



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2014149145, 21.05.2013

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
23.05.2012 US 61/650,762

(43) Дата публикации заявки: 20.07.2016 Бюл. № 20

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 23.12.2014(86) Заявка РСТ:
EP 2013/060372 (21.05.2013)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2013/174794 (28.11.2013)

Адрес для переписки:

197101, Санкт-Петербург, а/я 128, "АРС-
ПАТЕНТ", М.В. Хмара

(71) Заявитель(и):

Ф. ХОФФМАНН-ЛЯ РОШ АГ (СН)

(72) Автор(ы):

**ДОУДМЕНТ Эстелль (US),
УППАЛ Хирдеш (US)**(54) **КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ ЭНДОДЕРМАЛЬНЫХ
КЛЕТОК И ГЕПАТОЦИТОВ**

(57) Формула изобретения

1. Изолированная популяция клеток эндодермы, в которой по меньшей мере 83% клеток экспрессирует SOX17, по меньшей мере 77% клеток экспрессирует FoxA2, или по меньшей мере 76% клеток экспрессирует хемокиновый рецептор CXCR4.

2. Изолированная популяция клеток эндодермы по п. 1, в которой по меньшей мере 83% клеток экспрессирует SOX17 и по меньшей мере 77% клеток экспрессирует FoxA2.

3. Изолированная популяция клеток эндодермы по п. 1 или 2, в которой по меньшей мере 77% клеток экспрессирует FoxA2, и по меньшей мере 76% клеток экспрессирует CXCR4.

4. Изолированная популяция клеток эндодермы по п. 1, в которой по меньшей мере 83% клеток экспрессирует SOX17, и по меньшей мере 76% клеток экспрессирует CXCR4.

5. Изолированная популяция клеток эндодермы по п. 1, в которой по меньшей мере 83% клеток экспрессирует SOX17, по меньшей мере 77% клеток экспрессирует FoxA2, и по меньшей мере 76% клеток экспрессирует CXCR4.

6. Изолированная популяция клеток эндодермы по п. 1, в которой указанные клетки эндодермы обладают способностью превращаться в гепатоциты, панкреатические клетки, предшественники панкреатических клеток, клетки печени, клетки легких, клетки-предшественники дыхательных путей или клетки легочного эпителия.

7. Банк стабильных клеток эндодермы, включающий одну или более популяций клеток эндодермы, в которой по меньшей мере 83% клеток экспрессирует SOX17, по

меньшей мере 77% клеток экспрессирует FoxA2, и/или по меньшей мере 76% клеток экспрессирует CXCR4, причем указанная популяция сохраняет данный фенотип на протяжении по меньшей мере 10 пассажей.

8. Банк клеток по п. 7, в котором указанные клетки эндодермы обладают способностью превращаться в гепатоциты, панкреатические клетки, предшественники панкреатических клеток, клетки печени, клетки легких, клетки-предшественники дыхательных путей или клетки легочного эпителия.

9. Способ получения популяции клеток эндодермы, включающий: приведение в контакт популяции стволовых клеток с эффективным количеством селективного ингибитора фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) альфа и эффективным количеством Активина А, и культивирование клеток в условиях, достаточных для получения популяции клеток эндодермы.

10. Способ по п. 9, при котором по меньшей мере 83% клеток в популяции клеток эндодермы экспрессирует SOX17, по меньшей мере 77% клеток в популяции клеток эндодермы экспрессирует FoxA2 или по меньшей мере 76% клеток в популяции клеток эндодермы экспрессирует CXCR4.

11. Способ по п. 10, при котором по меньшей мере 83% клеток экспрессирует SOX17 и по меньшей мере 77% клеток экспрессирует FoxA2.

12. Способ по п. 10 или 11, при котором по меньшей мере 77% клеток экспрессирует FoxA2, и по меньшей мере 76% клеток экспрессирует CXCR4.

13. Способ по п. 10, при котором 83% клеток экспрессирует SOX17, и по меньшей мере 76% клеток экспрессирует CXCR4.

14. Способ по п. 10, при котором по меньшей мере 83% клеток экспрессирует SOX17, по меньшей мере 77% клеток экспрессирует FoxA2, и по меньшей мере 76% клеток экспрессирует CXCR4.

15. Способ по п. 9, при котором указанные клетки эндодермы обладают способностью превращаться в гепатоциты, панкреатические клетки, предшественники панкреатических клеток, клетки печени или клетки эпителия легких.

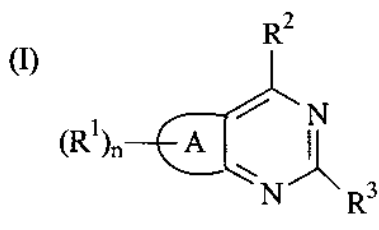
16. Способ по п. 9, при котором указанные клетки эндодермы обладают более высокой жизнеспособностью и/или пролиферацией, по сравнению со стволовыми клетками, которые не приводили в контакт с селективным ингибитором PI3K альфа и Активином А.

17. Способ по п. 9, при котором указанные стволовые клетки представляют собой стволовые клетки взрослых, эмбриональные стволовые клетки или индуцированные плюрипотентные стволовые клетки.

18. Способ по п. 9, при котором указанные стволовые клетки культивируют в подходящем матрикеле.

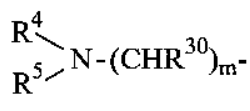
19. Способ по п. 9, при котором указанные стволовые клетки культивируют в суспензии.

20. Способ по п. 9, при котором селективный ингибитор киназы PI3K альфа представляет собой соединение, представляющее собой конденсированный пиримидин формулы (I):



где А представляет собой тиафеновое или фурановое кольцо;
n равно 1 или 2;

R^1 представляет собой группу формулы:



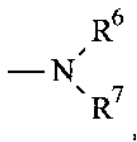
где m равно 0 или 1;

R^{30} представляет собой H или C_1 - C_6 -алкил;

R^4 и R^5 образуют совместно с атомом азота, к которому они присоединены, 5- или 6-членную насыщенную N-содержащую гетероциклическую группу, включающую 0 или 1 дополнительных гетероатомов, выбранных из N, S и O, которые могут быть конденсированы с бензольным кольцом, незамещенную или замещенную; или один из R^4 и R^5 представляет собой алкил, а другой представляет собой 5- или 6-членную насыщенную N-содержащую гетероциклическую группу, раскрытую выше, или алкильную группу, замещенную 5- или 6-членной насыщенной N-содержащей гетероциклической группой, раскрытой выше;

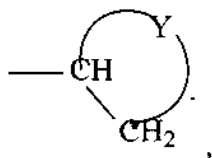
R^2 выбран из:

(a)



где R^6 и R^7 образуют вместе с атомом азота, к которому они присоединены, радикал морфолина, тиоморфолина, пиперидина, пиперазина, оксазепана или тиазепана, незамещенный или замещенный; и

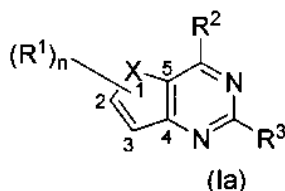
(b)



где Y представляет собой C_2 - C_4 -алкиленовую цепь, содержащую между составляющими атомами углерода цепи и/или на одном или обоих концах цепи один или два гетероатома, выбранных из O, N и S, незамещенную или замещенную;

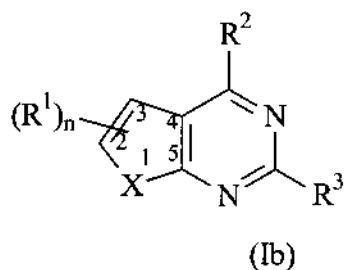
и R^3 представляет собой индазольную группу, незамещенную или замещенную; или его фармацевтически приемлемую соль.

21. Способ по п. 20, при котором указанный конденсированный пиримидин имеет формулу (Ia):



где X представляет собой S или O, а R^1 , R^2 , R^3 и n таковы, как определено в п. 20.

22. Способ по п. 20, при котором указанный конденсированный пиримидин имеет формулу (Ib):



где X представляет собой S или O, а R^1 , R^2 , R^3 и n таковы, как определено в п. 20. 23. Способ по п. 20, при котором указанное соединение выбрано из следующих:

2-(1H-индазол-4-ил)-6-(4-метилпиперазин-1-илметил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;

диметиламид 4-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперазин-1-сульфоновой кислоты;

{4-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперазин-1-ил}-морфолин-4-ил-метанон;

(2-метоксиэтил)-метиламид 4-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперазин-1-карбоновой кислоты;

{4-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперазин-1-ил}-N,N-диметилацетамид;

диметиламид 4-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперазин-1-карбоновой кислоты;

2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-[4-(3-морфолин-4-илпропан-1-сульфонил)-пиперазин-1-илметил]-тиено[3,2-d]пиримидин;

{1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-ил}-(2-метоксиэтил)-метиламид;

(3-{4-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперазин-1-сульфонил}-пропил)-диметиламид;

2-{4-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперазин-1-ил}-2-метилпропан-1-ол;

1'-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-[1,4']бипиперидинил;

2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-(4-морфолин-4-илпиперидин-1-илметил)-тиено[3,2-d]пиримидин;

2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-(4-пиримидин-2-илпиперазин-1-илметил)-тиено[3,2-d]пиримидин;

1-(2-гидроксиэтил)-4-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперазин-2-он;

6-(4-циклопропилметилпиперазин-1-илметил)-2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;

2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-(4-пиридин-2-илпиперазин-1-илметил)-тиено[3,2-d]пиримидин;

2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-[4-(2,2,2-трифторэтил)-пиперазин-1-илметил]-тиено[3,2-d]пиримидин;

2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-(4-тиазол-2-илпиперазин-1-илметил)-тиено[3,2-d]пиримидин;

2-(6-фтор-1H-индазол-4-ил)-6-(4-метилпиперазин-1-илметил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;

2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-(4-пиридин-2-илметилпиперазин-1-илметил)-тиено[3,2-d]пиримидин;

2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-(4-тиазол-2-илметилпиперазин-1-илметил)-тиено[3,2-d]пиримидин;

2-(1H-индазол-4-ил)-6-[4-(5-метилфуран-2-илметил)-пиперазин-1-илметил]-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;

амид 1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-карбоновой кислоты;

2-(1H-индазол-4-ил)-6-[4-(2-метокси-1,1-диметил-этил)-пиперазин-1-илметил]-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;

2-(1H-индазол-4-ил)-6-[(3R,5S)-4-(2-метоксиэтил)-3,5-диметилпиперазин-1-илметил]-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;

(2-метоксиэтил)-метиламид 1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-карбоновой кислоты;

диметиламид 1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-карбоновой кислоты;

2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-(4-пиридин-3-илметилпиперазин-1-илметил)-тиено[3,2-d]пиримидин;

метиламид 1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-карбоновой кислоты;

2-{4-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперазин-1-ил}-N-метилизобутирамид;

2-{4-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперазин-1-ил}-2-метил-1-пирролидин-1-илпропан-1-он;

2-(1H-индазол-4-ил)-6-[4-(1-метил-1H-имидазол-2-илметил)-пиперазин-1-илметил]-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;

2-(1H-индазол-4-ил)-6-[4-(5-метилизоксазол-3-илметил)-пиперазин-1-илметил]-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;

1-{4-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперазин-1-ил}-2-метилпропан-2-ол;

циклопропилметил-{1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-ил}-(2-метоксиэтил)-амин;

6-[4-(1-этил-1-метоксиметилпропил)-пиперазин-1-илметил]-2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;

2-(1H-индазол-4-ил)-6-[4-(1-метоксиметилциклопропил)-пиперазин-1-илметил]-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;

{1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-ил}-(2-метоксиэтил)-(2,2,2-трифторэтил)-амин;

2-(1H-индазол-4-ил)-6-[4-(2-метоксиэтил)-пиперазин-1-илметил]-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;

{1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-ил}-метанол;

2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-(4-пиридин-4-илметилпиперазин-1-илметил)-тиено[3,2-d]пиримидин;

2-(1H-индазол-4-ил)-6-[4-(6-метилпиридин-2-илметил)-пиперазин-1-илметил]-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;

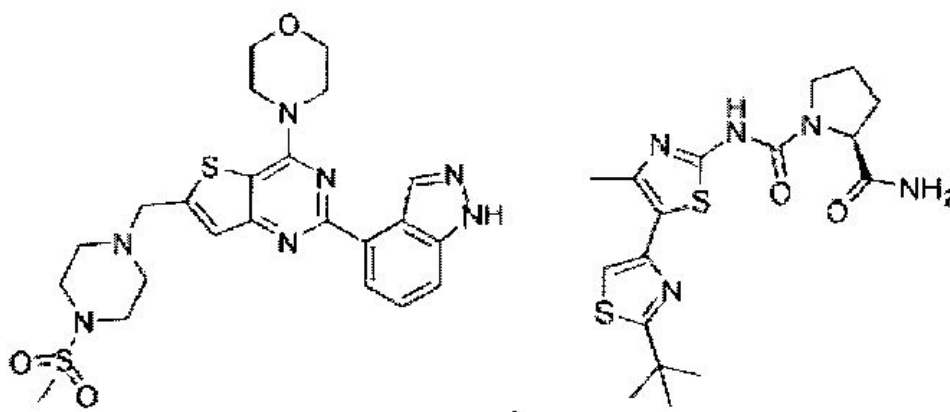
2-(1H-индазол-4-ил)-6-[4-(4-метилтиазол-2-илметил)-пиперазин-1-илметил]-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;

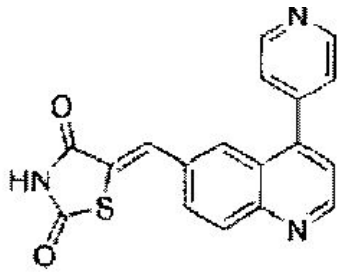
{1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-ил}-пиридин-2-иламин;

N-{1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-ил}-2-метокси-N-метилацетамид;

- N-{1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-ил}-N-метилметансульфонамид;
- {1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-ил}-(3-метоксипропил)-метиламин;
- 6-((3S,5R)-3,5-диметил-4-пиридин-2-илметилпиперазин-1-илметил)-2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-6-(4-метоксиметилпиперидин-1-илметил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- {1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-ил}-(2-метоксиэтил)-тиазол-2-илметиламин;
- 1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-4-пиридин-2-илметилпиперидин-4-ол;
- {1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-ил}-изопропил-(2-метоксиэтил)-амин;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-[4-(пиридин-2-илокси)-пиперидин-1-илметил]-тиено[3,2-d]пиримидин;
- N-{1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-ил}-N-(2-метоксиэтил)-метансульфонамид;
- 2-{1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-ил}-пропан-2-ол;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-[4-(1-оксипиридин-3-илметил)-пиперазин-1-илметил]-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-(4-морфолин-4-илметилпиперидин-1-илметил)-тиено[3,2-d]пиримидин;
- {1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-илметил}-(2-метоксиэтил)-метиламин;
- {1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-илметил}-диметиламин;
- {1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-3-ил}-(2-метоксиэтил)-метиламин;
- метиламид 1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-3-карбоновой кислоты;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-6-(3-метоксиметилпиперидин-1-илметил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-(4-пиридин-2-илметилпиперидин-1-илметил)-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-6-[4-(2-метоксиэтокси)-пиперидин-1-илметил]-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 6-((3R,5S)-3,5-диметил-4-тиазол-2-илметилпиперазин-1-илметил)-2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-[4-(1-оксипиридин-2-илметил)-пиперазин-1-илметил]-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-6-[4-(2-метоксиэтил)-пиперидин-1-илметил]-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-6-(4-метансульфонилпиперидин-1-илметил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- {1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-ил}-(3-метансульфонилпропил)-метиламин;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-6-[4-(3-метоксипропан-1-сульфонил)-пиперидин-1-илметил]-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;

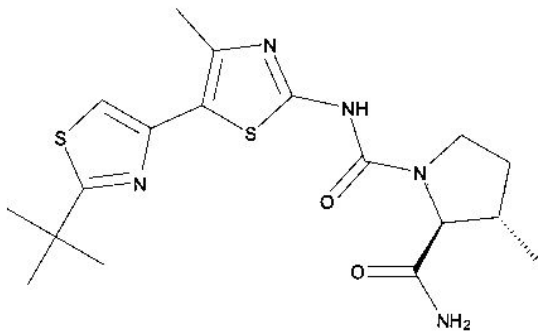
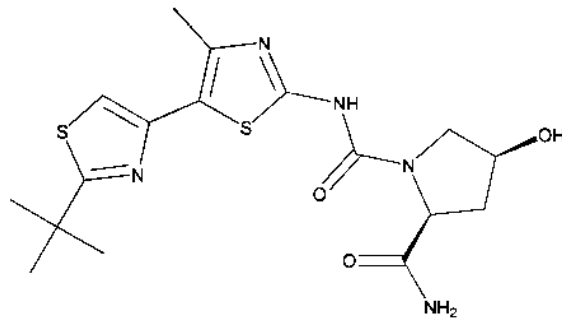
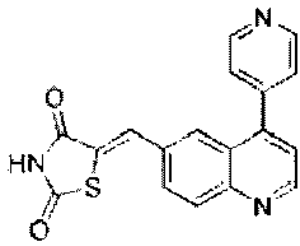
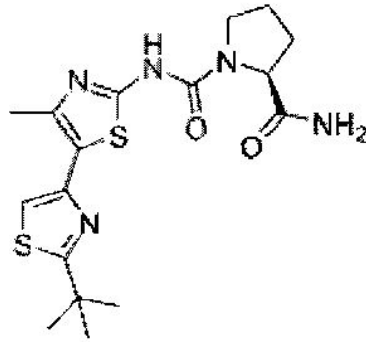
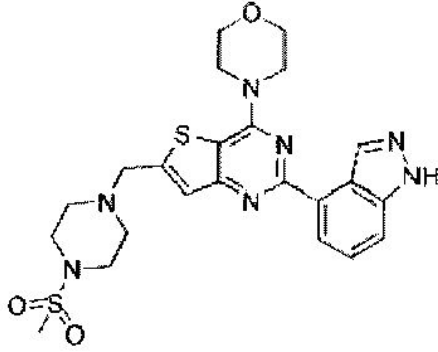
- метиламид (R)-1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-3-карбоновой кислоты;
- метиламид (S)-1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-3-карбоновой кислоты;
- 6-(4-имидазол-1-илметилпиперидин-1-илметил)-2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-морфолин-4-илметил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-6-(3-метилпиперидин-1-илметил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- {1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-3-ил}-метанол;
- 2-{1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперидин-4-ил}-этанол;
- 1-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-4-тиазол-2-илпиперидин-4-ол;
- 2-(1-метил-1H-индазол-4-ил)-6-(4-метилпиперазин-1-илметил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 2-(2-метил-2H-индазол-4-ил)-6-(4-метилпиперазин-1-илметил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-(4-тиазол-4-илметилпиперазин-1-илметил)-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 1-{4-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-пиперазин-1-ил}-3-феноксипропан-2-ол;
- 6-[4-(1H-имидазол-2-илметил)-пиперазин-1-илметил]-2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 6-[4-(3H-имидазол-4-илметил)-пиперазин-1-илметил]-2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- 2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-6-((2S,6R)-2,4,6-триметилпиперазин-1-илметил)-тиено[3,2-d]пиримидин;
- {4-[2-(1H-индазол-4-ил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин-6-илметил]-1-метансульфонилпиперазин-2-ил}-метанол; и
- 2-(1H-индазол-4-ил)-6-(4-метансульфонил-3-метоксиметилпиперазин-1-илметил)-4-морфолин-4-ил-тиено[3,2-d]пиримидин;
- а также фармацевтически приемлемые соли перечисленных выше соединений.
24. Способ по п. 20, при котором селективный ингибитор фосфатадилинозитол-3-киназы (PI3K) альфа выбран из следующих соединений:





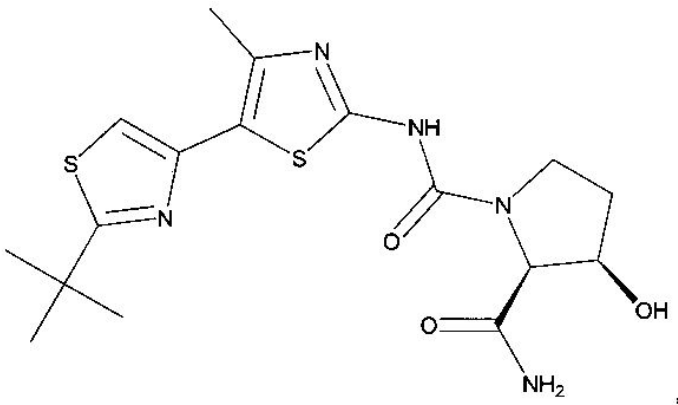
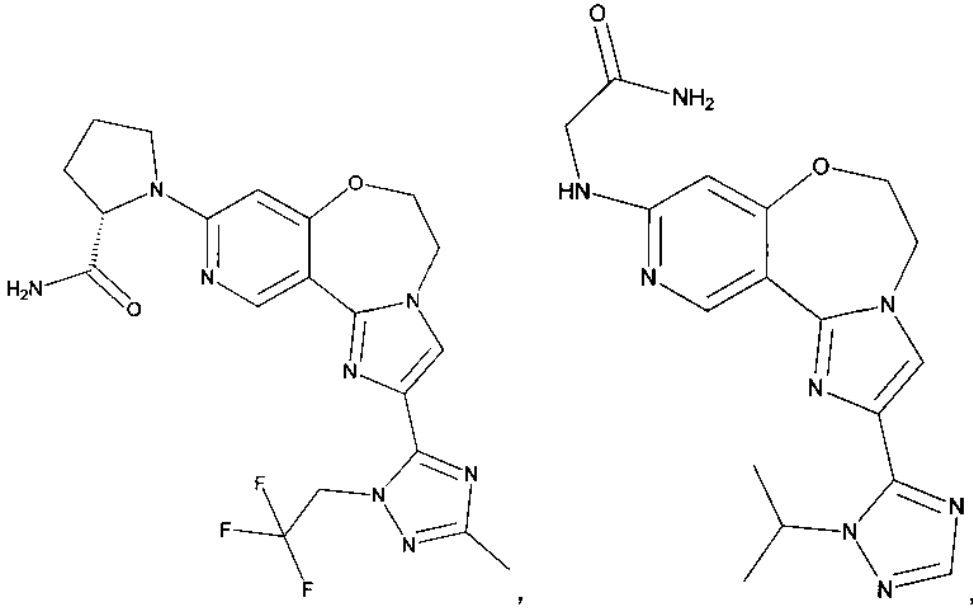
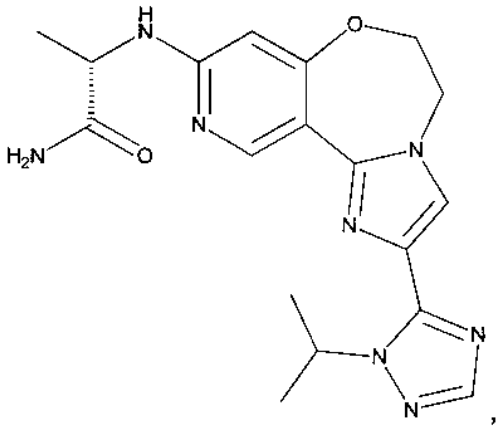
, INK1117 и BYL719.

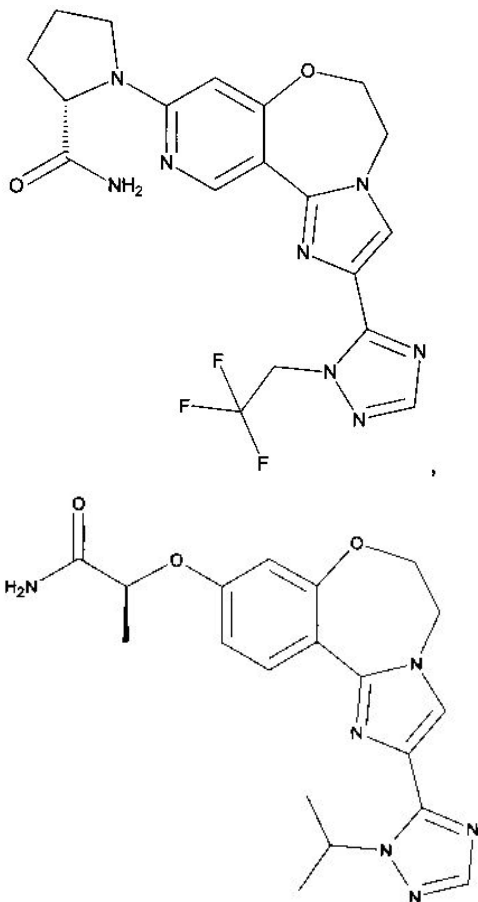
25. Способ по п. 20, при котором селективный ингибитор фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) альфа выбран из следующих соединений:



A 5 7 1 6 7 1 4 1 0 2 R U

R U 2 0 1 4 1 4 9 1 4 5 A





, INK1117 и BYL719.

26. Способ по п. 20, при котором селективный ингибитор киназы PI3K альфа представляет собой 4-[2-(1H-индазол-4-ил)-6-[(4-метилсульфонил-пиперазин-1-ил)метил]тиено[3,2-d]пиримидин-4-ил]морфолин.

27. Способ по п. 9, при котором селективный ингибитор PI3K альфа представляет собой также ингибитор PI3K дельта.

28. Способ по п. 9, при котором эффективное количество селективного ингибитора PI3K альфа составляет 750 нМ.

29. Способ по п. 9, при котором эффективное количество Активина А составляет 100 нг/мл среды.

30. Способ по п. 9, при котором культивирование клеток в условиях, достаточных для получения популяции клеток эндодермы, включает культивирование клеток в отсутствие Wnt3a.

31. Способ по п. 9, который дополнительно включает приведение в контакт популяции стволовых клеток с эффективным количеством ингибитора mTOR.

32. Способ по п. 9, который дополнительно включает приведение в контакт популяции стволовых клеток с селективным ингибитором PI3K дельта.

33. Популяция клеток эндодермы, полученная любым из указанных способов по пп. 9-32.

34. Способ получения популяции клеток эндодермы, включающий приведение в контакт популяции стволовых клеток с эффективным количеством ингибитора mTOR и эффективным количеством Активина А, и культивирование клеток в условиях, достаточных для получения популяции клеток эндодермы.

35. Способ по п. 34, при котором по меньшей мере 61% клеток в популяции клеток

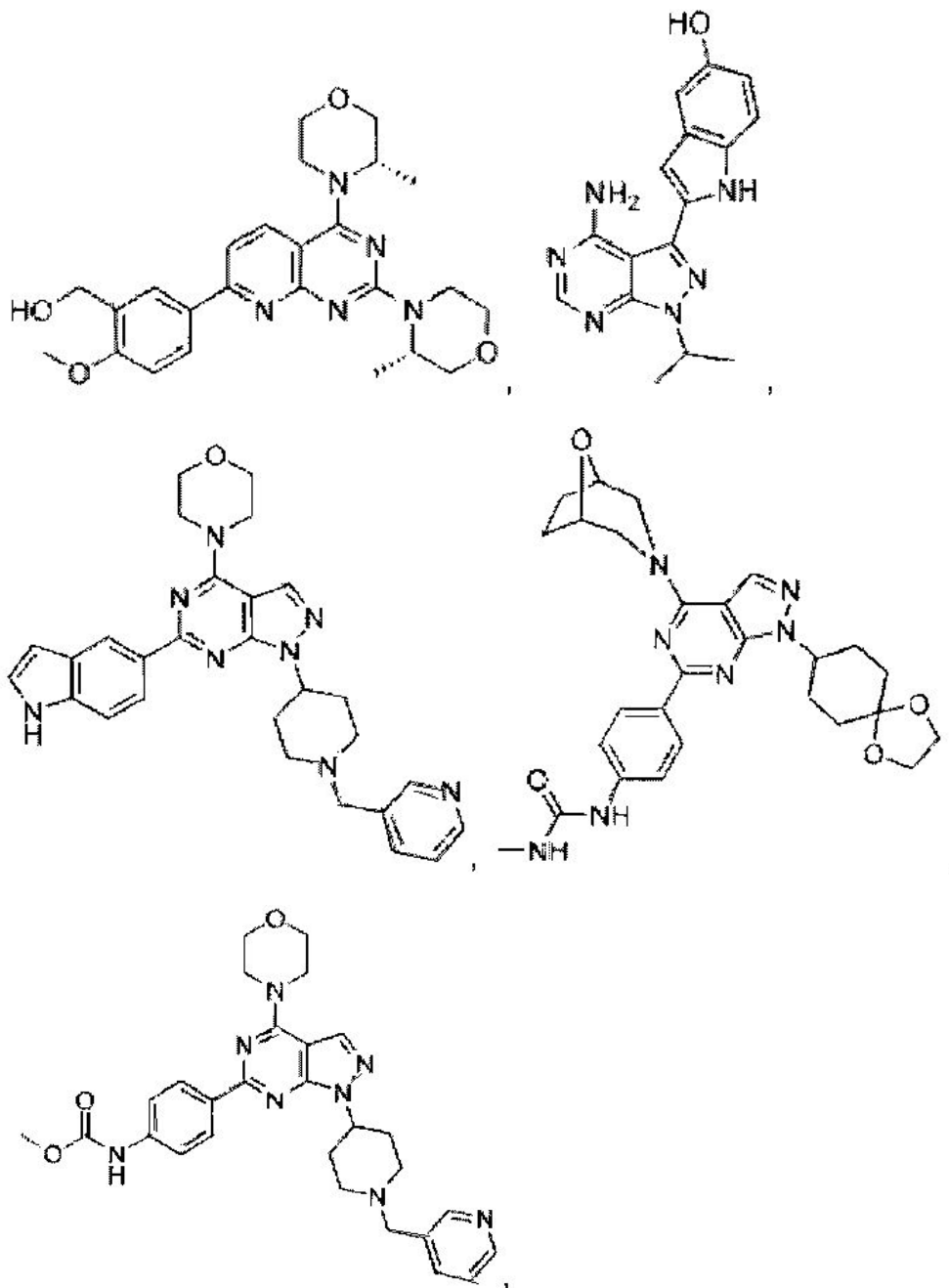
эндодермы экспрессирует SOX17, или по меньшей мере 40% клеток в популяции клеток эндодермы экспрессирует FoxA2.

36. Способ по п. 34 или 35, при котором по меньшей мере 61% клеток в популяции клеток эндодермы экспрессирует SOX17, и по меньшей мере 40% клеток в популяции клеток эндодермы экспрессирует FoxA2.

37. Способ по п. 34, при котором указанные клетки эндодермы обладают способностью превращаться в гепатоциты, панкреатические клетки, предшественники панкреатических клеток, клетки печени или клетки эпителия легких.

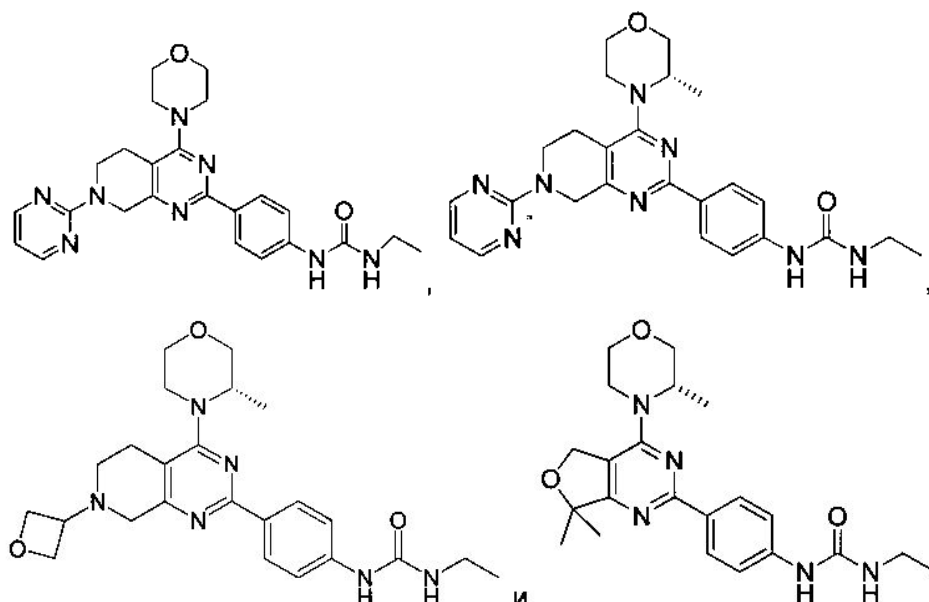
38. Способ по п. 34, при котором указанный ингибитор mTOR представляет собой миРНК или низкомолекулярное вещество.

39. Способ по п. 38, при котором указанное низкомолекулярное вещество выбрано из группы, состоящей из следующих веществ:



AP23573, Torsel, INK128, AZD80555, AZD2012, CC-223, KU-0063794, OSI-027, сиролимус, рапамицин и эверолимус.

40. Способ по п. 38, при котором указанное низкомолекулярное вещество выбрано из группы, состоящей из следующих веществ:



41. Популяция клеток эндодермы, полученная любым способом по пп. 34-40.

42. Способ идентификации фактора, который стимулирует дифференцировку клеток эндодермы в интересующие типы клеток, включающий: введение в контакт популяции клеток эндодермы, в которой по меньшей мере 83% клеток в популяции экспрессирует SOX17, по меньшей мере 77% клеток в популяции экспрессирует FoxA2, или по меньшей мере 76% клеток в популяции экспрессирует CXCR4 с указанным фактором, проведение мониторинга такой популяция клеток эндодермы на дифференцировку в интересующие типы клеток, с идентификацией фактора, который стимулирует дифференцировку клеток эндодермы в интересующие типы клеток.

43. Способ идентификации фактора, который ингибирует дифференцировку клеток эндодермы, включающий: приведение в контакт популяции клеток эндодермы, в которой по меньшей мере 83% клеток в популяции экспрессирует SOX17, по меньшей мере 77% клеток в популяции экспрессирует FoxA2, или по меньшей мере 76% клеток в популяции экспрессирует CXCR4, с данным фактором, проведение мониторинга клеток на дифференцировку, с идентификацией фактора, который ингибирует дифференцировку клеток эндодермы.

44. Способ скрининга потенциального лекарства на токсичность, включающий: приведение в контакт популяции клеток эндодермы, в которой по меньшей мере 83% клеток в популяции экспрессирует SOX17, по меньшей мере 77% клеток в популяции экспрессирует FoxA2, или по меньшей мере 76% клеток в популяции экспрессирует CXCR4, с данным лекарством, и проведение мониторинга клеток на токсичность, с выявлением того, является ли данное потенциальное лекарство токсичным.

45. Способ проведения клеточной терапии пациенту, который в этом нуждается, включающий введение такому пациенту популяции клеток эндодермы, в которой по меньшей мере 83% клеток в популяции экспрессирует SOX17, по меньшей мере 77% клеток в популяции экспрессирует FoxA2, или по меньшей мере 76% клеток в популяции экспрессирует CXCR4.

46. Способ по п. 45, при котором указанный пациент страдает фиброзом печени, циррозом, печеночной недостаточностью, раком печени и поджелудочной железы, недостаточностью поджелудочной железы, ферментопатией с замещением ткани кишечника, болезнью Крона, синдромом раздраженного кишечника и раком кишечника.

47. Способ получения популяции гепатоцитов, включающий: культивирование популяции клеток эндодермы, в которой по меньшей мере 83% клеток в популяции экспрессирует SOX17, по меньшей мере 77% клеток в популяции экспрессирует FoxA2,

или по меньшей мере 76% клеток в популяции экспрессирует CXCR4, в условиях, достаточных для получения популяции гепатоцитов.

48. Способ по п. 47, при котором по меньшей мере 56% гепатоцитов в популяции гепатоцитов экспрессирует альфа-фетопротеин (AFP).

49. Способ по п. 47 или 48, при котором указанные клетки эндодермы получают приведением в контакт популяции стволовых клеток с эффективным количеством селективного ингибитора PI3K альфа и эффективным количеством Активина А, и культивирование клеток в условиях, достаточных для получения популяции гепатоцитов.

50. Способ получения популяции гепатоцитов, включающий: культивирование популяции стволовых клеток с эффективным количеством селективного ингибитора PI3K альфа и эффективным количеством Активина А, и культивирование клеток в условиях, достаточных для получения популяции гепатоцитов.

51. Способ по п. 50, при котором указанные условия, достаточные для получения популяции гепатоцитов, включают культивирование клеток эндодермы в питательной среде, содержащей эффективное количество Активина А и не содержащей другие факторы.

52. Способ по п. 50 или 51, при котором указанные другие ростовые факторы выбраны из группы, состоящей из: FGF2, FGF4, BMP2 и BMP4.

53. Популяция гепатоцитов, полученная любым из способов по пп. 37-52.

54. Изолированная популяция гепатоцитов, в которой гепатоциты обладают одним или более из следующих свойств: гепатоциты секретируют альбумин, А1АТ, или альбумин и А1АТ; возможна индукция активности CYP1A1/2; или такие гепатоциты экспрессируют гены афаминина (AFM), альфа-фетопротеина (AFP), аланин-глиоксилат аминотрансферазы (AGXT), ген альбумина (ALB), ССААТ/энхансер-связывающего белка (С/ЕВР) альфа (СЕВРА), цитохрома Р450 семейства 2 подсемейства С, полипептида 19 (СYP2С19), цитохрома Р450 семейства 2 подсемейства С, полипептида 9 (СYP2С9), цитохрома Р450 семейства 3 подсемейства А, полипептида 4 (СYP3А4), цитохрома Р450 семейства 3 подсемейства А, полипептида 7 (СYP3А7), цитохрома Р450 семейства 7 подсемейства А, полипептида 1 (СYP7А1), кальций-связывающего белка 1 (САВР1), FOXA1, FOXA2, глутатион-S-трансферазы 1 (GSTA1), гены ядерных факторов гепатоцитов HNF1A, HNF1B, HNF4a, рецептора интерлейкина 6 (IL6R), ингибиторов сериновой пептидазы SERPINA1, SERPINA3, SERPINA7, ген SLCO2B1 семейства транспортеров органических анионов, ТАТ, ген молекулы адгезии сосудистого эндотелия 1 (VCAM1) или их комбинацию.

55. Способ проведения клеточной терапии пациенту, который в этом нуждается, включающий введение такому пациенту эффективного количества популяции гепатоцитов по пп. 53 или 54.

56. Способ скрининга потенциального лекарства на токсичность, включающий приведение в контакт популяции гепатоцитов, полученной любым из указанных способов по пп. 47-52, с потенциальным лекарством, мониторинг гепатоцитов на токсичность, с выявлением того, является ли данное потенциальное лекарство токсичным.

57. Способ получения предшественников панкреатических клеток, включающий:

А) культивирование популяции стволовых клеток с эффективным количеством либо (1) ингибитора mTOR и эффективного количества Активина А; либо (2) селективного ингибитора киназы PI3K альфа и эффективного количества Активина А; либо (3) ингибитора mTOR, селективного ингибитора киназы PI3K альфа и эффективного количества Активина А; и культивирование клеток в условиях, достаточных для получения популяции клеток эндодермы; и

В) культивирование клеток эндодермы в условиях, достаточных для стимуляции

дифференцировки клеток эндодермы в предшественники панкреатических клеток.

58. Способ получения предшественников панкреатических клеток, включающий: культивирование исходной популяции клеток эндодермы по любому из пп. 1-5, 33 или 41 в условиях, достаточных для стимуляции дифференцировки клеток эндодермы в предшественники панкреатических клеток.

59. Способ по п. 57 или 58, при котором указанные предшественники панкреатических клеток могут дифференцироваться в эндокринные клетки поджелудочной железы, экзокринные клетки поджелудочной железы и клетки протоков поджелудочной железы.

60. Способ по п. 59, при котором указанные эндокринные клетки поджелудочной железы выбраны из группы, состоящей из альфа-клеток, бета-клеток, дельта-клеток и гамма-клеток.

61. Способ по п. 59, при котором эндокринные клетки поджелудочной железы способны продуцировать одно или более веществ из следующих: глюкагон, инсулин, соматостатин и панкреатический полипептид.

62. Способ получения дифференцированных панкреатических клеток, включающий культивирование предшественников панкреатических клеток, полученных любым из способов по п. 57 или 58, в условиях, достаточных для стимуляции дифференцировки предшественников панкреатических клеток в дифференцированные панкреатические клетки.

63. Способ по п. 62, при котором указанные дифференцированные панкреатические клетки выбраны из группы, состоящей из эндокринных клеток поджелудочной железы, экзокринных клеток поджелудочной железы и клеток протоков поджелудочной железы.

64. Способ по п. 62 или 63, при котором указанные дифференцированные панкреатические клетки способны продуцировать одно или более из следующих веществ: глюкагон, инсулин, соматостатин и панкреатический полипептид.

65. Изолированная популяция предшественников панкреатических клеток, полученных способом по любому из пп. 57-61.

66. Изолированная популяция предшественников панкреатических клеток, в которой указанные предшественники панкреатических клеток экспрессирует один или более из следующих маркеров: Pdx1, C-пептид, ARX, GLIS3, HNF1a, HNF1b, HNF4a, KRT19, MNX1, RFX6, SERPINA3, ONECUT1, NKX2-2 или любую их комбинацию.

67. Изолированная популяция дифференцированных панкреатических клеток, полученная способом по любому из пп. 62-64.

68. Изолированная популяция дифференцированных панкреатических клеток, в которой указанные панкреатические клетки образуют кластеры в суспензии и жизнеспособны в суспензии.

69. Способ проведения клеточной терапии пациенту, который в этом нуждается, включающий введение такому пациенту эффективного количества популяции предшественников панкреатических клеток по пп. 65 или 66.

70. Способ проведения клеточной терапии пациенту, который в этом нуждается, включающий введение такому пациенту эффективного количества популяции дифференцированных панкреатических клеток по п. 67 или 68.

71. Способ скрининга потенциального лекарства на токсичность, включающий приведение в контакт популяции панкреатических клеток, полученных любым из указанных способов по п. 57, 58 или 62, с потенциальным лекарством, мониторинг панкреатических клеток на токсичность, с выявлением того, является ли данное потенциальное лекарство токсичным.