.

40 В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор МЕК вводят периодически. В некоторых вариантах ингибитор МЕК вводят перед введением антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор МЕК вводят одновременно с введением антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1. В некоторых вариантах

45 реализации изобретения ингибитор МЕК вводят после введения антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1.

В некоторых вариантах реализации изобретения предлагается способ лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума, включающий введение индивидууму

эффективного количества антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора MEK, дополнительно включающий проведение дополнительного лечения. Дополнительное лечение может быть лучевой терапией, хирургическим вмешательством (например, лампэктомия и мастэктомия),

- 5 химиотерапией, генной терапией, терапией ДНК, вирусной терапией, терапией РНК, иммунотерапией, трансплантацией костного мозга, нанотерапией, терапией моноклональными антителами, или комбинацией вышеупомянутого. Дополнительная терапия может быть в виде адьювантной или неоадьювантной терапии. В некоторых вариантах реализации изобретения дополнительная терапия представляет собой введение
- 10 низкомолекулярного ферментативного ингибитора или антиметастатического агента. В некоторых вариантах реализации изобретения дополнительная терапия представляет собой введение агентов, ограничивающих побочные эффекты, (например, агенты, предназначенные для уменьшения возникновения и/или выраженности побочных эффектов лечения, такие как агенты против тошноты и т. д.). В некоторых вариантах
- 15 реализации изобретения дополнительная терапия представляет собой лучевую терапию. В некоторых вариантах реализации изобретения дополнительная терапия представляет собой хирургическую операцию. В некоторых вариантах реализации изобретения дополнительная терапия представляет собой комбинацию лучевой терапии и хирургической операции. В некоторых вариантах реализации изобретения
- 20 дополнительная терапия представляет собой гамма-терапию. В некоторых вариантах реализации изобретения дополнительная терапия представляет собой терапию, нацеленную на сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR, ингибитор HSP90, ингибитор тубулина, ингибитор апоптоза, и/или хемопрофилактический агент. Дополнительная терапия может состоять из одного или более химиотерапевтических агентов, описанных
- 25 в данном документе выше.

Антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитор MEK могут быть введены с помощью того же пути введения или разными путями введения. В некоторых вариантах реализации изобретения антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, вводят внутривенно, внутримышечно, подкожно,

- 30 местно, перорально, трансдермально, внутрибрюшинно, интраорбитально, путем имплантации, путем ингаляции, интракальмально, интравентрикулярно, или интраназально. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK вводят внутривенно, внутримышечно, подкожно, местно, перорально, трансдермально, внутрибрюшинно, интраорбитально, путем имплантации, путем ингаляции, интракальмально,
- 35 интравентрикулярно или интраназально. Эффективное количество антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора MEK может назначаться для предотвращения или лечения болезни. Соответствующая дозировка антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора MEK может быть определена в зависимости от типа заболевания, подлежащего лечению,
- 40 типа антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора MEK, тяжести и течения заболевания, клинического состояния индивидуума, индивидуальной истории болезни и ответа на лечение, и по усмотрению лечащего врача.

Любой из антагонистов, связывающихся с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибиторов MEK известных в данной области техники или описанных ниже, могут

- 45 быть использованы в способах.

Антагонисты, связывающиеся с компонентом сигнального пути PD-1.

В данном документе предложен способ лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества

антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора МЕК. Например, антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, включает PD-1-связывающий антагонист, PD-L1-связывающий антагонист и PD-L2-связывающий антагонист. Альтернативные названия для «PD-1» включают CD279 и SLEB2. Альтернативные названия для «PD-L1» включают B7-H1, B7-4, CD274 и B7-H. Альтернативные названия для «PD-L2» включают B7-DC, Btdc, и CD273. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-1, PD-L1 и PD-L2 представляют собой человеческие PD-1, PD-L1 и PD-L2.

В некоторых вариантах реализации изобретения PD-1-связывающий антагонист

представляет собой молекулу, которая ингибитирует связывание PD-1 с его лигандом-партнером по связыванию. В конкретном аспекте лиганды-партнеры по связыванию PD-1 представляет собой PD-L1 и/или PD-L2. В другом варианте реализации изобретения PD-L1-связывающий антагонист представляет собой молекулу, которая ингибитирует связывание PD-L1 с его партнерами по связыванию. В конкретном аспекте партнеры по связыванию PD-L1 представляют собой PD-1 и/или B7-1. В другом варианте реализации изобретения PD-L2-связывающий антагонист представляет собой молекулу, которая ингибитирует связывание PD-L2 с его партнерами по связыванию. В конкретном аспекте PD-L2-связывающий партнер представляет собой PD-1. Антагонист может быть антителом, его антигенсвязывающим фрагментом, иммуноадгезином, гибридным белком или олигопептидом.

В некоторых вариантах реализации изобретения PD-1-связывающий антагонист представляет собой антитело анти-PD-1 (например, человеческое антитело, гуманизированное антитело или химерное антитело). В некоторых вариантах реализации изобретения антитело анти-PD-1 выбрано из группы, состоящей из MDX-1106

25 (ниволумаб, OPDIVO®), Merck 3745 (MK-3475, пембролизумаб, KEYTRUDA®), CT-011 (пидализумаб), MEDI-0680 (AMP-514), PDR001, REGN2810, BGB-108 и BGB-A317. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-1-связывающий антагонист представляет собой иммуноадгезин (например, иммуноадгезин, содержащий внеклеточную или PD-1-связывающую часть PD-L1 или PD-L2 слитую с константной 30 областью (например, Fc-область последовательности иммуноглобулина). В некоторых вариантах реализации изобретения PD-1-связывающий антагонист представляет собой AMP-224. В некоторых вариантах реализации изобретения PD-L1-связывающий антагонист представляет собой анти-PD-L1 антитело. В некоторых вариантах анти-PD-L1-связывающий антагонист выбран из группы, состоящей из YW243.55.S70, MPDL3280A 35 (атезолизумаб), MEDI4736 (дурвалумаб), MDX-1105 и MSB0010718C (авелумаб). MDX-1105, также известный как BMS-936559, представляет собой анти-PD-L1 антитело, описанные в WO2007/005874. Антитело YW243.55.S70 (последовательности областей тяжелых и легких цепей вариабельных показаны в SEQ ID №№: 20 и 21, соответственно) представляет собой анти-PD-L1, описанное в WO 2010/077634 A1. MEDI4736 представляет собой анти-PD-L1 антитело, описанное в WO2011/066389 и US2013/034559. MDX-1106, также известный как ниволумаб, MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558 или OPDIVO® 40 представляет собой антитело анти-PD-1, описанное в WO2006/121168. Мерк 3745, также известен как MK-3475, пембролизумаб, ламбролизумаб, KEYTRUDA®, или SCH-900475, представляет собой антитело анти-PD-1, описанное в WO2009/114335. CT-011, также 45 известный как hBAT или hBAT-1, представляет собой антитело анти-PD-1, описанное в WO2009/101611. AMP-224, также известный как B7-DCIg, представляет собой слитый PD-L2-Fc-растворимый рецептор, описанный в WO2010/027827 и WO2011/066342.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитело анти-PD-1 представляет

собой MDX-1106. Альтернативные названия для «MDX-1106» включает MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558 или ниволумаб. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой Ниволумаб (регистрационный номер CAS: 946414-94-4). В другом дополнительном варианте реализации изобретения предложено

изолированное антитело анти-PD-1, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи из SEQ ID NO:22 и/или вариабельную область легкой цепи, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной области из SEQ ID NO:23. В другом дополнительном варианте реализации изобретения предложено изолированное антитело анти-PD-1,

содержащее последовательность тяжелой цепи и/или легкой цепи, причем:

(а) последовательность тяжелой цепи имеет по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность последовательности

с последовательностью тяжелой цепи: QVQLVESGGGVVQPGRLRLDKASGITFSNS GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWY DGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRA EDTAVYYCATNDDYWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSGK (SEQ ID NO:22), или

(б) последовательность легкой цепи имеет по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность последовательности с последовательностью легкой цепи: EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA YQQKPGQAPRLLIYDASNRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWP RTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO:23).

Примеры антител анти-PD-L1 пригодных для способов согласно настоящему изобретению, и способы их получения описаны в патентной заявке PCT WO 2010/077634 A1, которая включена в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации изобретения антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, представляет собой анти-PD-L1 антитело. В некоторых вариантах реализации изобретения анти-PD-L1 антитело способно ингибировать связывание между PD-L1 и PD-1, и/или между PD-L1 и B7-1. В некоторых вариантах реализации изобретения анти-PD-L1 антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах реализации изобретения анти-PD-L1 антитело представляет собой фрагмент антитела, выбранный из группы, состоящей из фрагментов Fab, Fab'-SH, Fv, scFv и (Fab')2. В некоторых вариантах реализации изобретения анти-PD-L1 антитело представляет собой гуманизированное антитело. В некоторых вариантах реализации изобретения анти-PD-L1 антитело представляет собой человеческое антитело.

Антитела анти-PD-L1, используемые в данном изобретении, включая композиции, содержащие такие антитела как, например, описанные в WO 2010/077634 A1, могут

быть использованы в комбинации с ингибитором MEK для лечения рака. В некоторых вариантах реализации изобретения анти-PD-L1 антитело состоит из вариабельной области тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20, и из вариабельной области легкой цепи, содержащей аминокислотную

5 последовательность SEQ ID NO:21.

В одном варианте реализации изобретения анти-PD-L1 антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи полипептида, содержащий последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, причем:

(а) последовательность HVR-H1 представляет собой GFTFSX1SWIH (SEQ ID NO:1);

10 (б) последовательность HVR-H2 представляет собой AWIX2PYGGSX3YYADSVKG (SEQ ID NO:2);

(в) последовательность HVR-H3 представляет собой RHWPGGF DY (SEQ ID NO:3);

далее, где: X1 представляет собой D или G; X2 представляет собой S или L; X3 представляет собой T или S.

15 В одном конкретном аспекте X1 представляет собой D, X2 представляет собой S и X3 представляет собой T. В другом аспекте полипептид дополнительно содержит последовательности каркасного участка вариабельной области тяжелой цепи, соединенных между собой HVR по формуле: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4). В еще одном аспекте последовательности каркасного участка получены из последовательностей человеческого консенсусного каркасного участка. В еще одном аспекте последовательности каркасного участка представляют собой консенсусный каркасный участок подгруппы III VH. В другом дополнительном аспекте по меньшей мере одна из последовательностей каркасного участка представляют собой следующее:

25 HC-FR1 представляет собой EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:4)

HC-FR2 представляет собой WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:5)

HC-FR3 представляют собой RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:6)

HC-FR4 представляет собой WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:7).

30 В другом дополнительном аспекте полипептид тяжелой цепи дополнительно комбинируют с вариабельной областью легкой цепи, содержащий HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, причем:

(а) последовательность HVR-L1 представляет собой RASQX4X5X6TX7X8A (SEQ ID NO:8);

35 (б) последовательность HVR-L2 представляет собой SASX9LX10S, (SEQ ID NO:9);

(в) последовательность HVR-L3 представляет собой QQX11X12X13X14PX15T (SEQ ID NO:10);

далее, где: X4 представляет собой D или V; X5 представляет собой V или I; X6 представляет собой S или N; X7 представляет собой A или F; X8 представляет собой V

40 или L; X9 представляет собой F или T; X10 представляет собой Y или A; X11 представляет собой Y, G, F или S; X12 представляет собой L, Y, F или W; X13 представляет собой Y, N, A, T, G, F или I; X14 представляет собой H, V, P, T или I; X15 представляет собой A, W, R, P или T.

В другом дополнительном аспекте X4 представляет собой D; X5 представляет собой

45 V; X6 представляет собой S; X7 представляет собой A; X8 представляет собой V; X9

представляет собой F; X10 представляет собой Y; X11 представляет собой Y; X12

представляет собой L; X13 представляет собой Y; X14 представляет собой H; X15

представляет собой A. В другом дополнительном аспекте легкая цепь дополнительно

содержит последовательности каркасного участка вариабельной области легкой цепи, соединенные между собой HVR по формуле: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). В другом дополнительном аспекте последовательности каркасного участка получены из последовательностей человеческого консенсусного

5 каркасного участка. В другом дополнительном аспекте последовательности каркасного участка представляют собой консенсусный каркасный участок каппа I VL. В другом дополнительном аспекте по меньшей мере одна из последовательности каркасного участка представляет собой следующее:

LC-FR1 представляет собой DIQMTQSPSSLASVGDRVTITC (SEQ ID NO:11)

10 LC-FR2 представляет собой WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)

LC-FR3 представляет собой GVPSRFSGSGSGTDFLTSSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:13)

LC-FR4 представляет собой FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:14).

В другом варианте реализации изобретения предложено изолированное анти-PD-L1 15 антитело или антигенсвязывающий фрагмент, содержащий вариабельную область тяжелой цепи и легкой цепи, в которой:

(a) тяжелая цепь содержит и HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, при этом дополнительно:

(i) последовательность HVR-H1 представляет собой GFTFSX1SWIH; (SEQ ID NO:1)

(ii) последовательность HVR-H2 представляет собой AWIX2PYGGSX3YYADSVKG

20 (SEQ ID NO:2)

(iii) последовательность HVR-H3 представляет собой RHWPGGF DY, и (SEQ ID NO: 3)

(b) легкая цепь содержит и HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, при этом дополнительно:

(i) последовательность HVR-L1 представляет собой RASQX4X5X6TX7X8A (SEQ ID 25 NO:8)

(ii) последовательность HVR-L2 представляет собой SASX9LX10S; и (SEQ ID NO:9)

(iii) последовательность HVR-L3 представляет собой QQX11X12X13X14PX15T; (SEQ ID NO:10)

Дополнительно, где: X1 представляет собой D или G; X2 представляет собой S или 30 L; X3 представляет собой T или S; X4 представляет собой D или V; X5 представляет собой V или I; X6 представляет собой S или N; X7 представляет собой A или F; X8 представляет собой V или L; X9 представляет собой F или T; X10 представляет собой Y или A; X11 представляет собой Y, G, F, или S; X12 представляет собой L, Y, F или W; X13 представляет собой Y, N, A, T, G, F или I; X14 представляет собой H, V, P, T или I; 35 X15 представляет собой A, W, R, P или T.

В конкретном аспекте X1 представляет собой D; X2 представляет собой S и X3 представляет собой T. В другом аспекте X4 представляет собой D; X5 представляет собой V; X6 представляет собой S; X7 представляет собой A; X8 представляет собой V; X9 представляет собой F; X10 представляет собой Y; X11 представляет собой Y; X12 40 представляет собой L; X13 представляет собой Y; X14 представляет собой H; X15 is A. В еще одном аспекте X1 представляет собой D; X2 представляет собой S и X3 представляет собой T, X4 представляет собой D; X5 представляет собой V; X6 представляет собой S; X7 представляет собой A; X8 представляет собой V; X9 представляет собой F; X10 представляет собой Y; X11 представляет собой Y; X12 45 представляет собой L; X13 представляет собой Y; X14 представляет собой H и X15 представляет собой A.

В дополнительном аспекте вариабельная область тяжелой цепи состоит из одной или более последовательностей каркасного участка, соединенных между собой HVR в

виде: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4), и вариабельные области легкой цепи содержат одну или более последовательностей каркасного участка, соединенных между собой HVR в виде: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). В другом дополнительном аспекте

- 5 последовательности каркасного участка получены из последовательностей человеческого консенсусного каркасного участка. В другом дополнительном аспекте последовательности каркасного участка тяжелой цепи получены из последовательности подгруппы I, II или III по Kabat. В другом дополнительном аспекте последовательность каркасного участка тяжелой цепи представляет собой консенсусный каркасный участок 10 подгруппы III VH. В другом дополнительном аспекте одна или более последовательностей каркасного участка тяжелой цепи представляют собой следующее:

HC-FR1EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:4)

HC-FR2WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:5)

HC-FR3RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:6)

- 15 HC-FR4WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:7).

В другом дополнительном аспекте последовательности каркасного участка легкой цепи получены из последовательности подгруппы каппа I и II, II и IV по Kabat. В другом дополнительном аспекте последовательности каркасного участка легкой цепи представляют собой консенсусный каркасный участок каппа I VL. В другом

- 20 дополнительном аспекте одна или более последовательностей каркасного участка легкой цепи представляют собой следующее:

LC-FR1DIQMTQSPSSLASAVGDRVTITC (SEQ ID NO:11)

LC-FR2WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)

LC-FR3GVPSRFSGSQGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:13)

- 25 LC-FR4FGQGTTKVEIKR (SEQ ID NO:14).

В еще одном конкретном аспекте антитело дополнительно содержит человеческую или мышнюю константную область. В другом дополнительном аспекте человеческая константная область выбрана из группы, состоящей из IgG1, IgG2, IgG2, IgG3 и IgG4.

- 30 В еще одном конкретном аспекте человеческая константная область представляет собой IgG1. В другом дополнительном аспекте мышиная константная область выбрана из группы, состоящей из IgG1, IgG2A, IgG2B и IgG3. В другом дополнительном аспекте мышиная константная область в случае IgG2A. В еще одном конкретном аспекте антитело снижало или минимизировало эффекторную функцию. В еще одном конкретном аспекте минимальная эффекторная функция является результатом «Fc-

- 35 мутации с утратой эффекторной функции» или отсутствием гликозилирования. В другом дополнительном варианте реализации изобретения Fc-мутация с утратой эффекторной функции представляет собой замену N297A или D265A/N297A в константной области.

В еще одном варианте реализации изобретения предложено анти-PD-L1 антитело, содержащее последовательность вариабельной области тяжелой цепи и легкой цепи,

- 40 где:

(а) тяжелая цепь дополнительно содержит последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, имеющие по меньшей мере 85% идентичности последовательности с GFTFSDSWIH (SEQ ID NO:15), AWISPYGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:16) и RHWPGGF DY (SEQ ID NO:3), соответственно, или

- 45 (б) легкая цепь дополнительно содержит последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, имеющей по меньшей мере 85% идентичности последовательности с RASQDVSTAVA (SEQ ID NO:17), SASFLYS (SEQ ID NO:18) и QQYLYHPAT (SEQ ID NO: 19), соответственно.

В конкретном аспекте идентичность последовательности составляет 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%. В другом аспекте вариабельная область тяжелой цепи состоит из одной или более последовательностей каркасного участка, соединенных между собой HVR в виде: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-

- 5 FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4), и вариабельные области легкой цепи содержат одну или более последовательностей каркасного участка, соединенных между собой HVR в виде: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). В еще одном аспекте последовательности каркасного участка получены из последовательностей человеческого консенсусного каркасного участка. В другом 10 дополнительном аспекте последовательности каркасного участка тяжелой цепи получены из последовательности подгруппы I, II или III по Kabat. В другом дополнительном аспекте последовательность каркасного участка тяжелой цепи представляет собой консенсусный каркасный участок подгруппы III VH. В другом дополнительном аспекте одна или более последовательностей каркасного участка 15 тяжелой цепи представляют собой следующее:

HC-FR1EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:4)
 HC-FR2WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:5)
 HC-FR3RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:6)
 HC-FR4WGQGTLTVSA (SEQ ID NO:7).

- 20 В другом дополнительном аспекте последовательности каркасного участка легкой цепи получены из последовательности подгруппы каппа I и II, II и IV по Kabat. В другом дополнительном аспекте последовательности каркасного участка легкой цепи представляют собой консенсусный каркасный участок каппа I VL. В другом дополнительном аспекте одна или более последовательностей каркасного участка 25 легкой цепи представляют собой следующее:

LC-FR1DIQMTQSPSSLASAVGDRVTITC (SEQ ID NO:11)
 LC-FR2WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)
 LC-FR3GVPSRSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:13)
 LC-FR4FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:14).

- 30 В еще одном конкретном аспекте антитело дополнительно содержит человеческую или мышиную константную область. В другом дополнительном аспекте человеческая константная область выбрана из группы, состоящей из IgG1, IgG2, IgG2, IgG3 и IgG4. В еще одном конкретном аспекте человеческая константная область представляет собой IgG1. В другом дополнительном аспекте мышиная константная область выбрана 35 из группы, состоящей из IgG1, IgG2A, IgG2B и IgG3. В другом дополнительном аспекте мышиная константная область в случае IgG2A. В еще одном конкретном аспекте антитело снижало или минимизировало эффекторную функцию. В еще одном конкретном аспекте минимальная эффекторная функция является результатом «Fc-мутации с утратой эффекторной функции» или отсутствием гликозилирования. В другом 40 дополнительном варианте реализации изобретения Fc-мутация с утратой эффекторной функции представляет собой замену N297A или D265A/N297A в константной области.

В другом дополнительном варианте реализации изобретения предложено изолированное анти-PD-L1 антитело, содержащее последовательность вариабельной области тяжелой цепи и легкой цепи, где:

- 45 (а) последовательность тяжелой цепи имеет по меньшей мере 85% идентичность последовательности с последовательностью тяжелой цепи: EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFSWVQAPGKGLEWVAWIS PYGGSTYYADSVKGRFTISADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFYWGQGTLTVSA (SEQ ID NO:20), или

(б) последовательность легкой цепи имеет по меньшей мере 85% идентичность последовательности с последовательностью легкой цепи: DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASF LYSGVPSRFSGSGETDFTLTISSSLQP EDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:21).

- 5 В конкретном аспекте идентичность последовательности составляет 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%. В другом аспекте вариабельная область тяжелой цепи состоит из одной или более последовательностей каркасного участка, соединенных между собой HVR в виде: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4), и вариабельные области легкой цепи 10 содержат одну или более последовательностей каркасного участка, соединенных между собой HVR в виде: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). В еще одном аспекте последовательности каркасного участка получены из последовательностей человеческого консенсусного каркасного участка. В еще одном аспекте последовательности каркасного участка тяжелой цепи получены из 15 последовательности подгруппы I, II или III по Kabat. В другом дополнительном аспекте последовательность каркасного участка тяжелой цепи представляет собой консенсусный каркасный участок подгруппы III VH. В другом дополнительном аспекте одна или более последовательностей каркасного участка тяжелой цепи представляют собой следующее:
- 20 HC-FR1EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:4)
 HC-FR2WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:5)
 HC-FR3RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:6)
 HC-FR4WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:7).

В другом дополнительном аспекте последовательности каркасного участка легкой 25 цепи получены из последовательности подгруппы каппа I и II, II и IV по Kabat. В другом дополнительном аспекте последовательности каркасного участка легкой цепи представляют собой консенсусный каркасный участок каппа I VL. В другом дополнительном аспекте одна или более последовательностей каркасного участка легкой цепи представляют собой следующее:

- 30 LC-FR1DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC (SEQ ID NO:11)
 LC-FR2WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)
 LC-FR3GVPSRFSGSGETDFTLTISSSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:13)
 LC-FR4FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:14).

В еще одном конкретном аспекте антитело дополнительно содержит человеческую 35 или мышиную константную область. В другом дополнительном аспекте человеческая константная область выбрана из группы, состоящей из IgG1, IgG2, IgG2, IgG3 и IgG4. В еще одном конкретном аспекте человеческая константная область представляет собой IgG1. В другом дополнительном аспекте мышиная константная область выбрана из группы, состоящей из IgG1, IgG2A, IgG2B и IgG3. В другом дополнительном аспекте 40 мышиная константная область в случае IgG2A. В еще одном конкретном аспекте антитело снижало или минимизировало эффекторную функцию. В еще одном конкретном аспекте минимальная эффекторная функция возникает из-за выработки в клетках прокариот. В еще одном конкретном аспекте минимальная эффекторная функция является результатом «Fc-мутации с утратой эффекторной функции» или 45 отсутствием гликозилирования. В другом дополнительном варианте реализации изобретения Fc-мутация с утратой эффекторной функции представляет собой замену N297A или D265A/N297A в константной области.

В другом дополнительном варианте предложено изолированное анти-PD-L1 антитело,

содержащее вариабельную область тяжелой цепи и легкой цепи, причем:

(а) последовательность тяжелой цепи имеет по меньшей мере 85% идентичность последовательности с последовательностью тяжелой цепи: EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSK

5 NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGF DYWGQGTLTVSS (SEQ ID NO:24), или

(б) последовательность легкой цепи имеет по меньшей мере 85% идентичность последовательности с последовательностью легкой цепи: DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASF LYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQYLYHPATFGQGTLVKEIKR (SEQ ID NO:21).

10 В другом дополнительном варианте реализации изобретения предложено изолированное антитело анти-PDL1, содержащее последовательность вариабельной области тяжелой цепи и легкой цепи, причем:

(а) последовательность тяжелой цепи имеет по меньшей мере 85% идентичность последовательности с последовательностью тяжелой цепи: EVQLVESGGGLVQPGGSL

15 RLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGF DYWGQGTLTVSSASTK (SEQ ID NO:28), или

(б) последовательность легкой цепи имеет по меньшей мере 85% идентичность последовательности с последовательностью легкой цепи: DIQMTQSPSSLSASVGDRVT

20 ITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYLYHPATFGQGTLVKEIKR (SEQ ID NO:21).

В конкретном аспекте идентичность последовательности составляет 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%. В другом аспекте вариабельная область тяжелой цепи состоит из одной или более последовательностей 25 каркасного участка, соединенных между собой HVR в виде: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4), и вариабельные области легкой цепи содержат одну или более последовательностей каркасного участка, соединенных между собой HVR в виде: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). В еще одном аспекте последовательности каркасного участка получены из 30 последовательностей человеческого консенсусного каркасного участка. В еще одном аспекте последовательности каркасного участка тяжелой цепи получены из последовательности подгруппы I, II или III по Kabat. В другом дополнительном аспекте последовательность каркасного участка тяжелой цепи представляет собой консенсусный каркасный участок подгруппы III VH. В другом дополнительном аспекте одна или 35 более последовательностей каркасного участка тяжелой цепи представляют собой следующее:

HC-FR1EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:4)

HC-FR2WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:5)

HC-FR3RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:6)

40 HC-FR4WGQGTLTVSS (SEQ ID NO:25).

В другом дополнительном аспекте последовательности каркасного участка легкой цепи получены из последовательности подгруппы каппа I и II, II и IV по Kabat. В другом дополнительном аспекте последовательности каркасного участка легкой цепи представляют собой консенсусный каркасный участок каппа I VL. В другом 45 дополнительном аспекте одна или более последовательностей каркасного участка легкой цепи представляют собой следующее:

LC-FR1DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:11)

LC-FR2WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)

LC-FR3GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:13)

LC-FR4FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:14).

В еще одном конкретном аспекте антитело дополнительно содержит человеческую или мышнюю константную область. В другом дополнительном аспекте человеческая

5 константная область выбрана из группы, состоящей из IgG1, IgG2, IgG2, IgG3 и IgG4.

В еще одном конкретном аспекте человеческая константная область представляет собой IgG1. В другом дополнительном аспекте мышья константная область выбрана из группы, состоящей из IgG1, IgG2A, IgG2B и IgG3. В другом дополнительном аспекте мышья константная область в случае IgG2A. В еще одном конкретном аспекте

10 антитело снижало или минимизировало эффекторную функцию. В еще одном конкретном аспекте минимальная эффекторная функция возникает из-за выработки в клетках прокариот. В еще одном конкретном аспекте минимальная эффекторная функция является результатом «Fc-мутации с утратой эффекторной функции» или отсутствием гликозилирования. В другом дополнительном варианте реализации

15 изобретения Fc-мутация с утратой эффекторной функции представляет собой замену N297A или D265A/N297A в константной области.

В еще одном варианте реализации изобретения антитело анти-PD-1 представляет собой MPDL3280A (атезолизумаб). В еще одном варианте реализации изобретения предложено изолированное антитело анти-PD-1, содержащее вариабельную область

20 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи из SEQ ID NO:24, и/или вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи из SEQ ID NO:25. В другом дополнительном варианте реализации изобретения предложено изолированное антитело анти-PD-1, содержащее последовательность тяжелой цепи и/

25 или легкой цепи, причем:

(а) последовательность тяжелой цепи имеет по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность последовательности

30 с последовательностью тяжелой цепи: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDS WIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPVCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDV

35 SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO:26) или

(б) последовательность легкой цепи имеет по меньшей мере 85%, по меньшей мере

40 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность последовательности с последовательностью легкой цепи: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVA WYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYH

45 PATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO:27).

В еще одном варианте реализации настоящее изобретение обеспечивает композиции,

содержащие любое из вышеописанных антител анти-PD-L1 в комбинации с по меньшей мере одним фармацевтически приемлемым носителем.

В другом дополнительном варианте реализации изобретения предложена нуклеиновая кислота, кодирующая последовательность вариабельного домена легкой цепи или

5 тяжелой цепи антитела анти-PDL1, причем:

(а) тяжелая цепь дополнительно содержит и последовательность HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности с GFTFSDSWIH (SEQ ID NO:15), AWISPYGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:16) и RHWPGGF DY (SEQ ID NO:3), соответственно, и

10 (б) легкая цепь дополнительно содержит и последовательность HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности с RASQDVSTAVA (SEQ ID NO:17), SASFLYS (SEQ ID NO:18) и QQYLYHPAT (SEQ ID NO: 19), соответственно.

В конкретном аспекте идентичность последовательности составляет 86%, 87%, 88%, 15 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%. В аспекте вариабельная область тяжелой цепи состоит из одной или более последовательностей каркасного участка, соединенных между собой HVR в виде: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4), и вариабельные области легкой цепи содержат одну или более последовательностей каркасного участка, соединенных между 20 собой HVR в виде: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4). В еще одном аспекте последовательности каркасного участка получены из последовательностей человеческого консенсусного каркасного участка. В еще одном аспекте последовательности каркасного участка тяжелой цепи получены из 25 последовательности подгруппы I, II или III по Kabat. В другом дополнительном аспекте последовательность каркасного участка тяжелой цепи представляет собой консенсусный каркасный участок подгруппы III VH. В другом дополнительном аспекте одна или более последовательностей каркасного участка тяжелой цепи представляют собой следующее:

HC-FR1EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:4)

30 HC-FR2WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:5)

HC-FR3RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:6)

HC-FR4WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:7).

В другом дополнительном аспекте последовательности каркасного участка легкой цепи получены из последовательности подгруппы каппа I и II, II и IV по Kabat. В другом дополнительном аспекте последовательности каркасного участка легкой цепи 35 представляют собой консенсусный каркасный участок каппа I VL. В другом дополнительном аспекте одна или более последовательностей каркасного участка легкой цепи представляют собой следующее:

LC-FR1DIQMTQSPSSLASAVGDRVTITC (SEQ ID NO:11)

40 LC-FR2WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:12)

LC-FR3GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:13)

LC-FR4FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:14).

В еще одном конкретном аспекте антитело, описанное в данном документе, (такое как антитело анти-PD-1, анти-PD-L1 антитело или антитело анти-PD-L2) дополнительно 45 содержит человеческую или мышью константную область. В другом дополнительном аспекте человеческая константная область выбрана из группы, состоящей из IgG1, IgG2, IgG2, IgG3 и IgG4. В еще одном конкретном аспекте человеческая константная область представляет собой IgG1. В другом дополнительном аспекте мышьяная

константная область выбрана из группы, состоящей из IgG1, IgG2A, IgG2B и IgG3. В другом дополнительном аспекте мышиная константная область в случае IgG2A. В еще одном конкретном аспекте антитело снижало или минимизировало эфекторную функцию. В еще одном конкретном аспекте минимальная эфекторная функция

5 возникает из-за выработки в клетках прокариот. В еще одном конкретном аспекте минимальная эфекторная функция является результатом «Fc-мутации с утратой эфекторной функции» или отсутствием гликозилирования. В другом дополнительном аспекте Fc-мутация с утратой эфекторной функции представляет собой замену N297A или D265A/N297A в константной области.

10 В другом дополнительном аспекте в данном документе предложена нуклеиновая кислота, кодирующая любое из антител, описанных в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота дополнительно содержит вектор, подходящий для экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей любой из ранее описанных антител анти-PD-L1, анти-PD-1 и анти-PD-L2. В еще одном конкретном

15 аспекте вектор дополнительно включает клетку-хозяин, подходящий для экспрессии нуклеиновой кислоты. В еще одном конкретном аспекте клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку или прокариотическую клетку. В еще одном конкретном аспекте эукариотическая клетка представляет собой клетку млекопитающего, такую как клетку яичника китайского хомячка (CHO).

20 Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент можно получить с использованием способов, известных в данной области техники, например, процесса, включающего культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую любое из ранее описанных антител анти-PD-L1, анти-PD-1 и анти-PD-L2 или антигенсвязывающий фрагмент в форме, пригодной для экспрессии, в условиях 25 подходящих для производства такого антитела или фрагмента, и восстановления антитела или фрагмента.

В другом дополнительном варианте реализации настоящее изобретение обеспечивает композиции, содержащие анти-PD-L1 антитело, анти-PD-1 или анти-PD-L2 или его антигенсвязывающий фрагмент, предусмотренный данным документом, и по меньшей 30 мере один фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах реализации изобретения анти-PD-L1 антитело, анти-PD-1 или анти-PD-L2 или его антигенсвязывающий фрагмент, вводимые индивидууму, представляет собой композицию, содержащую один или более фармацевтически приемлемый носитель. Любой фармацевтически приемлемый носитель, описанный в данном документе или 35 известный в данной области техники, может быть использован.

Ингибиторы MEK

Настоящее изобретение обеспечивает способы лечения рака или замедления прогрессирования рака у индивидуума, включающие введение индивидууму эффективного количества антагониста, связывающегося с компонентом сигнального 40 пути PD-1, и ингибитора MEK. Имеются в виду любые известные ингибиторы MEK, такие как соединения-ингибиторы MEK, описанные в патентных заявках PCT WO 03/ 077914 A1, WO 2005/121142 A1, WO 2007/044515 A1, WO 2008/024725 A1 и WO 2009/ 085983 A1, содержание которых включено в данный документ посредством ссылки. Ингибитор MEK может вводиться в фармацевтической композиции или препарате. В 45 некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция или препарат содержит один или более ингибиторов MEK, описанных в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель.

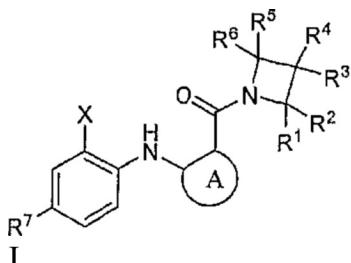
В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK представляет собой

конкурентный ингибитор MEK. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK является более селективным в отношении активирующей мутации KRAS. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK представляет собой аллостерический ингибитор MEK. В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK является более селективным в отношении активирующей мутации B-raf (например, мутация B-raf V600E). В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK связывает и ингибирует активность и MEK1 или MEK2 (например, человеческий MEK1 и/или человеческий MEK2).

В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK представляет собой

10 соединение, выбранное из группы, состоящей из GDC-0973 (также известное как «Кобиметиниб» или «XL518»), G-38963, G02443714 (также известное как «AS703206»), G02442104 (также известное как «GSK-1120212»), и G00039805 (также известное как «AZD-6244»), или его фармацевтически приемлемой соли или сольваты.

15 В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK представляет собой соединение формулы (I),



или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, где A, X, R1, R2, R3, R4, R5, R6 и R7 как определено в группе A, группе B, группе C, или группе D:

25 Группа A:

А представляет собой арилен необязательно замещенный одной, двумя, тремя или четырьмя группами, выбранными из R10, R12, R14, R16 и R19, где R10, R12, R14 и R16, которые независимо представляют собой водород, алкил, алкенил, алкинил, галоген, галогеналкокси, гидрокси, алкокси, амино, алкиламино, диалкиламино, галогеналкил, -NHS(O)2R8, -CN, -C(O)R8, -C(O)OR8, -C(O)NR8R8' и -NR8C(O)R8' и где R19 представляет собой водород, алкил или алкенил;

Х представляет собой алкил, галоген, галогеналкил, или галогеналкокси;

R1, R2, R3, R4, R5 и R6 независимо представляют собой водород, галоген, нитро, -NR8R8', -OR8, -NHS(O)2R8, -CN, -S(O)mR8, -S(O)2NR8R8', -C(O)R8, -C(O)OR8, -C(O)NR8R8', -NR8C(O)OR8', -NR8C(O)NR8'R8'', -NR8C(O)OR8', -NR8C(O)R8', -CH2N(R25) (NR25aR25b), -CH2NR25C(=NH)(NR25aR25b), -CH2NR25C(=NH)(N(R25a)(NO2)), -CH2NR25C(=NH)(N(R25a)(CN)), -CH2NR25C(=NH)(R25), -CH2NR25C(NR25aR25b)=CH (NO2), алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероарил или гетероциклоалкил; где алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероарил, и гетероциклоалкил независимо друг от друга необязательно замещены одной, двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью или семью группами, независимо выбранными из галогена, алкила, галогеналкила, нитро, необязательно замещенного циклоалкила, необязательно замещенного арила, необязательно замещенного арилалкила, необязательно замещенного гетероарила, -OR8, -NR8R8', -NR8S(O)2R9, -CN, -S(O)mR9, -C(O)R8, -C(O)OR8, -C(O)NR8R8', -NR8C(O)NR8'R8'', -NR8C(O)OR8' и -NR8C(O)R8'; или один из R1 и R2 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, R3 и R4 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, и R5 и R6 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют C(O) или C(=

НОН);

т равен 0, 1 или 2;

R7 представляет собой водород, галоген или алкил;

каждый R8, R8' и R8" независимо выбран из водорода, гидрокси, необязательно

замещенного алcoxси, алкила, алкенила, алкинила, арила, циклоалкила, гетероарила и гетероциклоалкила; где алкил, алкенил, алкинил, арил, циклоалкил, гетероарил и гетероциклоалкил независимо друг от друга необязательно замещены одной, двумя, тремя, четырьмя или пятью группами, независимо выбранными из алкила, галогена, гидрокси, гидроксиалкила, необязательно замещенного алcoxси, алcoxсиалкила,

10 галоидалкила, карбокси, алcoxсикарбонила, алкенилоксискарбонила, необязательно замещенного циклоалкила, необязательно замещенного циклоалкилоксискарбонила, необязательно замещенного арила, необязательно замещенного арилокси, необязательно замещенного арилоксикарбонила, необязательно замещенного арилалкила, необязательно замещенного арилалкилокси, необязательно замещенного

15 арилалкилоксискарбонила, нитро, циано, необязательно замещенного гетероциклоалкила, необязательно замещенного гетероарила, -S(O)R31 (где т равен 0, 1 или 2 и R 31 представляет собой необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный гетероциклоалкил или необязательно замещенный гетероарил), -NR 34SO 2 R 34a (где R 34 представляет собой водород или алкил и R34a

20 представляет собой алкил, алкенил, циклоалкил, арил, гетероарил или гетероциклоалкил), -SO2NR35R35a (где R 35 представляет собой водород или алкил и R 35a представляет собой алкил, алкенил, циклоалкил, арил, гетероарил или гетероциклоалкил), -NR 32 C (O) R, 32a (где R 32 представляет собой водород или алкил и R 32a представляет собой алкил, алкенил, алcoxси или циклоалкил), -NR30 R 30' (где

25 R 30 и R 30' независимо представляют собой водород, алкил или гидроксиалкил), и -C (O) NR 33 R 33a (где R 33 представляет собой водород или алкил и R33a представляет собой алкил, алкенил, алкинил, или циклоалкил); и

каждый R9 независимо выбран из алкила, алкенила, алкинила, арила, циклоалкила, гетероарила и гетероциклоалкила; где алкил, алкенил, алкинил, арил, циклоалкил,

30 гетероарил, и гетероциклоалкил независимо друг от друга необязательно замещены одной, двумя, тремя, четырьмя или пятью группами, выбранными из галогена, гидрокси, алкила, галогеналкила, галогеналкокси, амино, алкиламино и диалкиламино;

Группа В:

А представляет собой гетероарилен необязательно замещенный одной, двумя, тремя

35 или четырьмя группами, выбранными из R10, R12, R14, R16 и R19, где R10, R12, R14 и R16, которые независимо представляют собой водород, алкил, алкенил, алкинил, галоген, галогеналкокси, гидрокси, алcoxси, циано, амино, алкиламино, диалкиламино, галогеналкил, алкилсульфониламино, алкилкарбонил, алкенилкарбонил, алcoxсикарбонил, алкенилоксискарбонил, аминокарбонил, алкиламинокарбонил,

40 диалкиламинокарбонил или алкилкарбониламино; где R19 представляет собой водород, алкил, или алкенил; и где каждый алкил и алкенил, либо отдельно, либо как часть другой группы в пределах R10, R12, R14, R16 и R19 независимо необязательно замещен галогеном, гидрокси или алcoxси;

Х представляет собой алкил, галоген, галогеналкил, или галогеналкокси;

45 R1, R2, R3, R4, R3 и R6 независимо представляют собой водород, галоген, нитро, -NR8R8', -OR8, -NHS(O)2R8, -CN, -S(O)mR8, -S(O)2NR8R8', -C(O)R8, -C(O)OR8, -C(O) NR8R8', -NR8C(O)OR8', -NR8C(O)NR8'R8", -NR8C(O)OR8', -NR8C(O)R8', -CH2N(R25) (NR25aR25b), -CH2NR25C(=NH)(NR25aR25b), -CH2NR25C(=NH)(N(R25a)(NO2)),

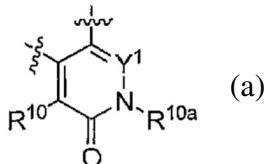
-CH₂NR25C(NH)(N(R25a)(CN)), -CH₂NR25C(=NH)(R25), -CH₂NR25C(NR25aR25b)=CH (NO₂), алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероарил или гетероциклоалкил, где алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероарил, и гетероциклоалкил независимо друг от друга необязательно замещены одной, двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью или 5 семью группами, независимо выбранными из галогена, алкила, галогеналкила, нитро, необязательно замещенного циклоалкила, необязательно замещенного гетероциклоалкила, необязательно замещенного арила, необязательно замещенного арилалкила, необязательно замещенного гетероарила, -OR₈, -NR₈R_{8'}, -NR₈S(O)2R₉, -CN, -S(O)mR₉, -C(O)R₈, -C(O)OR₈, -C(O)NR₈R_{8'}, -NR₈C(O)NR_{8'}R_{8''}, -NR₈C(O)OR_{8'} и 10 -NR₈C(O)R_{8''}; или один из R₁ и R₂ вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, R₃ и R₄ вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, и R₅ и R₆ вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют C(O) или C(=NOH);

и равен 1 или 2;

15 R₇ представляет собой водород, галоген или алкил; и каждый R₈, R_{8'} и R_{8''} независимо выбран из водорода, гидрокси, необязательно замещенного алcoxси, алкила, галогеналкила, алкенила, алкинила, арила, циклоалкила, гетероарила, и гетероциклоалкила, где алкил, алкенил, алкинил, арил, циклоалкил, гетероарил, и гетероциклоалкил независимо друг от друга необязательно замещены 20 одной, двумя, тремя, четырьмя или пятью группами, независимо выбранными из алкила, галогена, гидрокси, гидроксиалкила, необязательно замещенного алcoxси, алcoxсиалкила, галоидалкила, карбокси, сложноэфирной группы, нитро, циано, --S(O)nR₃₁ (где n равно 0, 1, или 2 и R₃₁ представляет собой необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный циклоалкил, 25 необязательно замещенный гетероциклоалкил, или необязательно замещенный гетероарил), -NR₃₆S(O)2R₃₆a (где R₃₆ представляет собой водород, алкил или алкенил и R₃₆a представляет собой алкил, алкенил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, или необязательно замещенный гетероарил), -S(O)2NR₃₇R₃₇a (где R₃₇ представляет 30 собой водород, алкил, или алкенил, и R₃₇a представляет собой алкил, алкенил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил или необязательно замещенный гетероарил), необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный арилалкил, необязательно 35 замещенный арилокси, необязательно замещенный арилалкилокси, необязательно замещенный гетероарил, -NHC(O)R₃₂ (где R₃₂ представляет собой алкил, алкенил, алcoxси, или циклоалкил) и -NR₃₀R_{30'} (где R₃₀ и R_{30'} независимо представляют собой водород, алкил, или гидроксиалкил), и -C(O)NHR₃₃ (где R₃₃ представляет собой алкил, алкенил, алкинил или циклоалкил);

40 Группа С:

А представляет собой



где R₁₀ представляет собой водород, алкил, алкенил, алкинил, галоген, галогеналcoxси, гидрокси, алcoxси, амино, алкиламино, диалкиламино, галогеналкил,

-NHS(O)2R8, -CN, -C(O)R8, -C(O)OR8, -C(O)NR8R8' и -NR8C(O)R8';

R10a представляет собой водород, алкил, или алкенил;

Y1 представляет собой =CH- или =N-;

X представляет собой алкил, галоген, галогеналкил, или галогеналкокси;

5 R1, R2, R3, R4, R5 и R6 независимо представляют собой водород, галоген, нитро, -NR8R8', -OR8, -NHS(O)2R8, -CN, -S(O)mR8, -S(O)2NR8R8', -C(O)R8, -C(O)OR8, -C(O)NR8R8', -NR8C(O)OR8', -NR8C(O)NR8'R8", -NR8C(O)OR8', -NR8C(O)R8', -CH2N(R25)NR25aR25b), -CH2NR25C(=NH)(NR25aR25b), -CH2NR25C(=NH)(N(R25a)(NO2)), -CH2NR25C(=NH)(N(R25a)(CN)), -CH2NR25C(=NH)(R25), -CH2NR25C(NR25aR25b)=CH

10 10 (NO2), алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероарил или гетероциклоалкил, где алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероарил и гетероциклоалкил независимо друг от друга необязательно замещены одной, двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью или семью группами, независимо выбранными из галогена, алкила, галогеналкила, нитро, необязательно замещенного циклоалкила, необязательно замещенного

15 15 гетероциклоалкила, необязательно замещенного арила, необязательно замещенного арилалкила, необязательно замещенного гетероарила, -OR8, -NR8R8', -NR8S(O)2R9, -CN, -S(O)mR9, -C(O)R8, -C(O)OR8, -C(O)NR8R8', -NR8C(O)NR8'R8", -NR8C(O)OR8' и -NR8C(O)R8'; или одного из R1 и R2 вместе с атомом углерода, к которому они

20 20 присоединены, R3 и R4 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, и R5 и R6 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, с образованием C(O) или C(NOH);

т равен 1 или 2;

R7 представляет собой водород, галоген или алкил; и

каждый R8, R8' и R8" независимо выбран из водорода, гидрокси, необязательно

25 25 замещенного алкокси, алкила, галогеналкила, алкенила, алкинила, арила, циклоалкила, гетероарила, и гетероциклоалкила, где алкил, алкенил, алкинил, арил, циклоалкил, гетероарил, и гетероциклоалкил независимо друг от друга необязательно замещены одной, двумя, тремя, четырьмя или пятью группами, независимо выбранными из алкила, галогена, гидрокси, гидроксиалкила, необязательно замещенного алкокси,

30 30 алкоксиалкила, галоидалкила, карбокси, сложноэфирной группы, нитро, циано, -S(O)nR31 (где n равно 0, 1, или 2 и R31 представляет собой необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, или необязательно замещенный гетероарил), -NR36S(O)2R36a (где R36 представляет собой водород, алкил или алкенил

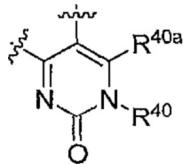
35 35 и R 36a представляет собой алкил, алкенил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, или необязательно замещенный гетероарил), -S (O)2 NR37R37a (где R37 представляет собой водород, алкил, или алкенил, и R 37a представляет собой алкил, алкенил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно

40 40 замещенный гетероциклоалкил или необязательно замещенный гетероарил), необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный арилалкил, необязательно замещенный арилокси, необязательно замещенный арилалкилокси, необязательно замещенный гетероарил, -NHC(O)R32 (где R32 представляет собой алкил, алкенил,

45 45 алкокси, или циклоалкил) и -NR30R 30' (где R 30 и R 30' независимо представляют собой водород, алкил, или гидроксиалкил), и -C(O)NHR33 (где R33 представляет собой алкил, алкенил, алкинил или циклоалкил); или

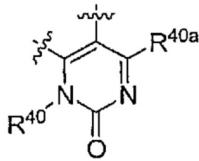
Группа D:

А представляет собой



(b) or

(б) или



(в)

15 R40 и R40a независимо представляют собой водород или алкил;

Х представляет собой алкил, галоген, галогеналкил, или галогеналкокси;

1 R1, R2, R3, R4, R5 и R6 независимо представляют собой водород, галоген, нитро, -NR8R8', -OR8, -NHS(O)2R8, -CN, -S(O)mR8, -S(O)2NR8R8', -C(O)R8, -C(O)OR8, -C(O)NR8R8', -NR8C(O)OR8', -NR8C(O)NR8'R8", -NR8C(O)OR8', -NR8C(O)R8', -CH2N(R25)

20 (NR25aR25b), -CH2NR25C(=NH)(NR25aR25b), -CH2NR25C(=NH)(N(R25a)(NO2)), -CH2NR25C(=NH)(N(R25a)(CN)), -CH2NR25C(=NH)(R25), -CH2NR25C(NR25aR25b)=CH (NO2), алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероарил или гетероциклоалкил, где алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероарил, и гетероциклоалкил независимо друг от друга, необязательно замещены одной, двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью или 25 семью группами, независимо выбранными из галогена, алкила, галогеналкила, нитро, необязательно замещенного циклоалкила, необязательно замещенного гетероциклоалкила, необязательно замещенного арила, необязательно замещенного арилалкила, необязательно замещенного гетероарила, -OR8, -NR8R8', -NR8S(O)2R9, -CN, -S(O)mR9, -C(O)R8, -C(O)OR8, -C(O)NR8R8', -NR8C(O)NR8'R8", -NR8C(O)OR8' и 30 -NR8C(O)R8'; или одного из R1 и R2 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, R3 и R4 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, и R5 и R6 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, с образованием C(O) или C(NOH);

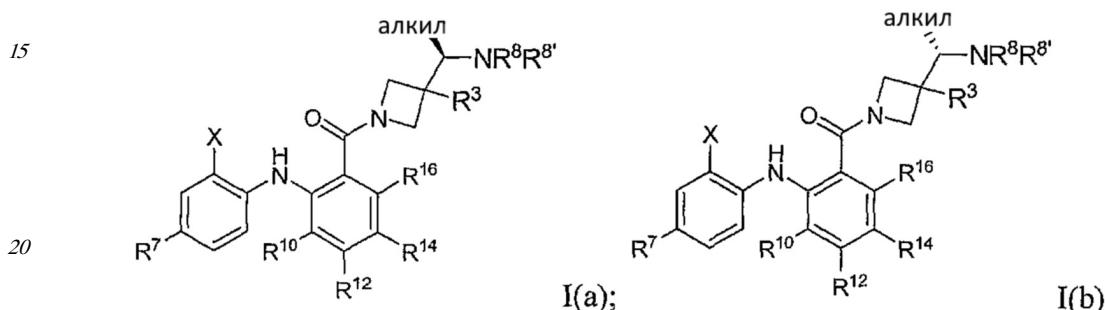
т равен 1 или 2;

35 R7 представляет собой водород, галоген или алкил; и

R8, R8' и R8" независимо выбраны из водорода, гидрокси, необязательно замещенного алкокси, алкила, галогеналкила, алкенила, алкинила, арила, циклоалкила, гетероарила, и гетероциклоалкила, где алкил, алкенил, алкинил, арил, циклоалкил, гетероарил, и гетероциклоалкил независимо друг от друга необязательно замещены одной, двумя, 40 тремя, четырьмя или пятью группами, независимо выбранными из алкила, галогена, гидрокси, гидроксиалкила, необязательно замещенного алкокси, алкоксиалкила, галоидалкила, карбокси, сложноэфирной группы, нитро, циано, -S(O)nR31 (где n равно 0, 1, или 2 и R31 представляет собой необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный 45 гетероциклоалкил, или необязательно замещенный гетероарил), -NR36S(O)2R36a (где R36 представляет собой водород, алкил или алкенил и R 36a представляет собой алкил, алкенил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, или необязательно замещенный

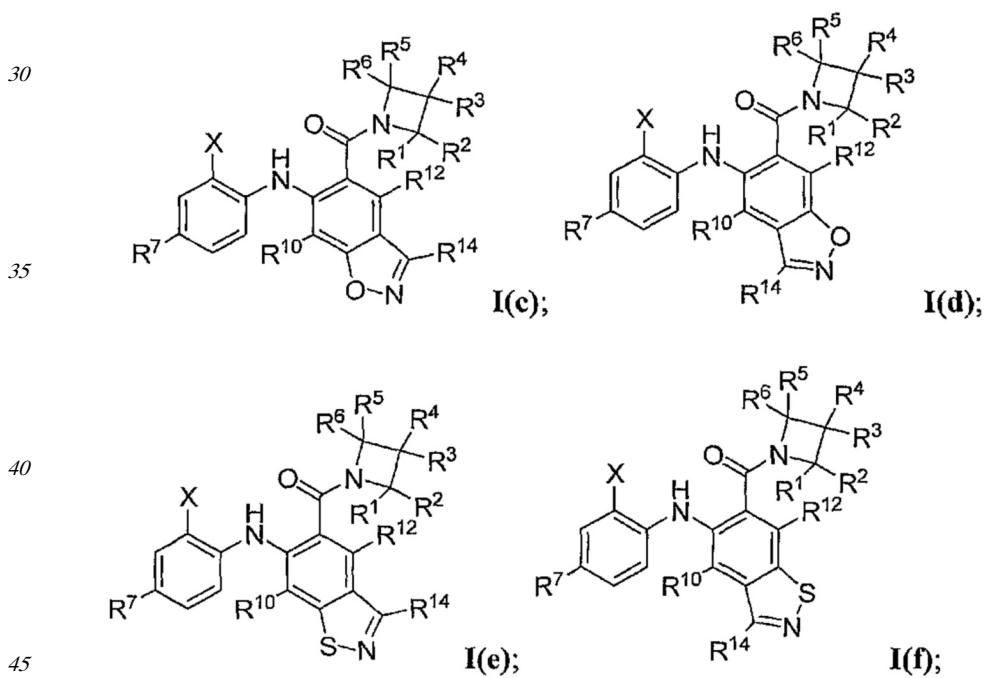
гетероарил), $-S(O)2$ NR37R37a (где R37 представляет собой водород, алкил, или алкенил, и R 37a представляет собой алкил, алкенил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил или необязательно замещенный гетероарил), необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный арилалкил, необязательно замещенный арилокси, необязательно замещенный арилалкилокси, необязательно замещенный гетероарил, $-NHC(O)R32$ (где R32 представляет собой алкил, алкенил, алкокси, или циклоалкил) и $-NR30R30'$ (где R 30 и R 30' независимо представляют собой водород, алкил, или гидроксиалкил), и $-C(O)NHR33$ (где R33 представляет собой алкил, алкенил, алкинил или циклоалкил).

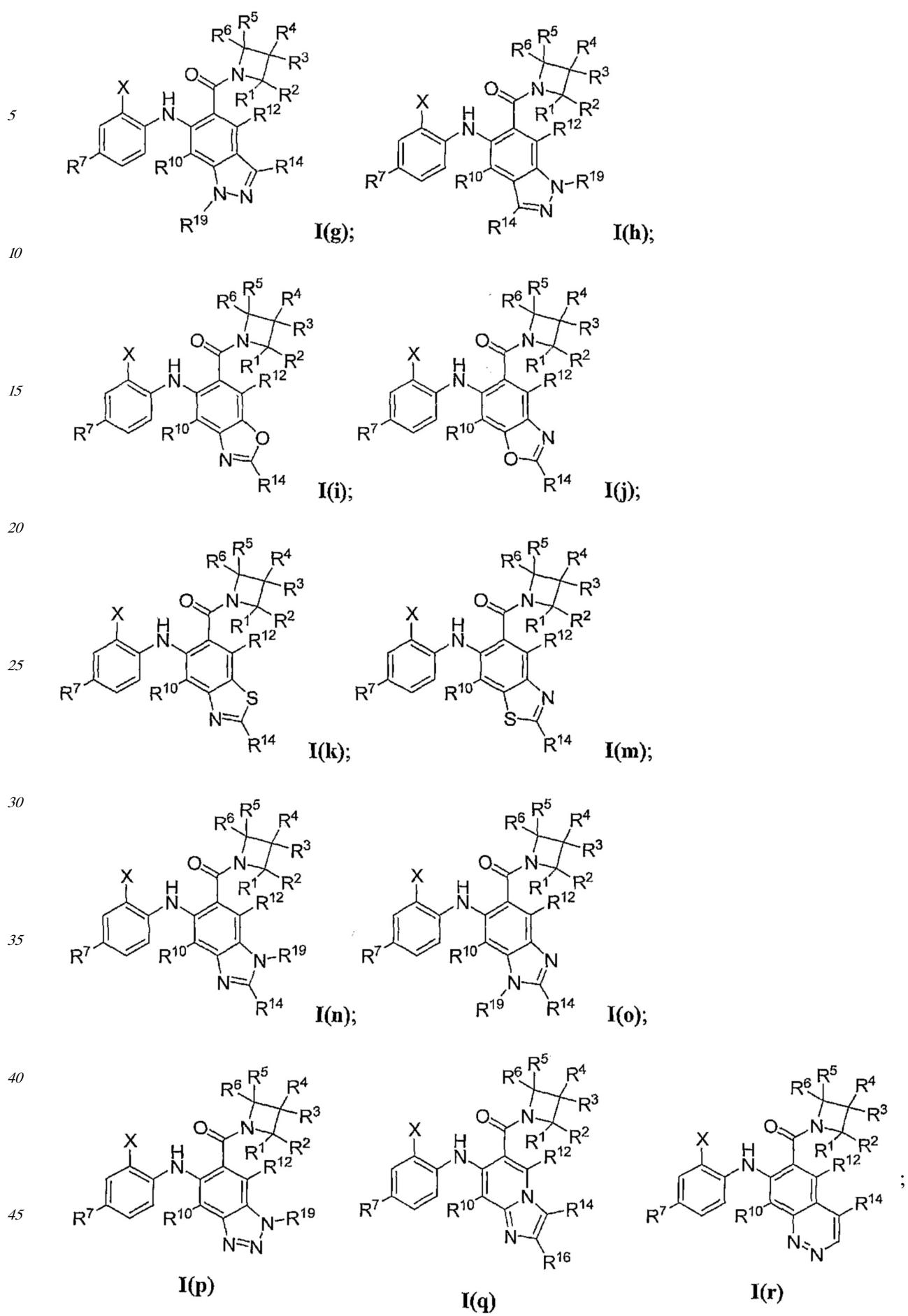
В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор MEK формулы (I) представляет собой соединение группы А, имеющее формулу I(a) или I(b):

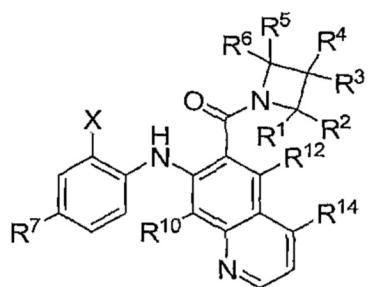


или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, причем переменные имеют значения, указанные для формулы (I), группы А, или, как это определено в WO 2007/044515 A1, включенном в данный документ посредством ссылки.

25 В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор MEK формулы (I) представляет собой соединение группы В, имеющий формулу I(c), I(d), I(e), I(f), I(g), I(h), I(i), I(j), I(k), I(m), I(n), I(o), I(p), I(q), I(r), I(s), I(u), I(v), I(w), I(x), I(cc) или I(dd):

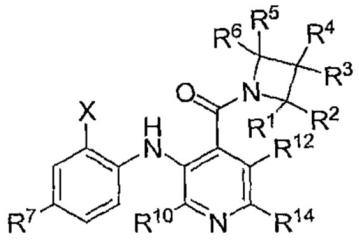




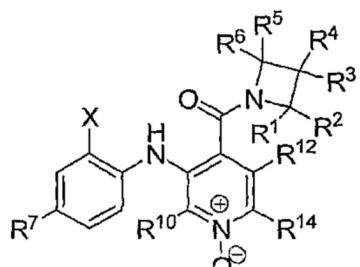


I(s)

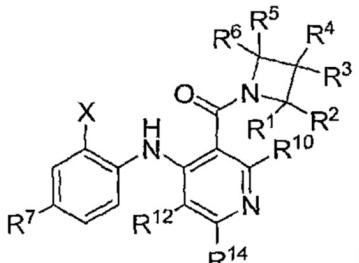
10



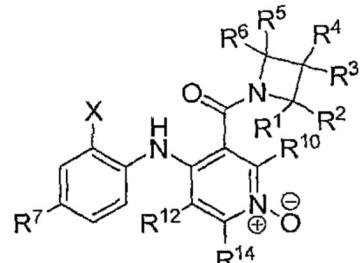
I(u);



I(v);

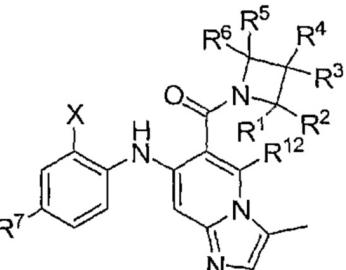


I(w);

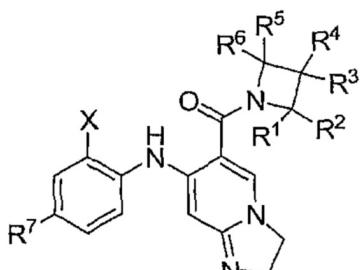


I(x);

25



или

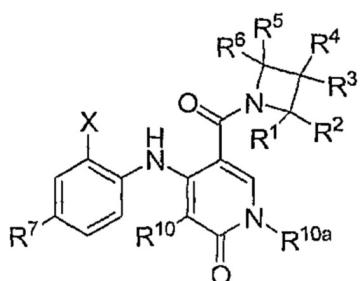


I(dd)

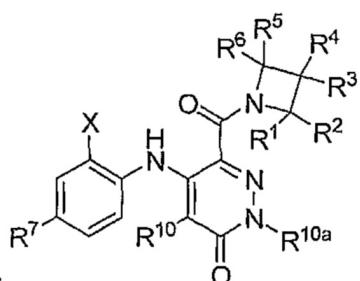
35

или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, причем переменные имеют значения, указанные для формулы (I), группы В, или, как это определено в WO 2007/044515 A1, включенном в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор MEK формулы (I) представляет собой соединение группы С, имеющее формулу I(y) или I(z):



I(y);

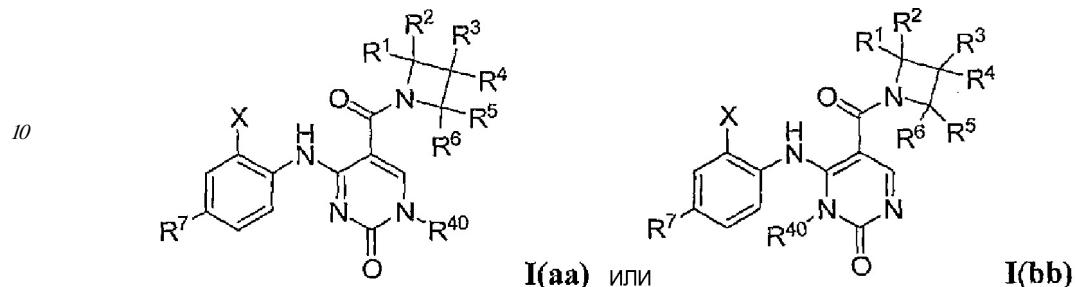


I(z)

или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, причем переменные имеют значения, указанные для формулы (I), группы С, или, как это определено в WO 2007/044515 A1, включенном в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор МЕК формулы

5 (I) представляет собой соединение группы D, имеющее формулу I(aa) или I(bb):



15

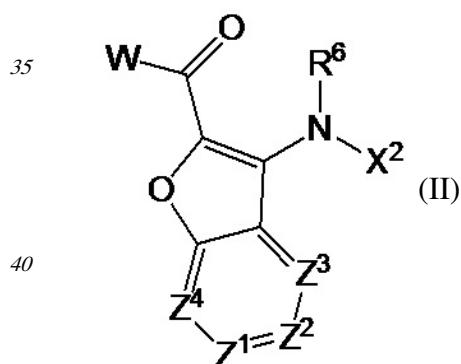
или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, причем переменные имеют значения, указанные для формулы (I), группы D, или, как это определено в WO 2007/044515 A1, включенном в данный документ посредством ссылки.

20 В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор МЕК формулы (I) представляет собой соединение, выбранное из соединения № 1-362, как указано в WO 2007/044515 A1, таблице 1 на страницах 71-144 (в данном документе все вместе называются как виды формулы I), или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

25 Также охватывает любые вариации формулы (I), как описано в WO 2007/044515 A1, которая включена в данный документ посредством ссылки. Соединения формулы (I) или любые его варианты могут быть синтезированы с использованием способов, известных в данной области техники, например, способов синтеза, описанных в WO 2007/044515 A1, включенных в данный документ посредством ссылки.

30 Если в данном документе не указано иное, то термины, используемые при описании соединений формулы (I), следует понимать в том значении, как это определено в WO 2007/044515 A1.

35 В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор МЕК представляет собой соединение формулы (II):



45 или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, где:

Z1 представляет собой CR1 или N;

Z2 представляет собой CR2 или N;

Z3 представляет собой CR3 или N;

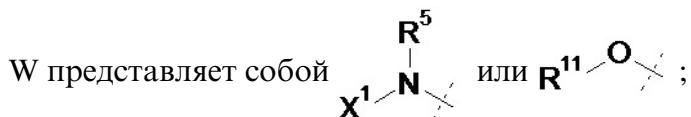
Z4 представляет собой CR4 или N;

где один или два из Z1, Z2, Z3 и Z4 представляют собой N;

R1, R2, R3 и R4 независимо выбраны из H, галогена, CN, CF3, -OCF3, -NO2, -(CR14R15)nC(=Y)R11, -(CR14R15)nC(=Y)OR11, -(CR14R15)nC(=Y)NR11R12, -(CR14R15)nNR11R12, -(CR14R15)nOR11, -(CR14R15)nSR11, -(CR14R15)nNR12C(=Y)R11, -(CR14R15)nNR12C(=Y)OR11, -(CR14R15)nNR13C(=Y)NR11R12, -(CR14R15)nNR12SO2R11, -(CR14R15)nOC(=Y)R11, -(CR14R15)nOC(=Y)OR11, -(CR14R15)nOC(=Y)NR11R12, -(CR14R15)nOS(O)2(OR11), -(CR14R15)nOP(=Y)(OR11)(OR12), -(CR14R15)nOP(OR11)(OR12), -(CR14R15)nS(O)R11, -(CR14R15)nS(O)2R11, -(CR14R15)nS(O)2NR11R12, -(CR14R15)nS(O)(OR11), -(CR14R15)nS(O)2(OR11), -(CR14R15)nSC(=Y)R11, -(CR14R15)nSC(=Y)OR11, -(CR14R15)nSC(=Y)NR11R12, C1-C12 алкила, C2-C8 алкенила, карбоциклила,

5 гетероциклила, арила и гетероарила;

10



R5 и R6 независимо выбраны из H или C1-C12 алкила;

15 X1 выбраны из R11, -OR11, -NR11R12, -S(O)R11, и -S(O)2R11; где X1 представляет собой R11 или -OR11, R11 или -OR11 X1 и -R5 необязательно взятые вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют 4-7-членное насыщенное или ненасыщенное кольцо, содержащее 0-2 дополнительных гетероатома, выбранных из O, S и N, причем указанное кольцо необязательно замещено одной или более группами, выбранными из галогена, CN, CF3, -OCF3, -NO2, оксо, -Si(C1-C6 алкил), -(CR19R20)nC(=Y)R16, -(CR19R20)nC(=Y)OR16, -(CR19R20)nC(=Y)NR16R17, -(CR19R20)nNR16R17, -(CR19R20)nOR16, -(CR19R20)n-SR16, -(CR19R20)nNR16C(=Y)R17, -(CR19R20)nNR16C(=Y)OR17, -(CR19R20)nNR18C(=Y)NR16R17, -(CR19R20)nNR17SO2R16, -(CR19R20)nOC(=Y)R16, -(CR19R20)nOC(=Y)OR16, -(CR19R20)nOC(=Y)NR16R17, -(CR19R20)nOS(O)2(OR16), -(CR19R20)nOP(=Y)(OR16)(OR17), -(CR19R20)nOP(OR16)(OR17), -(CR19R20)nS(O)R16, -(CR19R20)nS(O)2R16, -(CR19R20)nS(O)2NR16R17, -(CR19R20)nS(O)(OR16), -(CR19R20)nS(O)2(OR16), -(CR19R20)nSC(=Y)R16, -(CR19R20)nSC(=Y)OR16, -(CR19R20)nSC(=Y)NR16R17 и R21;

20

25 X2 выбран из карбоциклила, гетероциклила, арила и гетероарила;

30 R11, R12 и R13 независимо представляет собой H, алкил C1-C12, алкенил C2-C8, алкинил C2-C8, карбоциклил, гетероциклил, арил или гетероарил,

или R11 и R12 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют 3-8-членное насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо, имеющее 0-2

35 гетероатома, выбранных из O, S и N, где указанное кольцо необязательно замещено одной или более группами, выбранными из галогена, CN, CF3, -OCF3, -NO2, C1-C6 алкила, -OH, -SH, -O(C1-C6 алкил), -S(C1-C6 алкил), -NH2, -NH(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)2, -SO2(C1-C6 алкил), -CO2H, -CO2(C1-C6 алкил), -C(O)NH2, -C(O)NH(C1-C6 алкил), -C(O)N(C1-C6 алкил)2, -N(C1-C6 алкил)C(O)(C1-C6 алкил), -NHC(O)(C1-C6 алкил), -NHSO2(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)SO2(C1-C6 алкил), -SO2NH2, -SO2NH(C1-C6 алкил), -SO2N(C1-C6 алкил)2, -OC(O)NH2, -OC(O)NH(C1-C6 алкил), -OC(O)N(C1-C6 алкил)2, -OC(O)O(C1-C6 алкил), -NHC(O)NH(C1-C6 алкил), -NHC(O)N(C1-C6 алкил)2, -N(C1-C6 алкил)C(O)NH(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)C(O)N(C1-C6 алкил)2, -NHC(O)O(C1-C6 алкил), и -N(C1-C6 алкил)C(O)O(C1-C6 алкил);

40

45 R14 и R15 независимо выбраны из H, C1-C12 алкила, арила, карбоциклила, гетероциклила и гетероарила;

50 m и n независимо выбраны из 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

Y независимо представляет собой O, NR11 или S;

причем каждый указанный алкил, алкенил, алкинил, карбоциклик, гетероциклик, арил и гетероарил R1, R2, R3, R4, R5, R6, X1, X2, R11, R12, R13, R14 и R15 независимо друг от друга необязательно замещены одной или более группами, независимо

- 5 выбранными из галогена, CN, CF3, -OCF3, -NO2, оксо, -Si(C1-C6 алкил), -(CR19R20)nC (=Y')R16, -(CR19R20)n C(=Y')OR16, -(CR19R20)nC(=Y')NR16R17, -(CR19R20)nNR16R17, -(CR19R20)nOR16, -(CR19R20)n-SR16, -(CR19R20)n NR16C(=Y')R17, -(CR19R20)n NR16C (=Y')OR17, -(CR19R20)n NR18C(=Y')NR16R17, -(CR19R20)nNR17SO2R16, -(CR19R20)nOC (=Y')R16, -(CR19R20)nOC(=Y')OR16, -(CR19R20)nOC(=Y')NR16R17, -(CR19R20)nOS(O)2
- 10 (OR16), -(CR19R20)nOP(=Y')(OR16)(OR17), -(CR19R20)nOP(OR16)(OR17), -(CR19R20)nS (O)R16, -(CR19R20)nS(O)2R16, -(CR19R20)nS(O)2NR16R17, -(CR19R20)nS(O)(OR16), -(CR19R20)n S(O)2(OR16), -(CR19R20)n SC(=Y')R16, -(CR19R20)n SC(=Y')OR16, -(CR19R20)n SC(=Y')NR16R17 и R21;

каждый R16, R17 и R18 независимо представляет собой H, C1-C12 алкил, C2-C8

- 15 алкенил, C2-C8 алкинил, карбоциклик, гетероциклик, арил или гетероарил, причем указанный алкил, алкенил, алкинил, карбоциклик, гетероциклик, арил или гетероарил необязательно замещены одной или более группами, выбранными из галогена, оксо, CN, -OCF3, CF3, -NO2, C1-C6 алкила, -OH, -SH, -O(C1-C6 алкил), -S(C1-C6 алкил), -NH2, -NH(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)2, -SO2(C1-C6 алкил), -CO2H, -CO2(C1-C6 алкил), -C 20 (O)NH2, -C(O)NH(C1-C6 алкил), -C(O)N(C1-C6 алкил)2, -N(C1-C6 алкил)C(O)(C1-C6 алкил), -NHC(O)(C1-C6 алкил), -NHSO2(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)SO2(C1-C6 алкил), -SO2NH2, -SO2NH(C1-C6 алкил), -OC(O)N(C1-C6 алкил)2, -OC(O)O(C1-C6 алкил), -NHC(O)NH(C1-C6 алкил), -NHC(O)N(C1-C6 алкил)2, -N(C1-C6 алкил)C(O)NH(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)C(O)N(C1-C6 алкил)2, -NHC(O)NH(C1-C6 алкил), -NHC(O)N(C1-C6 алкил)2, -NHC(O)O(C1-C6 алкил), и -N(C1-C6 алкил)C(O)O(C1-C6 алкил);

или R16 и R17 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют 3-8-членное насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо, имеющее 0-2 гетероатома, выбранных из O, S и N, где указанное кольцо необязательно замещено

- 30 одной или более группами, выбранными из галогена, CN, -OCF3, CF3, -NO2, C1-C6 алкила, -OH, -SH, -O(C1-C6 алкил), -S(C1-C6 алкил), -NH2, -NH(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)2, -SO2(C1-C6 алкил), -CO2H, -CO2(C1-C6 алкил), -C(O)NH2, -C(O)NH(C1-C6 алкил), -C(O)N(C1-C6 алкил)2, -N(C1-C6 алкил)C(O)(C1-C6 алкил), -NHC(O)(C1-C6 алкил), -NHSO2(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)SO2(C1-C6 алкил), -SO2NH2, -SO2NH(C1-C6 алкил), -SO2N(C1-C6 алкил)2, -OC(O)NH2, -OC(O)NH(C1-C6 алкил), -OC(O)N(C1-C6 алкил)2, -OC(O)O(C1-C6 алкил), -NHC(O)NH(C1-C6 алкил), -NHC(O)N(C1-C6 алкил)2, -N(C1-C6 алкил)C(O)NH(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)C(O)N(C1-C6 алкил)2, -NHC(O)NH(C1-C6 алкил), -NHC(O)N(C1-C6 алкил)2, -NHC(O)O(C1-C6 алкил) и -N(C1-C6 алкил)C(O)O(C1-C6 алкил);

- 40 R19 и R20 независимо выбраны из H, C1-C12 алкила, -(CH2)n-арила, -(CH2)n-карбоциклила, -(CH2)n-гетероциклила и -(CH2)n-гетероарила;

R21 представляет собой C1-C12 алкил, C2-C8 алкенил, C2-C8 алкинил, карбоциклик, гетероциклик, арил или гетероарил, причем каждый член из R21 необязательно замещен одной или более группами, выбранными из галогена, CN, -OCF3, CF3, -NO2, C1-C6

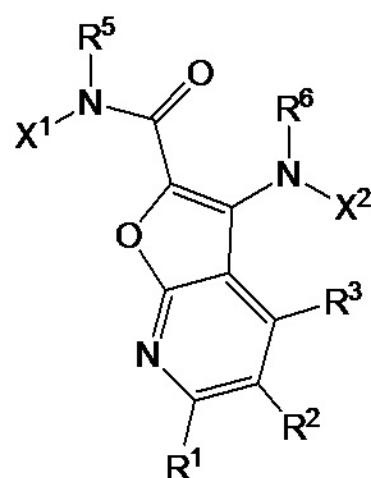
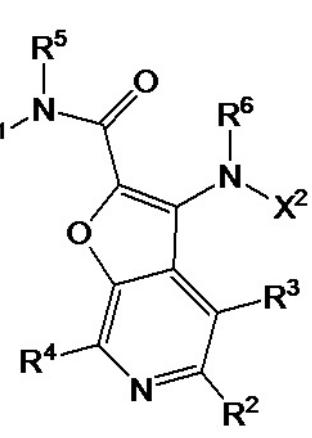
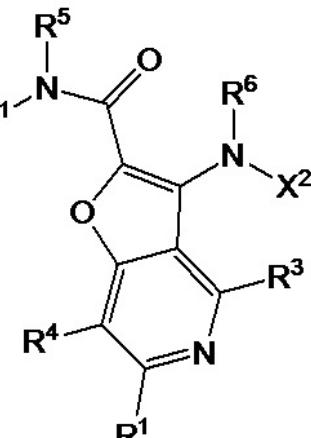
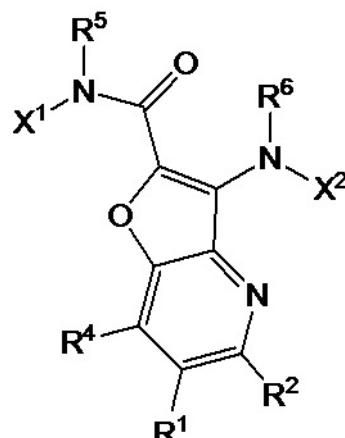
- 45 алкила, -OH, -SH, -O(C1-C6 алкил), -S(C1-C6 алкил), -NH2, -NH(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)2, -SO2(C1-C6 алкил), -CO2H, -CO2(C1-C6 алкил), -C(O)NH2, -C(O)NH(C1-C6 алкил), -C(O)N(C1-C6 алкил)2, -N(C1-C6 алкил)C(O)(C1-C6 алкил), -NHC(O)(C1-C6 алкил), -NHSO2(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)SO2(C1-C6 алкил), -SO2NH2, -SO2NH(C1-C6

алкил), $-\text{SO}_2\text{N}(\text{C}1\text{-C}6 \text{ алкил})_2$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NH}(\text{C}1\text{-C}6 \text{ алкил})$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{C}1\text{-C}6 \text{ алкил})_2$, $-\text{OC}(\text{O})\text{O}(\text{C}1\text{-C}6 \text{ алкил})$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}(\text{C}1\text{-C}6 \text{ алкил})$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{N}(\text{C}1\text{-C}6 \text{ алкил})_2$, $-\text{N}(\text{C}1\text{-C}6 \text{ алкил})\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{C}1\text{-C}6 \text{ алкил})$, $-\text{N}(\text{C}1\text{-C}6 \text{ алкил})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{C}1\text{-C}6 \text{ алкил})_2$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{N}(\text{C}1\text{-C}6 \text{ алкил})$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{O}(\text{C}1\text{-C}6 \text{ алкил})$, и $-\text{N}(\text{C}1\text{-C}6 \text{ алкил})\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{C}1\text{-C}6 \text{ алкил})$;

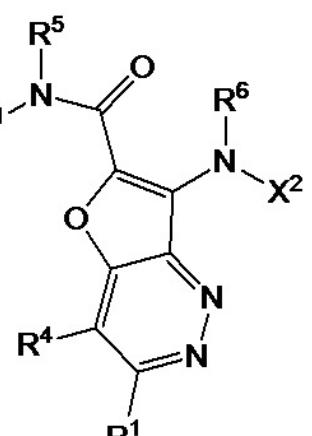
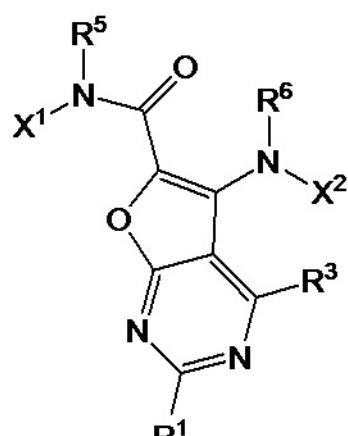
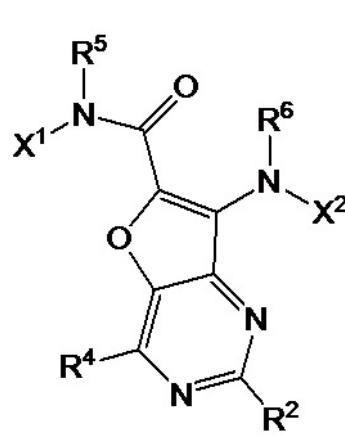
каждый Y' независимо представляет собой O , NR_{22} или S ; и

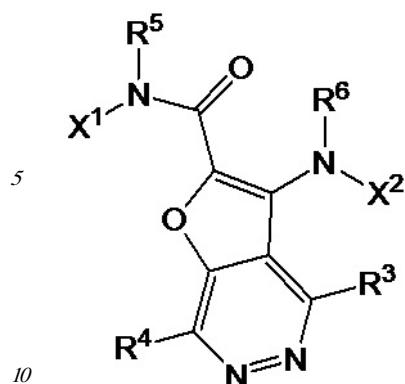
R_{22} представляет собой H или $\text{C}1\text{-C}12$ алкил.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор МЕК формулы (II) представляет собой соединение формулы (II-1-a), (II-1-b), (II-1-c), (II-1-d), (II-1-e), (II-1-f), (II-1-g), (II-1-h), (II-1-i), (II-2-a), (II-2-b), (II-2-c), (II-2-d), (II-2-e), (II-2-f), (II-2-g), (II-2-h), (II-2-i), (II-3-a), (II-3-b), (II-3-c), (II-3-d), (II-3-e), (II-3-f), (II-3-g), (II-3-h) или (II-3-i):

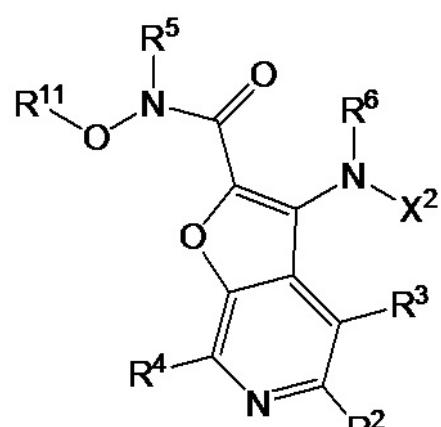
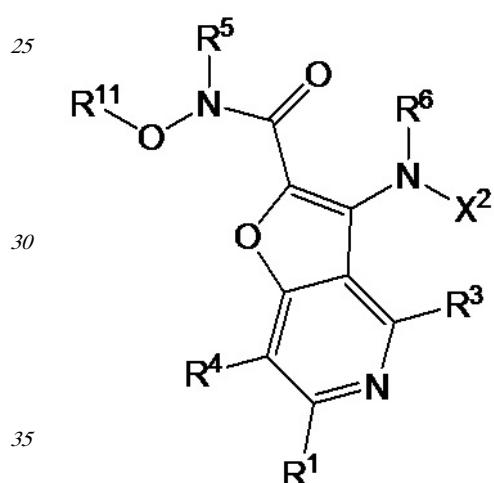
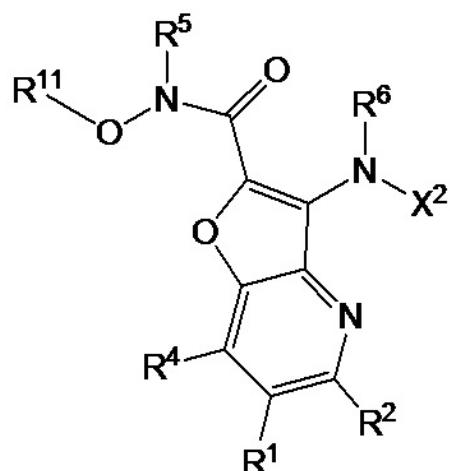
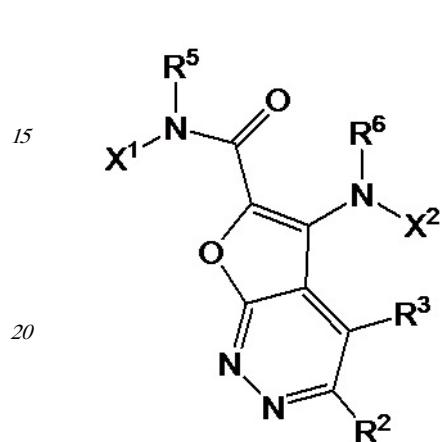


II-1-a II-1-b II-1-c II-1-d

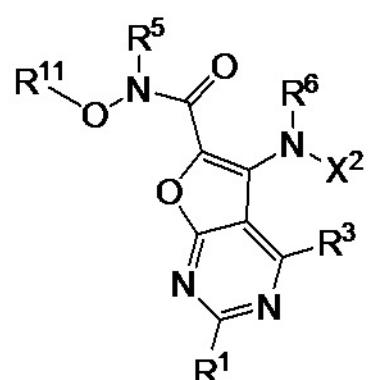
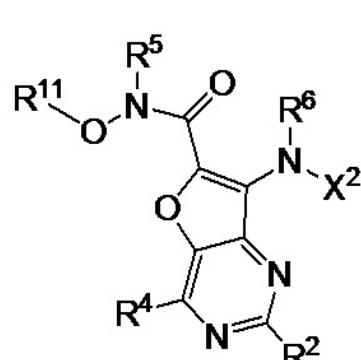
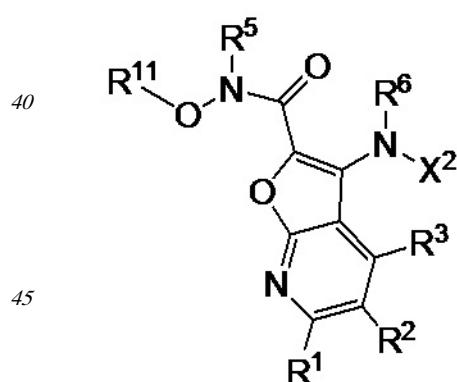


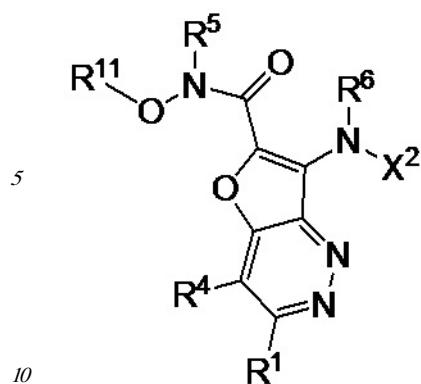


II-1-e II-1-f II-1-g II-1-h

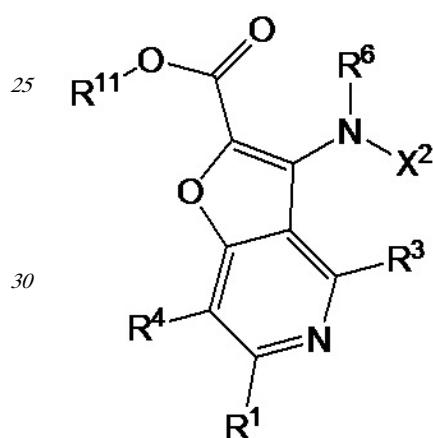
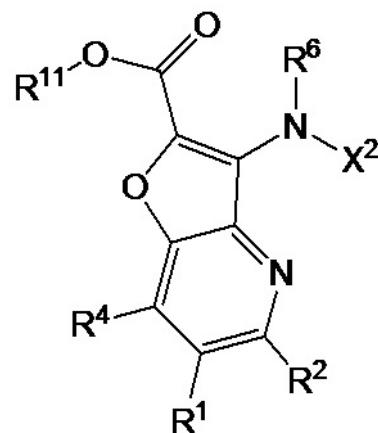
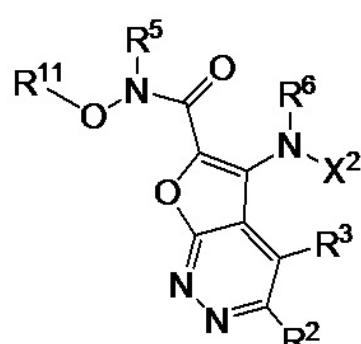
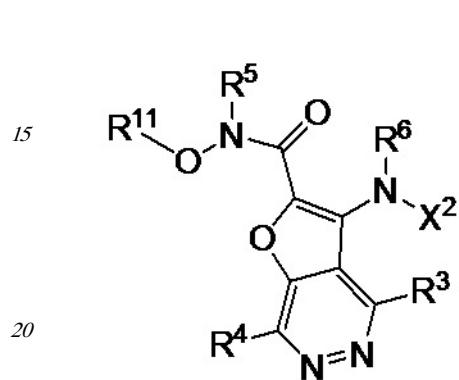


II-1-i II-2-a II-2-b II-2-c

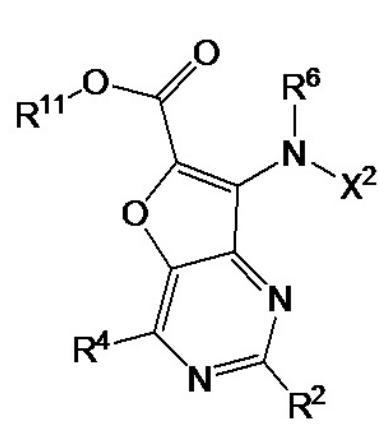
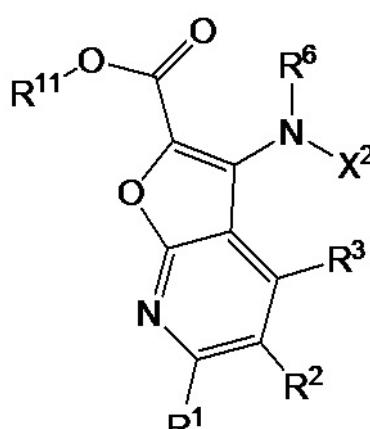
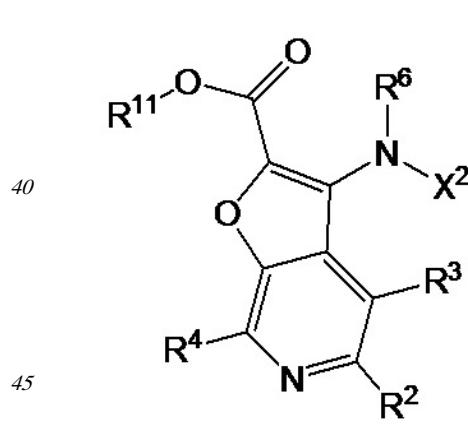


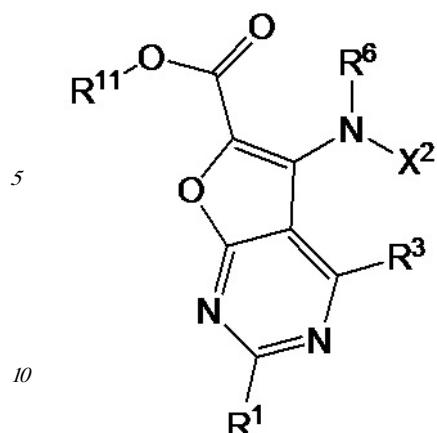


II-2-d II-2-e II-2-f II-2-g

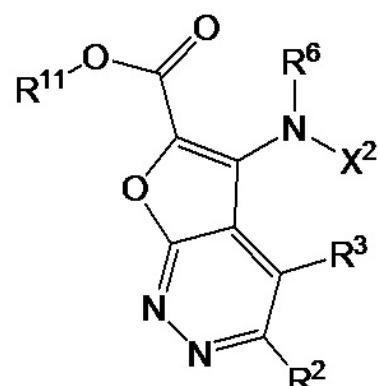
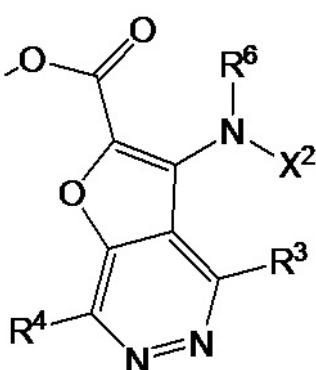
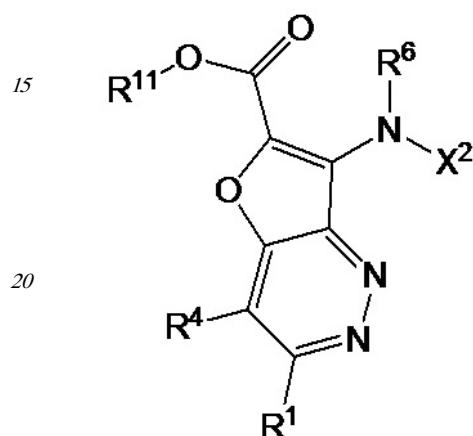


II-2-h II-2-i II-3-a II-3-b





II-3-c II-3-d II-3-e II-3-f



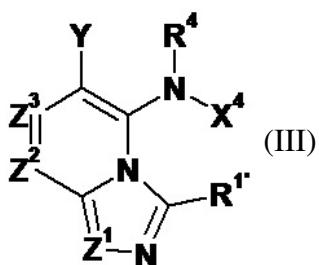
25 II-3-g II-3-h II-3-i

или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, причем переменные имеют значения, указанные для формулы (II), или как это определено в WO 2008/024725 A1, включенном в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор МЕК формулы (II) представляет собой соединение, выбранное из соединений примеров 5-18, 20-102, 30 105-109, 111-118, 120-133, 136-149 and 151-160 в WO 2008/024725 A1 (в данном документе все вместе называются как виды формулы II), или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата. Данные соединения демонстрировали IC 50 менее 10 мкМ в анализе, описанном или в примере 8а, или в 8б (анализы активности МЕК). Большинство этих соединений демонстрировали IC50 менее 5 мкМ. См. страницу 62 в WO 2008/024725 A1.

35 Также охватывает соединения ингибитора МЕК (и/или сольваты и их соли), описанные в WO 2008/024725 A1, который включен в данный документ посредством ссылки, например, соединения аза-бензофурана формулы (II), (обозначаемого как формула I в WO 2008/024725 A1, например, на странице 3) и их вариации, как описано в WO 2008/024725 A1. Соединения формулы (II) могут быть синтезированы с использованием способов, известных в данной области техники, например, способов синтеза, описанных в WO 2008/024725 A1, включенных в данный документ посредством ссылки.

40 45 В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор МЕК представляет собой соединение формулы (III):



или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, где:

Z1 представляет собой CR1 или N;

10 R1 представляет собой H, C1-C3 алкил, галоген, CF3, CHF2, CN, ORA или NRARA;

R1' представляет собой H, C1-C3 алкил, галоген, CF3, CHF2, CN, ORA, или NRARA; причем каждый RA независимо представляет собой H или C1-C3 алкил;

Z2 представляет собой CR2 или N;

15 Z3 представляет собой CR3 или N; при условии, что лишь один из Z1, Z2 и Z3 может быть N одновременно;

R2 и R3 независимо выбраны из H, галогена, CN, CF3, -OCF3, -NO2, -(CR14R15)nC(=Y)R11, -(CR14R15)nC(=Y')OR11, -(CR14R15)nC(=Y')NR11R12, -(CR14R15)nNR11R12, -(CR14R15)nOR11, -(CR14R15)nSR11, -(CR14R15)nNR12C(=Y')R11, -(CR14R15)nNR12C(=Y')OR11, -(CR14R15)nNR13C(=Y')NR11R12, -(CR14R15)nNR12SO2R11, -(CR14R15)nOC(=Y')R11, -(CR14R15)nOC(=Y')OR11, -(CR14R15)nOC(=Y')NR11R12, -(CR14R15)nOS(O)2(OR11), -(CR14R15)nOP(=Y')(OR11)(OR12), -(CR14R15)nOP(OR11)(OR12), -(CR14R15)nS(O)R11, -(CR14R15)nS(O)2R11, -(CR14R15)nS(O)2NR11R12, -(CR14R15)nS(O)(OR11), -(CR14R15)nS(O)2(OR11), -(CR14R15)nSC(=Y')R11, -(CR14R15)nSC(=Y')OR11, -(CR14R15)nSC(=Y')NR11R12, C1-C12 алкила, C2-C8 алкенила, C2-C8 алкинила, карбоциклила,

25 гетероциклила, арила и гетероарила;

R4 представляет собой H, C1-C6 алкил или C3-C4 карбоциклил;

Y представляет собой W-C(O)- или W';

30 W представляет собой $\begin{array}{c} \text{R}^5 \\ | \\ \text{X}^1-\text{N}-\text{X}^2 \end{array}$ или $\begin{array}{c} \text{R}^{11'}-\text{O}-\text{X}^3 \end{array}$;

R5 представляет собой H или C1-C12 алкил;

X1 выбран из R11' и -OR11'; где X1 представляет собой R11', X1 необязательно взятые вместе с R5 и атомом азота, к которому они присоединены, образуют 4-7-членное

35 насыщенное или ненасыщенное кольцо, содержащее 0-2 дополнительных гетероатома, выбранных из O, S и N, причем указанное кольцо необязательно замещено одной или более группами, выбранными из галогена, CN, CF3, -OCF3, -NO2, оксо, -(CR19R20)nC(=Y')R16, -(CR19R20)nC(=Y')OR16, -(CR19R20)nC(=Y')NR16R17, -(CR19R20)nNR16R17, -(CR19R20)nOR16, -(CR19R20)n-SR16, -(CR19R20)nNR16C(=Y')R17, -(CR19R20)nNR16C(=Y')OR17, -(CR19R20)nNR18C(=Y')NR16R17, -(CR19R20)nNR17SO2R16, -(CR19R20)nOC(=Y')R16, -(CR19R20)nOC(=Y')OR16, -(CR19R20)nOC(=Y')NR16R17, -(CR19R20)nOS(O)2(OR16), -(CR19R20)nOP(=Y')(OR16)(OR17), -(CR19R20)nOP(OR16)(OR17), -(CR19R20)nS(O)R16, -(CR19R20)nS(O)2R16, -(CR19R20)nS(O)2NR16R17, -(CR19R20)nS(O)(OR16), -(CR19R20)nS(O)2(OR16), -(CR19R20)nSC(=Y')R16, -(CR19R20)nSC(=Y')OR16, -(CR19R20)nSC(=Y')NR16R17 и R21;

40 каждый R11' независимо представляет собой H, C1-C12 алкил, C2-C8 алкенил, C2-C8 алкинил, карбоциклил, гетероциклил, арил или гетероарил;

45 R11, R12 и R13 независимо представляет собой H, алкил C1-C12, алкенил C2-C8,

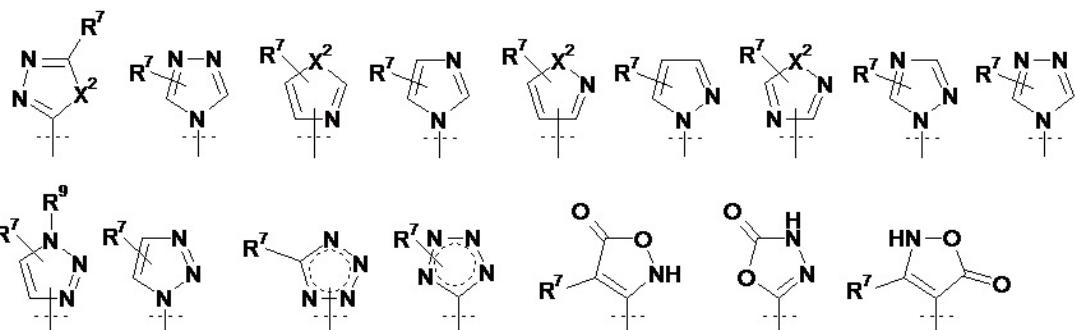
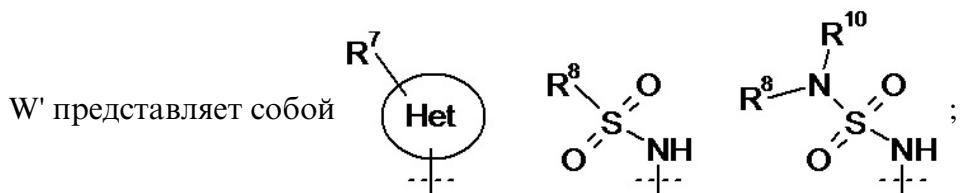
алкинил C2-C8, карбоциклик, гетероциклик, арил или гетероарил,

или R11 и R12 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют 3-8-членное насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо, имеющее 0-2 гетероатома, выбранных из O, S и N, где указанное кольцо необязательно замещено

5 одной или более группами, выбранными из галогена, CN, CF3, -OCF3, -NO2, C1-C6 алкила, -OH, -SH, -O(C1-C6 алкил), -S(C1-C6 алкил), -NH2, -NH(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)2, -SO2(C1-C6 алкил), -CO2H, -CO2(C1-C6 алкил), -C(O)NH2, -C(O)NH(C1-C6 алкил), -C(O)N(C1-C6 алкил)2, -N(C1-C6 алкил)C(O)(C1-C6 алкил), -NHC(O)(C1-C6 алкил), -NHSO2(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)SO2(C1-C6 алкил), -SO2NH2, -SO2NH(C1-C6

10 алкил), -SO2N(C1-C6 алкил)2, -OC(O)NH2, -OC(O)NH(C1-C6 алкил), -OC(O)N(C1-C6 алкил)2, -OC(O)O(C1-C6 алкил), -NHC(O)NH(C1-C6 алкил), -NHC(O)N(C1-C6 алкил)2, -N(C1-C6 алкил)C(O)NH(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)C(O)N(C1-C6 алкил)2, -NHC(O)NH(C1-C6 алкил), -NHC(O)N(C1-C6 алкил)2, -NHC(O)O(C1-C6 алкил), и -N(C1-C6 алкил)C(O)O(C1-C6 алкил);

15 R14 и R15 независимо выбраны из H, C1-C12 алкила, арила, карбоциклила, гетероциклила и гетероарила;



30 каждый X2 независимо представляет собой O, S или NR9;

35 каждый R7 независимо выбран из H, галогена, CN, CF3, -OCF3, -NO2, -(CR14R15)nC(=Y')R11, -(CR14R15)nC(=Y')OR11, -(CR14R15)nC(=Y')NR11R12, -(CR14R15)nNR11R12, -(CR14R15)nOR11, -(CR14R15)nSR11, -(CR14R15)nNR12C(=Y')R11, -(CR14R15)nNR12C(=Y')OR11, -(CR14R15)nNR13C(=Y')NR11R12, -(CR14R15)nNR12SO2R11, -(CR14R15)nOC(=Y')R11, -(CR14R15)nOC(=Y')OR11, -(CR14R15)nOC(=Y')NR11R12, -(CR14R15)nOS(O)2(OR11), -(CR14R15)nOP(=Y')(OR11)(OR12), -(CR14R15)nOP(OR11)(OR12), -(CR14R15)nS(O)R11, -(CR14R15)nS(O)2R11, -(CR14R15)nS(O)2NR11R12, -(CR14R15)nS(O)(OR11), -(CR14R15)nS(O)2(OR11), -(CR14R15)nSC(=Y')R11, -(CR14R15)nSC(=Y')OR11, -(CR14R15)nSC(=Y')NR11R12, C1-C12 алкила, C2-C8 алкинила, карбоциклила, гетероциклила, арила и гетероарила;

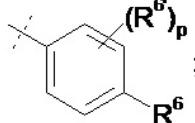
40 45 каждый R8 независимо выбран из C1-C12 алкила, арила, карбоциклила, гетероциклила и гетероарила;

R9 выбран из H, -(CR14R15)nC(=Y')R11, -(CR14R15)nC(=Y')OR11, -(CR14R15)nC(=Y')NR11R12, -(CR14R15)qNR11R12, -(CR14R15)qOR11, -(CR14R15)qSR11, -(CR14R15)qNR12C

(=Y')R11, -(CR14R15)qNR12C(=Y')OR11, -(CR14R15)qNR13C(=Y')NR11R12, -(CR14R15)qNR12SO2R11, -(CR14R15)qOC(=Y')R11, -(CR14R15)qOC(=Y')OR11, -(CR14R15)qOC(=Y')NR11R12, -(CR14R15)qOS(O)2(OR11), -(CR14R15)qOP(=Y')(OR11)(OR12), -(CR14R15)qOP(OR11)(OR12), -(CR14R15)nS(O)R11, -(CR14R15)nS(O)2R11, -(CR14R15)nS(O)2NR11R12,

5 C1-C12 алкила, C2-C8 алкенила, C2-C8 алкинила, карбоциклила, гетероциклила, арила и гетероарила;

R10 представляет собой H, C1-C6 алкил или C3-C4 карбоциклил;

10 X4 представляет собой ;

R6 представляет собой H, галоген, C1-C6 алкил, C2-C8 алкенил, C2-C8 карбоциклил, гетероарил, гетероциклил, -OCF3, -NO2, -Si(C1-C6 алкил), -(CR19R20)nNR16R17, -(CR19R20)nOR16, или -(CR19R20)n-SR16;

15 R6' представляет собой H, галоген, C1-C6 алкил, карбоциклил, CF3, -OCF3, -NO2, -Si(C1-C6 алкил), -(CR19R20)nNR16R17, -(CR19R20)nOR16, -(CR19R20)n-SR16, C2-C8 алкенил, C2-C8 алкинил, гетероциклил, арил или гетероарил;

p представляет собой 0, 1, 2 или 3;

n представляет собой 0,1, 2 или 3;

20 q представляет собой 2 или 3;

причем каждый указанный алкил, алкенил, алкинил, карбоциклил, гетероциклил, арил и гетероарил R1, R2, R3, R4, R5, R6, R6', R7, R8, R9, R10, R11, R11', R12, R13, R14, R15 и RA независимо друг от друга необязательно замещены одной или более группами, независимо выбранными из галогена, CN, CF3, -OCF3, -NO2, оксо, -Si(C1-C6 alkyl), -

25 (CR19R20)nC(=Y')R16, -(CR19R20)nC(=Y')OR16, -(CR19R20)nC(=Y')NR16R17, -(CR19R20)nNR16R17, -(CR19R20)nOR16, -(CR19R20)nSR16, -(CR19R20)nNR16C(=Y')R17, -(CR19R20)nNR16C(=Y')OR17, -(CR19R20)nNR18C(=Y')NR16R17, -(CR19R20)nNR17SO2R16, -(CR19R20)nOC(=Y')R16, -(CR19R20)nOC(=Y')OR16, -(CR19R20)nOC(=Y')NR16R17, -(CR19R20)nOS(O)2(OR16), -(CR19R20)nOP(=Y')(OR16)(OR17), -(CR19R20)nOP(OR16)

30 (OR17), -(CR19R20)nS(O)R16, -(CR19R20)nS(O)2R16, -(CR19R20)nS(O)2NR16R17, -(CR19R20)nS(O)(OR16), -(CR19R20)nS(O)2(OR16), -(CR19R20)nSC(=Y')R16, -(CR19R20)nSC(=Y')OR16, -(CR19R20)nSC(=Y')NR16R17, и R21;

каждый R16, R17 и R18 независимо представляет собой H, C1-C12 алкил, C2-C8 алкенил, C2-C8 алкинил, карбоциклил, гетероциклил, арил или гетероарил, причем

35 указанный алкил, алкенил, алкинил, карбоциклил, гетероциклил, арил или гетероарил необязательно замещен одной или более группами, выбранными из галогена CN, -OCF3, CF3, -NO2, C1-C6 алкила, -OH, -SH, -O(C1-C6 алкил), -S(C1-C6 алкил), -NH2, -NH(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)2, -SO2(C1-C6 алкил), -CO2H, -CO2(C1-C6 алкил), -C(O)NH2, -C(O)NH(C1-C6 алкил), -C(O)N(C1-C6 алкил)2, -N(C1-C6 алкил)C(O)(C1-C6 алкил), -NHC(O)(C1-C6 алкил), -NHSO2(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)SO2(C1-C6 алкил), -SO2NH2, -SO2NH(C1-C6 алкил), -SO2N(C1-C6 алкил)2, -OC(O)NH2, -OC(O)NH(C1-C6 алкил), -OC(O)N(C1-C6 алкил)2, -OC(O)O(C1-C6 алкил), -NHC(O)NH(C1-C6 алкил), -NHC(O)N(C1-C6 алкил)2, -N(C1-C6 алкил)C(O)NH(C1-C6 алкил), -N(C1-C6 алкил)C(O)N(C1-C6 алкил)2, -NHC(O)NH(C1-C6 алкил), -NHC(O)N(C1-C6 алкил)2, -NHC(O)O(C1-C6 алкил) и -N(C1-C6 алкил)C(O)O(C1-C6 алкил);

45 или R16 и R17 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют 3-8-членное насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо, имеющее 0-2 гетератома, выбранных из O, S и N, где указанное кольцо необязательно замещено

одной или более группами, выбранными из галогена, CN, -OCF₃, CF₃, -NO₂, C₁-C₆ алкила, -OH, -SH, -O(C₁-C₆ алкил), -S(C₁-C₆ алкил), -NH₂, -NH(C₁-C₆ алкил), -N(C₁-C₆ алкил)₂, -SO₂(C₁-C₆ алкил), -CO₂H, -CO₂(C₁-C₆ алкил), -C(O)NH₂, -C(O)NH(C₁-C₆ алкил), -C(O)N(C₁-C₆ алкил)₂, -N(C₁-C₆ алкил)C(O)(C₁-C₆ алкил), -NHC(O)(C₁-C₆ алкил), -NHSO₂(C₁-C₆ алкил), -N(C₁-C₆ алкил)SO₂(C₁-C₆ алкил), -SO₂NH₂, -SO₂NH(C₁-C₆ алкил), -SO₂N(C₁-C₆ алкил)₂, -OC(O)NH₂, -OC(O)NH(C₁-C₆ алкил), -OC(O)N(C₁-C₆ алкил)₂, -OC(O)O(C₁-C₆ алкил), -NHC(O)NH(C₁-C₆ алкил), -NHC(O)N(C₁-C₆ алкил)₂, -N(C₁-C₆ алкил)C(O)NH(C₁-C₆ алкил), -N(C₁-C₆ алкил)C(O)N(C₁-C₆ алкил)₂, -NHC(O)NH(C₁-C₆ алкил), -NHC(O)N(C₁-C₆ алкил)₂, -NHC(O)O(C₁-C₆ алкил) и -N(C₁-C₆ алкил)C(O)O(C₁-C₆ алкил);

R19 и R20 независимо выбраны из H, C₁-C₁₂ алкила, -(CH₂)_n-арила, -(CH₂)_n-карбоциклила, -(CH₂)_n-гетероциклила и -(CH₂)_n-гетероарила;

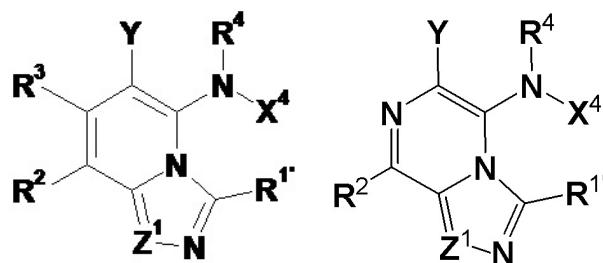
R21 представляет собой C₁-C₁₂ алкил, C₂-C₈ алкенил, C₂-C₈ алкинил, карбоциклик, гетероциклик, арил или гетероарил, причем каждый член из R21 необязательно замещен

одной или более группами, выбранными из галогена, оксо, CN, -OCF₃, CF₃, -NO₂, C₁-C₆ алкила, -OH, -SH, -O(C₁-C₆ алкил), -S(C₁-C₆ алкил), -NH₂, -NH(C₁-C₆ алкил), -N(C₁-C₆ алкил)₂, -SO₂(C₁-C₆ алкил), -CO₂H, -CO₂(C₁-C₆ алкил), -C(O)NH₂, -C(O)NH(C₁-C₆ алкил), -C(O)N(C₁-C₆ алкил)₂, -NHC(O)NH(C₁-C₆ алкил), -NHC(O)N(C₁-C₆ алкил)₂, -NHSO₂(C₁-C₆ алкил), -N(C₁-C₆ алкил)SO₂(C₁-C₆ алкил), -SO₂NH₂, -SO₂NH(C₁-C₆ алкил), -SO₂N(C₁-C₆ алкил)₂, -OC(O)NH₂, -OC(O)NH(C₁-C₆ алкил), -OC(O)N(C₁-C₆ алкил)₂, -OC(O)O(C₁-C₆ алкил), -NHC(O)NH(C₁-C₆ алкил), -NHC(O)N(C₁-C₆ алкил)₂, -NHC(O)NH(C₁-C₆ алкил), -NHC(O)N(C₁-C₆ алкил)₂, -NHC(O)O(C₁-C₆ алкил), и -N(C₁-C₆ алкил)C(O)O(C₁-C₆ алкил);

каждый Y' независимо представляет собой O, NR₂₂ или S; и

R22 представляет собой H или C₁-C₁₂ алкил.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор MEK формулы (III) имеет формулу (III-а) или (III-б):



III-а III-б

или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, причем переменные имеют значения, указанные для формулы (III), или как это определено в WO 2009/085983 A1, включенным в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор MEK формулы (III) представляет собой соединение, выбранное из соединений, перечисленных в таблице 1, или фармацевтически приемлемой соли или его сольвата.

Таблица 1

Соединение №	Химическое название	Структура
--------------	---------------------	-----------

5	(III)-5	(2-гидроксизетокси)-амид 5- (2-фтор-4-иодфе-ниламино)-имидазо[1,5-а]пиридин-6-карбоновой кислоты	
10	(III)-6	((R)-2,3-дигидроксипропокси)-амид 5- (2-фтор-4-иодフェниламино)-имидазо[1,5-а]пиридин-6-карбоновой кислоты	
15	(III)-7	((S)-2-гидроксипропокси)-амид 5-(2-фтор-4-иод-фениламино)-имидазо[1,5-а]пиридин-6-карбоновой кислоты	
20	(III)-8	(2-гидроксизетокси)-амид 5-(4-бром-2-фторфе-ниламино)-имидазо[1,5-а]пиридин-6-карбоновой кислоты	
25	(III)-9	((S)-2-гидроксипропокси)-амид 5-(4-бром-2-фторфениламино)-имидазо[1,5-а]пиридин-6-карбоновой кислоты	
30	(III)-10	((S)-2-гидроксипропокси)-амид 5-(4-бром-2-фторфениламино)-8-фтор-имидазо[1,5-а]пиридин-6-карбоновой кислоты	
35	(III)-11	(2-гидроксизетокси)-амид 8-фтор-5-(2-фтор-4-иод-фениламино)-имидазо[1,5-а]пиридин-6-карбоновой кислоты	

5	(III)-12	((R)-2,3-дигидроксипропокси)-амид 8-фтор-5-(2-фтор-4-иодфениламино)-имидазо[1,5-а]пиридин-6-карбоновой кислоты	
10	(III)-13	((S)-2-гидроксипропокси)-амид 8-фтор-5-(2-фтор-4-иодфениламино)-имидазо[1,5-а]пиридин-6-карбоновой кислоты	
15	(III)-14	(2-гидроксизетокси)-амид 5-(2-фтор-метансульфанилфениламино)-имидазо[1,5-а]пиридин-6-карбоновой кислоты	
20	(III)-15	(2-гидроксизетокси)-амид 5-(2-фтор-4-иодфениламино)-имидазо[1,5-а]пиразин-6-карбоновой кислоты	
25	(III)-16	((S)-2-гидроксипропокси)-амид 5-(2-фтор-4-иодфениламино)-имидазо[1,5-а]пиразин-6-карбоновой кислоты	
30	(III)-17	(2-гидроксизетокси)-амид 5-(4-циклогексил-2-фторфениламино)-имидазо[1,5-а]пиридин-6-карбоновой кислоты	
35	(III)-18	(R)-N - (2,3-дигидроксипропокси) -5-(2-фтор-4-иодофениламино)имидазо[1,5-а]пиразин-6-карбоксамид	
40	(III)-19	N этокси-5- (2-фтор-4-иодофениламино)имидазо[1,5-а]пиразин-6-карбоксамид	
45			

5	(III)-20	N - (циклогексилметокси) - 5- (2-фтор-4-иодофениламино)имидазо[1,5-а]пиразин-6-карбоксамид	
10	(III)-21	5-(2-фтор-4-иодофениламино) -N -метилимидазо[1,5- а]пиразин-6-карбоксамид	
15	(III)-22	5- (4-бром-2-фторфениламино) - N-(2-гидроксиэтокси)имидазо[1,5-а]пиразин-6-карбоксамид	
20	(III)-23	(S) -5- (4-бром-2-фторфениламино) - N-(2-гидроксипропокси)имидазо[1,5-а]пиразин-6-карбоксамид	
25	(III)-24	(R)-5-(4-бром-2-фторфениламино) -N -(2,3-дигидроксипропокси)имидазо[1,5- а]пиразин-6-карбоксамид	
30	(III)-25	5- (4-бром-2-фторфениламино) - N-(циклогексилметокси)имидазо[1,5-а]пиразин-6-карбоксамид	
35			

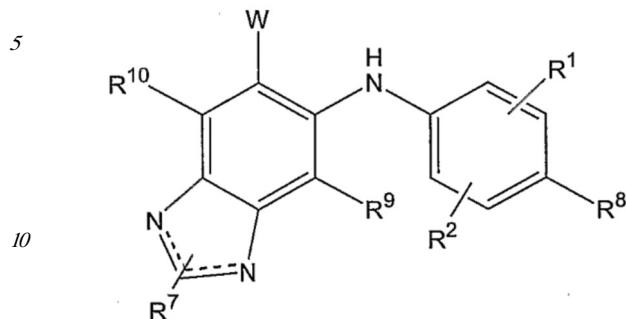
Соединения в таблице 1 соответствуют примерам 5-25 в WO 2009/085983 A1.

Соединения (III)-5 - (III)-20 и (III)-22 - (III)-24 демонстрировали IC50 менее 0,5 мкМ в анализе, описанном в примере 8b (анализ активности МЕК). Некоторые из этих соединений демонстрировали IC50 менее 0,1 мкМ. Соединения (III)-21 и (III)-25 демонстрировали IC50 менее 10 мкМ. См. страницу 49 в WO 2009/085983 A1.

Также охватывает соединения-ингибиторы МЕК (и/или сольваты и их соли), описанные в WO 2009/085983 A1, который включен в данный документ посредством ссылки, например, соединения имидазопиридина формулы (III), (называемого как формула I в WO 2009/085983 A1, например, на странице 3) и их вариации, как описано в WO 2009/085983 A1. Соединения формулы (III) могут быть синтезированы с использованием способов, известных в данной области техники, например, способов синтеза, описанных в WO2009/085983 A1, включенном в данный документ посредством

ссылки.

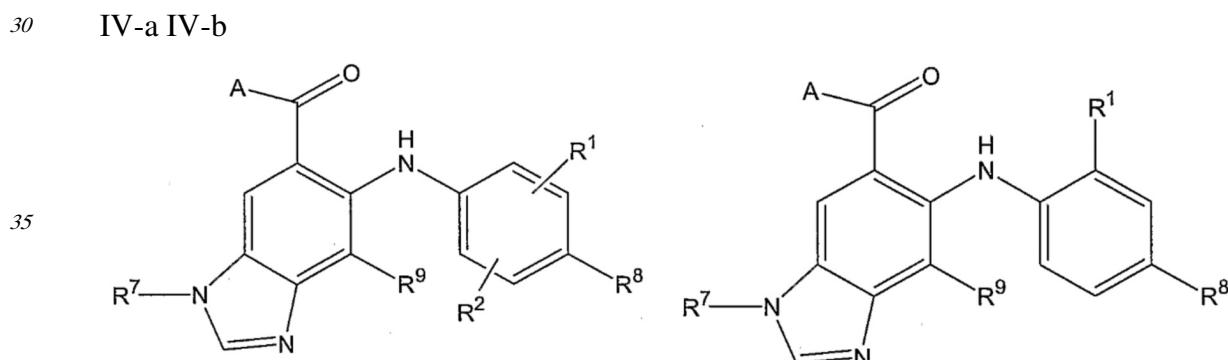
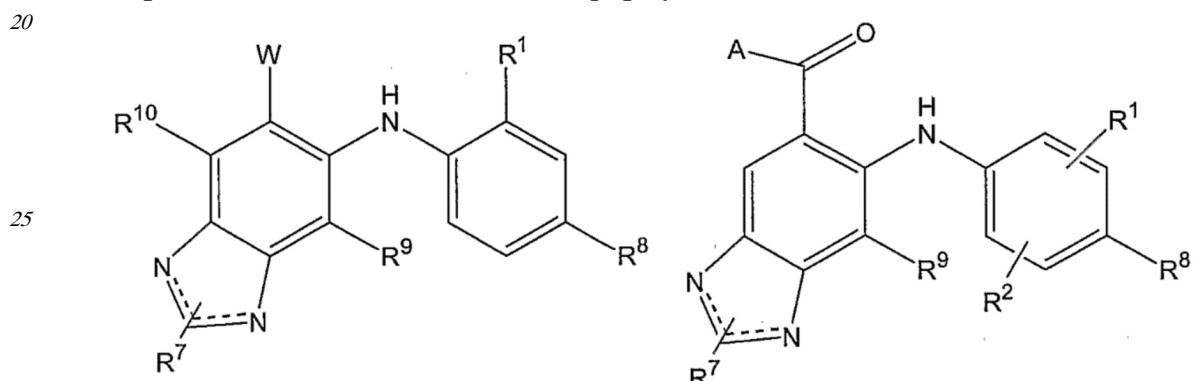
В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор MEK представляет собой соединение формулы (IV),



IV

или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, причем переменные имеют 15 значения, указанные в WO 03/077914 A1 для формулы (I) на страницах 4-9 или любые применимые варианты, описанные в WO 03/077914 A1, включенном в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор MEK формулы (IV) представляет собой соединение формулы (IV-a), (IV-b), (IV-c) или (IV-d):



или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, причем переменные имеют значения, указанные в WO 03/077914 A1 для формул II, III, IIIa и IIIb, соответственно на страницах 10-13 или любые применимые варианты, описанные в WO 03/077914 A1, включенном в данный документ посредством ссылки.

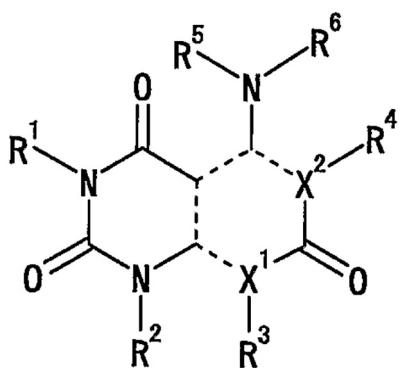
В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор MEK формулы (IV) представляет собой соединение, выбранное из группы, состоящей из:

Циклопропилметоксиамид 7-фтор-6-(4-бром-2-метилфениламино)-3Н-бензимидазол-5-карбоновой кислоты; Циклопропилметоксиамид 6-(4-бром-2-хлорфениламино)-7-фтор-3Н-бензимидазол-5-карбоновой кислоты; (2-гидроксизтокси)-амид 6-(4-бром-

2-хлорфениламино)-7-фтор-3-метил-3Н-бензоимидазол-5-карбоновой кислоты; (2,3-дигидроксипропокси)-амид 6-(4-бром-2-хлорфениламино)-7-фтор-3-метил-3Н-бензоимидазол-5-карбоновой кислоты; (2-гидроксизетокси)-амид 6-(4-бром-2-хлорфениламино)-7-фтор-3-(тетрагидропиран-2-илметил)-3Н-бензоимидазол-5-карбоновой кислоты; [6-(5-амино-[1,3,4]оксадиазол-2-ил)-4-фтор-1Н-бензимидазол-5-ил]-4-бром-2-метилфенил)-амин; 1-[6-(4-бром-2-хлорфениламино)-7-фтор-3-метил-3Н-бензимидазол-5-ил]-2-гидроксизетанон; 1-[6-(4-бром-2-хлорфениламино)-7-фтор-3Н-бензимидазол-5-ил]-2-метоксизетанон; (2-гидрокси-1,1-диметилэтокси)-амид 6-(4-бром-2-хлорфениламино)-7-фтор-3-метил-3Н-бензоимидазол-5-карбоновой кислоты; (2-гидроксизетокси)-амид 6-(4-бром-2-хлорфениламино)-7-фтор-3-(тетрагидрофуран-2-илметил)-3Н-бензоимидазол-5-карбоновой кислоты; (2-гидроксизетокси)-амид 6-(4-бром-2-хлорфениламино)-7-фтор-3Н-бензоимидазол-5-карбоновой кислоты; (2-гидроксизетокси)-амид 6-(4-бром-2-фторфениламино)-7-фтор-3-метил-3Н-бензоимидазол-5-карбоновой кислоты; и (2-гидроксизетокси)-амид 6-(2,4-дихлорфениламино)-7-фтор-3-метил-3Н-бензоимидазол-5-карбоновой кислоты; или его фармацевтически приемлемой соли или сольваты.

Также охватывает любые вариации формулы (IV), как описано в WO 03/077914 A1, которая включена в данный документ посредством ссылки. Соединения формулы (IV) или любые его варианты могут быть синтезированы с использованием способов, известных в данной области техники, например, способов синтеза, описанных в WO 03/077914 A1, включенных в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор МЕК представляет собой соединение формулы (V),

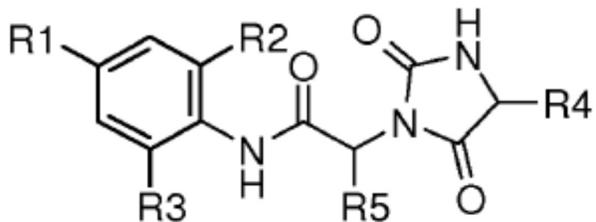


V

или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, причем переменные имеют значения, указанные в WO 2005/121142 A1 для формулы [I] на страницах 6-10 или любые применимые варианты, описанные в WO 2005/121142 A1, включенном в данный документ посредством ссылки.

Также охватывает любые вариации формулы (V) как описано в WO 2005/121142 A1, такие как конкретные соединения-ингибиторы МЕК, описанные в WO 2005/121142 A1, например, примеры от 1-1 до 1-343 в таблице 1, примеры 2-1 и 2-2 в таблице 2, примеры от 3-1 до 3-9 в таблице 3, примеры от 4-1 до 4-148 в таблице 4. Соединения формулы (V) или любые его варианты могут быть синтезированы с использованием способов, известных в данной области техники, например, способов синтеза, описанных в WO 2005/121142 A1, включенном в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор МЕК представляет собой соединение формулы (VI),



VI

или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, где:

R1 выбран из группы, состоящей из брома, иода, этинила, циклоалкила, алкокси, азетидинила, ацетила, гетероциклила, циано, алкила с неразветвленной цепью и алкила с разветвленной цепью;

R2 выбран из группы, состоящей из водорода, хлора, фтора и алкила;

R3 выбран из группы, состоящей из водорода, хлора и фтора;

R4 выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного арила, алкила и циклоалкила;

R5 выбран из группы, состоящей из водорода и $\begin{array}{c} \text{R6} - \text{C} - \text{R8} \\ | \\ \text{R7} \end{array}$;

причем R6 выбран из группы, состоящей из гидроксила, алкокси, циклоалкила, необязательно замещенного алкила, необязательно замещенного арила и необязательно замещенного гетероарила;

R7 и R8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного алкила;

или R6 и R7 могут вместе образовать циклоалкильную группу и R8 представляет собой водород.

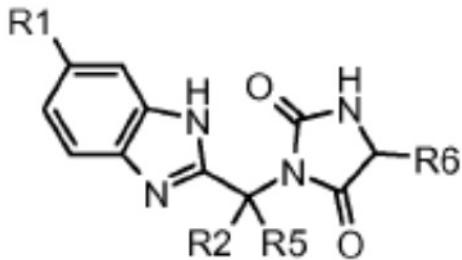
В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор МЕК представляет собой формулу (VI) или его фармацевтически приемлемую соль или сложный эфир, причем переменные имеют значения, указанные в WO 2007/096259 A1 для формулы I, или любые применимые варианты, описанные на страницах 4-10 в WO 2007/096259 A1, включенном в данный документ посредством ссылки. Дополнительно, охватываемые ингибиторы МЕК представляют собой соединения, описанные в примерах 1-182 в WO 2007/096259 A1, включенном в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор МЕК формулы (VI) представляет собой соединение, выбранное из группы, состоящей из: (2S, 3S)-N-(4-бромфенил)-2-[(R)-4-(4-метоксифенил)-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил]-3-фенилбутирамид; (2S, 3S)-N-(4-иодофенил)-2-[(R)-4-(4-метоксифенил)-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил]-3-фенилбутирамид; (2S, 3S)-N-(2-фтор-4-иодфенил)-2-[(R)-4-[4-(2-гидроксиятокси)-фенил]-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил]-3-фенилбутирамид; (2S, 3S)-N-(4-этинил-2-фторфенил)-2-[(R)-4-[4-(2-гидроксиятокси)-фенил]-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил]-3-фенилбутирамид; (2R, 3S)-N-(4-этинил-2-фторфенил)-2-[(R)-4-[4-(2-гидроксиятокси)-фенил]-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил]-3-фенилбутирамид; (2S, 3S)-N-(2-хлор-4-иодфенил)-2-[(R)-4-[4-(2-гидроксиятокси)-фенил]-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил]-3-фенилбутирамид; (2S, 3S)-2-[(R)-4-[4-(2-гидроксиятокси)-фенил]-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил]-N-(4-иод-2-метилфенил)-3-фенилбутирамид; (2S, 3S)-N-(2-хлор-4-иодфенил)-2-[(R)-4-[4-((R)-2, -дигидроксипропокси)-фенил]-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил]-3-фенилбутирамид; (2S, 3S)-N-(2-хлор-4-иодфенил)-2-[(R)-

4-[4-((S)-2,3-дигидроксипропокси)-фенил]-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил}-3-фенилбутирамид; (2S, 3S)-2-{(R) -2,5-диоксо-4- [4- (2-оксо-2-пирролидин-1-ил-этокси)-фенил]-имидализолидин-1-ил}-N-(2-фтор-4-иодфенил)-3-фенилбутирамид; (2S, 3S) -2 - (R) -2,5-диоксо-4-тиофен-3-ил-имидализолидин-1-ил) -N- (4-иодфенил) -3-фенилбутирамид;

5 (S) -2 - [(R) -4- (2,3-дигидробензо[1,4]диоксин-6-ил)-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил]-N-(2-фтор-4-иодфенил)-3-фенилпропионамид; (S)-2-[(R) -4- (4-ацетиламинофенил)-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил]-N-(2-фтор-4-иодфенил)-3-фенилпропионамид; Диметиловый эфир (4 - {(R) -1 - [(1S, 2S) -1- (2-фтор-4-иод-фенилкарбамоил) -2-фенилпропил]-2,5-диоксоимидазолидин-4-ил}-феноксиметил)-фосфоновой кислоты; (2S, 3S) -N-(2-фтор-10 4-иодфенил)-2-((R) -4-изопропил-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил)-3-фенилбутирамид; (S) -N-(2-фтор-4-иодфенил)-2-{(R)-4-[4-(2-гидроксиэтокси)-фенил]-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил}-3-метилбутирамид; (S)-N-(2-фтор-4-иодфенил)-2-[(R)-4-(4-метоксифенил)-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил]-3-о-толилпропионамид; (S) -N-(2-фтор-4-иодфенил)-2-[(R)-4-(4-метоксифенил)-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил]-3-м-толилпропионамид; (S) -N-(2-фтор-4-иодфенил)-2-[(R)-4-(4-метоксифенил)-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил]-3-п-толилпропионамид; и (S)-N-(4-циклогексил-2-фторфенил)-3-(4-фторфенил)-2-{(R) -4- [4-(2-гидрокси-1-гидроксиметилэтокси)-фенил]-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил}-пропионамид; или его фармацевтически приемлемую соль или сложный эфир.

20 В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор МЕК представляет собой соединение формулы (VII),



VII

30 или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, где:

R1 выбран из группы, состоящей из галогена, этинила и циклоалкила;

R2 выбран из группы, состоящей из водорода и CH(R3)(R4);

R3 выбран из группы, состоящей из низшего алкила, низшего алcoxси, необязательно замещенного арила и необязательно замещенного гетероарила;

35 R4 выбран из группы, состоящей из водорода и низшего алкила;

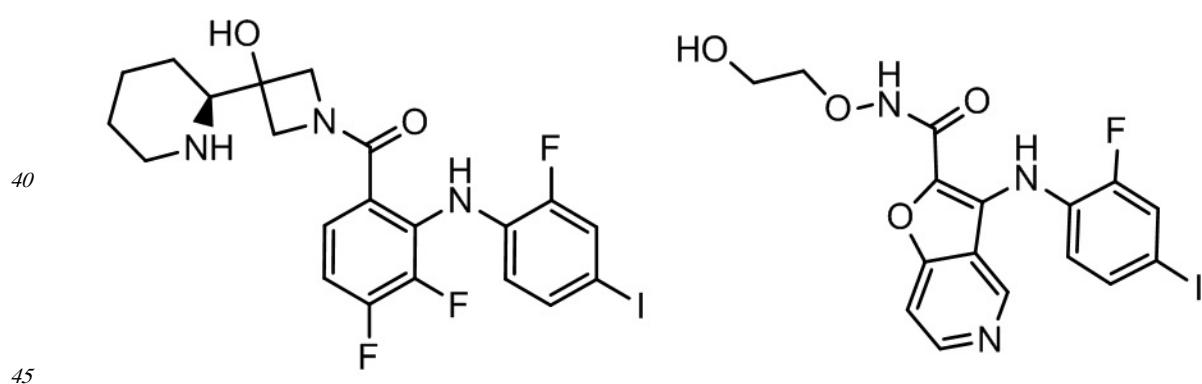
R5 представляет собой водород или взятые вместе с R2 и атомом углерода, к которому присоединены R2 и R5, с образованием низшего циклоалкила; и

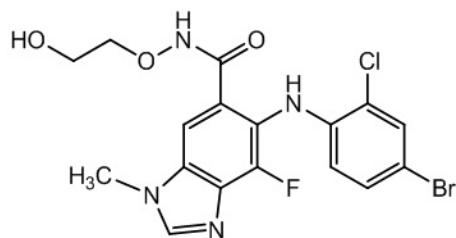
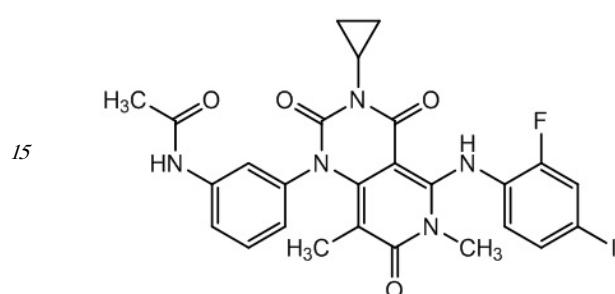
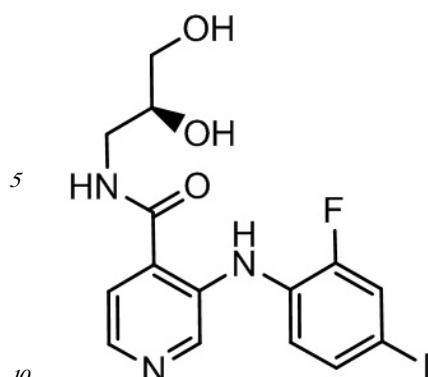
R6 выбран из группы, состоящей из водорода, низшего алкила, низшего циклоалкила, необязательно замещенного арила и необязательно замещенного гетероарила.

40 В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор МЕК представляет собой формулу (VI) или его фармацевтически приемлемую соль или сложный эфир, причем переменные имеют значения, указанные в WO 2009/021887 A1 для формулы I, или любые применимые варианты, описанные на страницах 4-5 в WO 2009/021887 A1, включенном в данный документ посредством ссылки. Дополнительно, охватываемые ингибиторы МЕК представляют собой соединения, описанные в примерах 1-21 в 2009/021887 A1, которая включена в данный документ посредством ссылки.

45 В некоторых вариантах реализации изобретения соединение-ингибитор МЕК формулы (VI) представляет собой соединение, выбранное из группы, состоящей из: (R) -5- [4-(2-гидроксиэтокси)-фенил] -3 - [(S) -1- (6-иод-1Н -бензоимидазол-2-ил)-2-фенилэтил]-

имидазолидин-2,4-дион; (R)-5-[4-(2-гидроксиэтокси)-фенил]-3-(5-иод-1Н-бензоимидазол-2-илметил)-имидазолидин-2,4-дион; (R)-5-[4-(2-гидроксиэтокси)-фенил]-3- [(S)-1-(5-иод-1Н-бензоимидазол-2-ил) - 2-метилпропил]-имидазолидин-2,4-дион; (R) -5- [4-(2-гидроксиэтокси) фенил] -3-[(S)-1-(5-иод-1Н-бензоимидазол-2-ил) - 2-метилпропил]-
5 имидазолидин-2,4-дион; 3-[(S)-1-(5-иод-1Н-бензоимидазол-2-ил) -2-фенил-этил]-имидазолидин-2,4-дион; соединение с трифторуксусной кислотой; (R) -3 - [(S) -2- (4-фторфенил) -1- (5-иод-1Н-бензоимидазол-2-ил)-этил] -5-[4-(2-гидроксиэтокси)-фенил]-имидазолидин-2,4-дион; (R) -5- [4-(2-гидроксиэтокси) фенил] -3 - [(S)-1-(5-иод-1Н-бензоимидазол-2-ил)-2-(4-метоксифенил)-этил]-имидазолидин-2,4-дион; (R)-5-[4-(2-гидроксиэтокси)-фенил]-3-[(S)-1-(5-иод-1Н-бензоимидазол-2-ил)-2-тиофен-2-ил-этил]-имидазолидин-2,4-дион; (R)-3-[(1S,2S)-1-(6-иод-1Н-бензоимидазол-2-ил)-2-фенилпропил]-5-фенилимидализолидин-2,4-дион; (R)-3-[(1S, 2S)-1-(6-иод-1Н-бензоимидазол-2-ил)-2-фенилпропил]-5-(4-метоксифенил)-имидазолидин-2,4-дион; (R)-5-[4-(2-гидроксиэтокси)-фенил]-3 - [(1S, 2S) -1- (6-иод-1Н -бензоимидазол-2-ил)-2-фенилпропил]-имидазолидин-
10 2,4-дион; (R)-3-[(1S,2S)-1-(6-иод-1Н-бензоимидазол-2-ил)-2-фенилпропил]-5-[4-(2-метоксиэтокси)-фенил]-имидазолидин-2,4-дион; 2-(4-{(R) -1-[(1S, 2S) -1- (6-иод- 1Н-бензоимидазол-2-ил) -2-фенилпропил] -2, 5-диоксоимадолидин-4-ил}-фенокси)-N,N-диметилацетамид; N,N-бис-(2-гидроксиэтил)-2-(4-{(R)-1-[(1S, 2S)-1-(6-иод-1Н-бензоимидазол-2-ил)-2-фенилпропил]-2,5-диоксоимадолидин-4-ил}-фенокси)-ацетамид;
15 (R)-3-[(1S,2S)-1-(5-иод-1Н-бензоимидазол-2-ил)-2-фенилпропил]-5-изопропилимидализолидин-2,4-дион; (R)-5-циклогексил-3-[(1S,2S)-1-(5-иод-1Н-бензоимидазол-2-ил)-2-фенилпропил] -имидазолидин-2,4-дион; (R)-5-[4-(2-гидроксиэтокси)-фенил]-3-[1-(5-иод-1Н-бензимидазол-2-ил)-циклогексил]-имидазолидин-2,4-дион; (R)-3-[(1S,2S)-1-(6-бром-1Н-бензимидазол-2-ил)-2-фенилпропил]-5-[4-(2-
20 -гидроксиэтокси)-фенил]-имидазолидин-2,4-дион; (R)-3-[(S)-1-(5-циклогексил-1Н-бензимидазол-2-ил)-2-фенилэтил]-5-[4-(2-гидроксиэтокси)-фенил]-имидазолидин-2,4-дион; (R)-3-[(S)-1-(5-этинил-1Н-бензимидазол-2-ил)-2-фенилэтил]-5-[4-(2-гидроксиэтокси)-фенил]-имидазолидин-2,4-дион; и (R)-3-[(1S,2S)-1-(5-этинил-1Н-бензимидазол-2-ил)-2-фенилпропил]-5-[4-(2-гидроксиэтокси)-фенил]-имидазолидин-2,4-дион; или его
25 фармацевтически приемлемую соль или сольват.
30 В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор МЕК представляет собой соединение, выбранное из группы, состоящей из GDC-0973 (метанон, [3,4-дифтор-2 - [(2-фтор-4-иодфенил)амино]фенил][3-гидрокси-3 -(2S) - 2-пиперидинил-1-азетидинил]-), G-38963, G02443714, G02442104 и G00039805 или его фармацевтически приемлемой соли или сольваты.





IV Наборы

В другом аспекте в данном документе предложен набор, содержащий антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-L1, и/или ингибитор MEK для лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума или для усиления иммунной функции индивидуума, страдающего раком. В некоторых вариантах реализации изобретения набор содержит антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, и листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, в комбинации с ингибитором MEK для лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума или для усиления иммунной функции у индивидуума, страдающего раком. В некоторых вариантах реализации изобретения набор содержит ингибитор MEK и листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению ингибитора MEK в комбинации с антагонистом, связывающимся с компонентом сигнального пути PD-1, для лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума или для усиления иммунной функции индивидуума, страдающего раком. В некоторых вариантах реализации изобретения набор содержит антагонист, связывающийся с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитор MEK и листок-вкладыш в упаковке, содержащий инструкции по применению антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитор MEK для лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума или для усиления иммунной функции индивидуума, страдающего раком. Любой из антагонистов, связывающихся с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибиторов MEK, описанных в данном документе, может быть включен в наборы.

В некоторых вариантах реализации изобретения набор содержит контейнер, содержащий один или более из антагонистов, связывающихся с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибиторов MEK, описанных в данном документе. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы (например, двухкамерные флаконы), шприцы (например, одно- или двухкамерные шприцы) и пробирки. Контейнер может быть выполнен из различных материалов, таких как стекло или пластик. В некоторых вариантах реализации изобретения набор может содержать

этикетку (например, на или соединенную с контейнером) или листок-вкладыш в упаковке. На этикетке или листке-вкладыше в упаковке может быть указано то, что соединение, содержащееся в нем, может быть полезным или предназначенным для лечения или замедления прогрессирования рака у индивидуума или для усиления

5 иммунной функции индивидуума, страдающего раком. Набор может дополнительно включать другие материалы, необходимые с коммерческой и потребительской точки зрения, включая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы и шприцы.

ПРИМЕРЫ

[0100] Настоящее изобретение может быть дополнительно понято со ссылкой на

10 следующие примеры, которые приведены в качестве иллюстрации и не предназначены для ограничения.

Пример 1: Комбинированное лечение антителом анти-PDL1 и ингибитором MEK вызывает устойчивую регрессию опухоли в Вемурафениб-прогрессирующей опухоли

Несмотря на то, что ингибирование B-raf (например, путем лечения Вемурафенибом)

15 эффективно в выявлении краткосрочной регрессии опухоли, часто наблюдается резистентность. В данном примере описано то открытие, что лечение комбинацией антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора MEK индуцирует устойчивую регрессию опухоли и увеличение выживаемости без прогрессирования у животных с Вемурафениб-прогрессирующими опухолями. Кроме 20 того, лечение комбинацией антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора MEK неожиданно превзошло лечение любым из агентов в отдельности.

Материалы и способы

Мышьяная модель

25 Использовали B-rafV600E;PTENfl/fl;TyCreER генетически модифициированную мышью (GEM) модель меланомы. Аллели B-rafV600E и TyCreER представляли собой как описано в Dankort, D., et al. Nat. Genet. 41(5):544-52 (2009). Условный аллель PTEN представлял собой как описано в Lesche, R. et al. genesis 32:148-9 (2002).

Инициирование опухоли

30 Опухоли инициировали применением тамоксифена как описано в Dankort, D., et al. Nat. Genet. 41(5):544-52 (2009). Животных включали в исследование после того, как их опухоли достигали размера больше чем или равно 400 мм³.

Лечение

35 До начала лечения каждой мыши проводили биопсию опухоли меланомы. После биопсии мышам давали возможность восстановиться в течение одной недели до прохождения лечения. Мыши были разделены на начальные группы лечения (n=20), и лечение начинали на 0-е сутки.

Вемурафениб для лечения мыши получали или СЦТ, 200 мкл, перорально, один раз в сутки; или PLX-4032 (Вемурафениб), перорально 50 мг/кг, два раза в сутки (объем не 40 превышает 300 мкл). Когда у животных в какой-либо группе опухоли достигали ~ 2000 мм³, то проводили во второй раз биопсию. После процедуры биопсии мыши восстанавливались до одной недели до получения дополнительного терапевтического лечения. Животным затем повторно присваивали следующие группы лечения: GDC-0973 (Кобиметиниб), 7,5 мг/кг, перорально, один раз в сутки (объем не превышает 300 мкл)+контроль-агглютинин амброзии (IgG2a), интраперитонеально 10 мг/кг, три раза в неделю; GDC-0973, перорально 7,5 мг/кг, один раз в сутки (объем не превышает 300 мкл)+анти-PDL1 (IgG1-ДТ), интраперитонеально 10мг/кг, три раза в неделю; или СЦТ, 200 мкл, перорально, один раз в сутки+анти-PDL1 (IgG1-ДТ), интраперитонеально 10

мг/кг, три раза в неделю. Объем дозы при интраперitoneальном введении не превышает 300 мкм.

Мышей взвешивали и опухоли измеряли не реже одного раза в неделю до окончания исследования. Мыши получали лечение каждые сутки до достижения среднего объема опухоли в 2500 мм³. Затем мышей умерщвляли, и опухоли меланомы отбирали для гистологического исследования и оценки молекулярных изменений. Мышей перфузировали под анестезией при эвтаназии.

На протяжении всего исследования у мышей наблюдали клинические проявления (состояние тела, внешний вид подшерстка, сгорбленная поза, затрудненное дыхание, и т.д.) по меньшей мере 2 раза в неделю с увеличением частоты, до ежесуточного, в зависимости от тяжести наблюдаемых неблагоприятных клинических признаков.

Умирающих животных умерщвляли. Мышей с оценкой состояния тела <2 подвергали эвтаназии.

Результаты

По индукции опухоли B-rafV600E;PTENfl/fl;TyCreER GEM модель меланомы вызывает опухоли, которые показывают начальную регрессию по величине в результате лечения ингибитором B-raf Вемурафенибом. После этой начальной регрессии опухоли демонстрируют устойчивый повторный рост, моделируя тем самым резистентность к ингибированию B-raf в Вемурафениб-прогрессирующих опухолях.

Данная модель была использована для проверки эффективности антагониста, связывающегося с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитора MEK в виде терапии второй линии Вемурафениб-прогрессирующих опухолей. Как показано на фиг. 1, после терапии первой линии с Вемурафенибом, животных лечили антителом против PD-L1, ингибитором MEK (Кобиметиниб), или обоими. Лечение только анти-PD-L1 не показало никакого эффекта на рост опухоли. Лечение Кобиметинибом вызвало первоначальную регрессию опухоли, но этот ответ не был устойчивым и наблюдался повторный рост опухоли. Комбинированное лечение анти-PD-L1 и Кобиметинибом, однако, стало причиной регрессии в каждой опухоли, и эта регрессия была устойчивой. Кроме того, внутриопухолевые уровни GR1 были значительно снижены, и наблюдали характерные признаки активации Т-клеток (например, повышение CD8, PRF1, и ГКГС I). Важно отметить, что лечение анти-PD-L1 и Кобиметинибом привело к увеличению выживаемости без прогрессирования (PFS)).

На фиг. 2 показаны ответы конкретных животных после перевода от Вемурафениба к анти-PD-L1, Кобиметинибу или комбинированной терапии.

Данные результаты демонстрируют, что комбинированное лечение с антагонистом, связывающимся с компонентом сигнального пути PD-1, и ингибитором MEK приводит к резкой, устойчивой регрессии опухоли в Вемурафениб-прогрессирующих опухолях по сравнению с лечением каждым агентом отдельно. Более того, данные результаты демонстрируют более высокую эффективность комбинированного ингибирования сигнального пути PD-1/MEK в виде терапии второй линии опухолей, устойчивых к ингибированию B-raf.

Все патенты, патентные заявки, документы и статьи, цитируемые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки во всей их полноте.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

45 <110> GENENTECH, INC.

JUNTTILA, Melissa

<120> КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА С ПРИМЕНЕНИЕМ АНТАГОНИСТОВ, СВЯЗЫВАЮЩИХСЯ С КОМПО-

<130> 146392027540

<140> Еще не присвоено
 <141> Одновременно с настоящей заявкой
 <150> US 62/024988
 <151> 2014-07-15
 5 <160> 28
 <170> FastSEQ для Windows версии 4.0
 <210> 1
 <211> 10
 <212> ПРТ
 10 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 <220>
 <221> ВАРИАНТ
 15 <222> 6
 <223> Xaa = Asp или Gly
 <400> 1
 Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Ser Trp Ile His
 1 5 10
 20 <210> 2
 <211> 18
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 25 <223> Синтетический конструкт
 <220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 4
 <223> Xaa = Ser или Leu
 30 <220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 10
 <223> Xaa = Thr или Ser
 <400> 2
 35 Ala Trp Ile Xaa Pro Tyr Gly Gly Ser Xaa Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 1 5 10 15
 Lys Gly
 <210> 3
 <211> 9
 40 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 <400> 3
 45 Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr
 1 5
 <210> 4
 <211> 25

<212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 5 <400> 4
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 20 25
 10 <210> 5
 <211> 13
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 15 <223> Синтетический конструкт
 <400> 5
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 1 5 10
 <210> 6
 20 <211> 32
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 25 <400> 6
 Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
 1 5 10 15
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30
 30 <210> 7
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 35 <223> Синтетический конструкт
 <400> 7
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 1 5 10
 <210> 8
 40 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 45 <220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 5
 <223> Xaa = Asp или Val

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 6
 <223> Xaa = Val или Ile
 5 <220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 7
 <223> Xaa = Ser или Asn
 <220>
 10 <221> ВАРИАНТ
 <222> 9
 <223> Xaa = Ala или Phe
 <220>
 <221> ВАРИАНТ
 15 <222> 10
 <223> Xaa = Val или Leu
 <400> 8
 Arg Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Ala
 1 5 10
 20 <210> 9
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 25 <223> Синтетический конструкт
 <220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 4
 <223> Xaa = Phe или Thr
 30 <220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 6
 <223> Xaa = Tyr или Ala
 <400> 9
 35 Ser Ala Ser Xaa Leu Xaa Ser
 1 5
 <210> 10
 <211> 9
 <212> ПРТ
 40 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 <220>
 <221> ВАРИАНТ
 45 <222> 3
 <223> Xaa = Tyr, Gly, Phe или Ser
 <220>
 <221> ВАРИАНТ

<222> 4
 <223> Xaa = Leu, Tyr, Phe или Trp
 <220>
 <221> ВАРИАНТ
 5 <222> 5
 <223> Xaa = Tyr, Asn, Ala, Thr, Gly, Phe или Ile
 <220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 6
 10 <223> Xaa = His, Val, Pro, Thr или Ile
 <220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 8
 <223> Xaa = Ala, Trp, Arg, Pro или Thr
 15 <400> 10
 Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr
 1 5
 <210> 11
 <211> 23
 20 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 <400> 11
 25 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20 <210> 12
 30 <211> 15
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 35 <400> 12
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15
 <210> 13
 <211> 32
 40 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 <400> 13
 45 Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 14
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 5 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 <400> 14
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 1 5 10
 10 <210> 15
 <211> 10
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 15 <223> Синтетический конструкт
 <400> 15
 Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser Trp Ile His
 1 5 10
 <210> 16
 20 <211> 18
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 25 <400> 16
 Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 1 5 10 15
 Lys Gly
 <210> 17
 30 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 35 <400> 17
 Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
 1 5 10
 <210> 18
 <211> 7
 40 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 <400> 18
 45 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
 1 5
 <210> 19
 <211> 9

<212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 5 <400> 19
 Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala Thr
 1 5
 <210> 20
 <211> 118
 10 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 <400> 20
 15 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser
 20 25 30
 Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 20 35 40 45
 Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 25 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ala
 30 115
 <210> 21
 <211> 108
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 35 <220>
 <223> Синтетический конструкт
 <400> 21
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 40 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 45 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala

	85	90	95	
	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg			
	100	105		
	<210> 22			
5	<211> 440			
	<212> ПРТ			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> Синтетический конструкт			
10	<400> 22			
	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg			
	1	5	10	15
	Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser			
	20	25	30	
15	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
	35	40	45	
	Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
	50	55	60	
	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe			
20	65	70	75	80
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95	
	Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser			
	100	105	110	
25	Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser			
	115	120	125	
	Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp			
	130	135	140	
	Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr			
30	145	150	155	160
	Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr			
	165	170	175	
	Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys			
	180	185	190	
35	Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp			
	195	200	205	
	Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala			
	210	215	220	
	Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro			
40	225	230	235	240
	Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val			
	245	250	255	
	Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val			
	260	265	270	
45	Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln			
	275	280	285	
	Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln			
	290	295	300	

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
 305 310 315 320

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 325 330 335

5 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
 340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 10 370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 385 390 395 400

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
 405 410 415

15 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440

<210> 23

20 <211> 214

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструкт

25 <400> 23

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

30 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 35 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

40 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 45 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

	180	185	190	
10	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser			
	195	200	205	
5	Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
	210			
	<210> 24			
	<211> 118			
	<212> ПРТ			
	<213> Искусственная последовательность			
10	<220>			
	<223> Синтетический конструкт			
	<400> 24			
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
	1	5	10	15
15	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser			
	20	25	30	
	Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
	35	40	45	
	Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
20	50	55	60	
	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr			
	65	70	75	80
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95	
25	Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
	100	105	110	
	Leu Val Thr Val Ser Ser			
	115			
	<210> 25			
30	<211> 11			
	<212> ПРТ			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> Синтетический конструкт			
35	<400> 25			
	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
	1	5	10	
	<210> 26			
	<211> 448			
40	<212> ПРТ			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> Синтетический конструкт			
	<400> 26			
45	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
	1	5	10	15
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser			
	20	25	30	

Trp	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
				35				40							45	
	Ala	Trp	Ile	Ser	Pro	Tyr	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
				50				55								60
5	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr
				65				70				75				80
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90							95
	Ala	Arg	Arg	His	Trp	Pro	Gly	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
10																
				100					105							110
	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro
				115					120							125
	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
				130				135				140				
15	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
				145				150				155				160
	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
				165					170				175			
	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
20																
				180				185				190				
	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser
				195				200				205				
	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
				210				215				220				
25	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
				225				230				235				240
	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
				245					250				255			
	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
30																
				260				265				270				
	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
				275				280				285				
	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Ala	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
				290				295				300				
35	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr
				305				310				315				320
	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr
				325					330				335			
	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu
40																
				340				345				350				
	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys
				355				360				365				
	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser
				370				375				380				
45	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp
				385				390				395				400
	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser
				405					410				415			

RU 2733735 C2

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 5 <210> 27
 <211> 214
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 10 <223> Синтетический конструкт
 <400> 27
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
 15 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 20 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 25 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 30 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 35 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 40 <210> 28
 <211> 122
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 45 <223> Синтетический конструкт
 <400> 28
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Ser		
	20							25						30			
	Trp	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
		35						40					45				
	5	Ala	Trp	Ile	Ser	Pro	Tyr	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
		50						55					60				
		65						70				75		80			
		Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Va	Tyr	Tyr	Cys
	10										90			95			
		Ala	Arg	Arg	His	Trp	Pro	Gly	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
										100		105		110			
		Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys						
										115		120					

15

(57) Формула изобретения

1. Способ лечения или замедления прогрессирования меланомы, устойчивой к антагонисту B-raf у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества связывающего антагониста PD-L1, и ингибитора MEK, в котором индивидуума ранее лечили от меланомы антагонистом B-raf, антагонистом B-raf является vemурафениб, PD-L1 агонистом является анти-PD-L1 антитело, и ингибитором MEK является GDC-0973 или его фармацевтически приемлемая соль или сольват.

2. Способ по п.1, дополнительно включающий постановку диагноза индивидууму как имеющему меланому, устойчивую к антагонисту B-raf, в котором постановка диагноза проводится перед введением эффективного количества PD-L1 связывающего антагониста, и ингибитора MEK.

3. Способ по п. 1 или 2, где меланома у индивидуума прогрессировала в течение 1 месяца, 6 месяцев, 1 года или 5 лет после завершения курса лечения антагонистом B-raf.

30 4. Способ по любому из пп. 1-3, в котором меланома содержит мутацию BRAF V600E.

5. Способ по любому из пп. 1-4, в котором лечение приводит к устойчивому ответу у индивидуума после прекращения лечения.

6. Способ по любому из пп. 1-5, в котором меланома является метастатической.

7. Способ по любому из пп. 1-6, в котором PD-L1-связывающий антагонист ингибирует связывание PD-L1 с PD-1, PD-L1 с B7-1 или PD-L1 как с PD-1, так и с B7-1.

35 8. Способ по любому пп. 1-7, в котором анти-PD-L1 антитело представляет собой моноклональное антитело.

9. Способ по любому из пп. 1-8, в котором анти-PD-L1 антитело представляет собой фрагмент антитела, выбранный из группы, состоящей из фрагментов Fab, Fab'-SH, Fv, scFv и F(ab')₂.

40 10. Способ по любому из пп. 1-9, в котором анти-PD-L1 антитело представляет собой гуманизированное антитело или человеческое антитело.

11. Способ по любому из пп. 1-10, в котором анти-PD-L1 антитело выбирают из группы, состоящей из YW243.55.S70, атезолизумаба, дурвалумаба, MDX-1105 и авелумаба.

45 12. Способ по любому из пп. 1-11, в котором антитело содержит тяжелую цепь, содержащую последовательность HVR-H1 из SEQ ID NO: 15, последовательность HVR-H2 из SEQ ID NO: 16 и последовательность HVR-H3 из SEQ ID NO: 3; и легкую цепь,

содержащую последовательность HVR-L1 из SEQ ID NO: 17, последовательность HVR-L2 из SEQ ID NO: 18, и последовательность HVR-L3 из SEQ ID NO: 19.

13. Способ по любому из пп. 1-11, в котором анти-PD-L1 антитело содержит вариабельный участок тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24 или 28, и вариабельный участок легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21.

14. Способ по любому из пп. 1-13, в котором ингибитор MEK вводят постоянно.

15. Способ по любому из пп. 1-13, в котором ингибитор MEK вводят периодически.

16. Способ по любому из пп. 1-13, в котором ингибитор MEK вводят перед PD-L1

10 связывающим антагонистом.

17. Способ по любому из пп. 1-13, в котором ингибитор MEK вводят одновременно с PD-L1 связывающим антагонистом.

18. Способ по любому из пп. 1-13, в котором ингибитор MEK вводят после PD-L1 связывающего антагониста.

15 19. Способ по любому из пп. 1-18, в котором PD-L1 связывающий антагонист и/или ингибитор MEK вводят внутривенно, внутримышечно, подкожно, местно, перорально, трансдермально, внутрибрюшинно, интраорбитально, путем имплантации, путем ингаляции, интратекально, интравентрикулярно или интраназально.

20

25

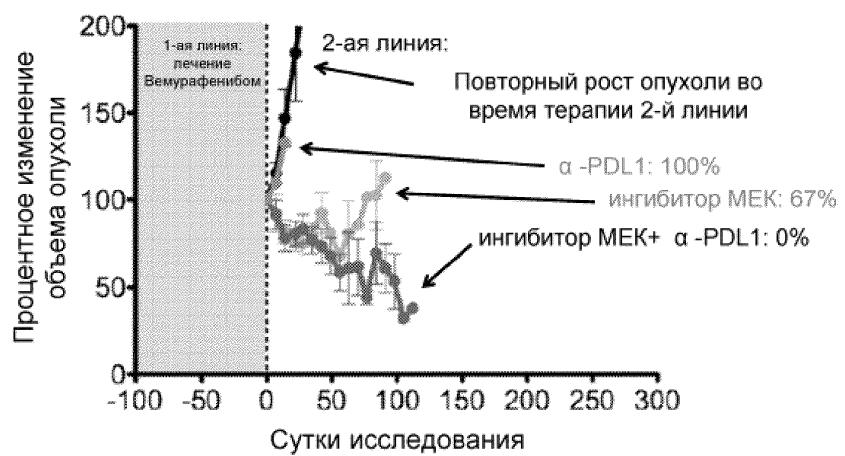
30

35

40

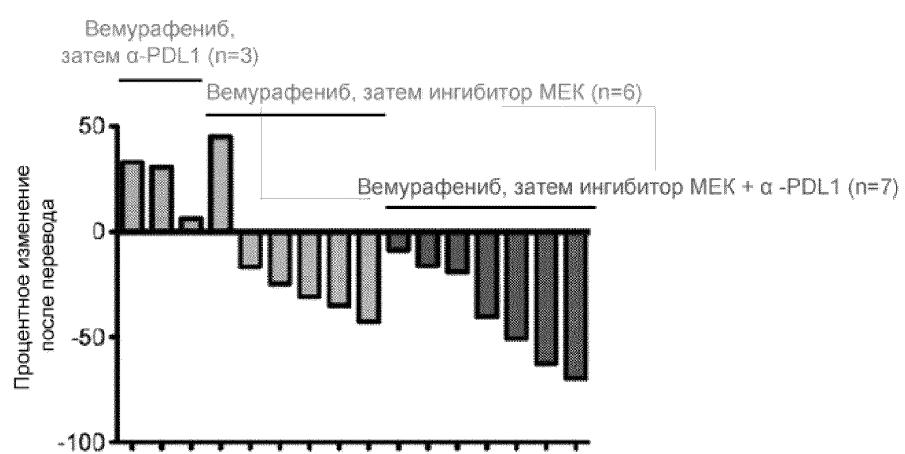
45

1/2



ФИГ. 1

2/2



ФИГ. 2