

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-501550

(P2005-501550A)

(43) 公表日 平成17年1月20日(2005.1.20)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 5/06	C 1 2 N 5/00	Z N A E
A 6 1 K 35/14	A 6 1 K 35/14	Z
A 6 1 P 1/04	A 6 1 P 1/04	4 B O 6 3
A 6 1 P 3/10	A 6 1 P 3/10	4 B O 6 5
A 6 1 P 17/06	A 6 1 P 17/06	4 C O 8 7
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 143 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-525593 (P2003-525593)	(71) 出願人	599056437
(86) (22) 出願日	平成14年8月28日 (2002. 8. 28)		スリーエム イノベイティブ プロパティ ズ カンパニー
(85) 翻訳文提出日	平成16年3月1日 (2004. 3. 1)		アメリカ合衆国, ミネソタ 55144- 1000, セント ポール, スリーエム センター
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/027393	(74) 代理人	100099759
(87) 国際公開番号	W02003/020889		弁理士 青木 篤
(87) 国際公開日	平成15年3月13日 (2003. 3. 13)	(74) 代理人	100077517
(31) 優先権主張番号	60/316, 144		弁理士 石田 敬
(32) 優先日	平成13年8月30日 (2001. 8. 30)	(74) 代理人	100087413
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 古賀 哲次
(31) 優先権主張番号	60/370, 177	(74) 代理人	100129517
(32) 優先日	平成14年4月5日 (2002. 4. 5)		弁理士 栗田 博道
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫反応調整剤分子を用いた形質細胞様樹状細胞を成熟させる方法

(57) 【要約】

本発明は、免疫反応調整剤分子を用いた形質細胞様樹状細胞を成熟させる方法に関する。本発明は、成熟した形質細胞様樹状細胞の生物活性を検出する方法、および治療目的または予防目的に成熟形質細胞様樹状細胞を用いる方法にも関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

インビトロの樹状細胞による抗原提示を増強する方法であって、

- (a) 分離樹状細胞集団を抗原に曝露するステップと、
 - (b) トル様受容体 6、トル様受容体 7、またはトル様受容体 8 の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離樹状細胞を接触させるステップと、
 - (c) 樹状細胞を処理し、抗原を提示させるステップと、
- を含む方法。

【請求項 2】

抗原が新生細胞由来、感染性因子由来、または組換え由来である、請求項 1 に記載の方法 10

【請求項 3】

免疫反応調整剤分子が、トル様受容体 7 の作動薬である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類、イミダゾピリジンアミン類、6, 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、1, 2 - 架橋イミダゾキノリンアミン類、チアゾロおよびオキサゾロキノリンアミン類およびピリジンアミン類、イミダゾナフチリジンアミン類およびテトラヒドロイミダゾナフチリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類および 6, 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 4 に記載の方法。 20

【請求項 6】

抗原提示を検出するステップをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

抗原提示を検出するステップが、

- (a) 活性化樹状細胞をナイーブ T 細胞と接触させるステップと、
 - (b) 樹状細胞による抗原提示の結果として T 細胞によって産生される 1 つ以上のサイトカインの産生を検出するステップと、
- を含む、請求項 6 に記載の方法。 30

【請求項 8】

1 つ以上のサイトカインが、IFN - または IL - 10 を含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

樹状細胞が形質細胞様樹状細胞である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

- (a) 分離樹状細胞集団を抗原に曝露させる工程と、
 - (b) トル様受容体 6、トル様受容体 7、またはトル様受容体 8 の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離樹状細胞を接触させる工程と、
 - (c) 樹状細胞を処理し、抗原を提示させる工程と、
- によって産生される分離樹状細胞集団。 40

【請求項 11】

免疫反応調整剤分子が、トル様受容体 7 の作動薬である、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類、イミダゾピリジンアミン類、6, 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、1, 2 - 架橋イミダゾキノリンアミン類、チアゾロおよびオキサゾロキノリンアミン類およびピリジンアミン類、イミダゾナフチリジンアミン類およびテトラヒドロイミダゾナフチリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 10 に記載の方法。 50

【請求項 13】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類および6,7-縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項12に記載の方法。

【請求項 14】

抗原が新生細胞由来、感染性因子由来、または組換え由来である、請求項10に記載の細胞集団。

【請求項 15】

樹状細胞が形質細胞様樹状細胞である、請求項10に記載の細胞集団。

【請求項 16】

成熟樹状細胞の集団を得る方法であって、

(a) トル様受容体6、トル様受容体7、またはトル様受容体8の作動薬である免疫反応調整剤分子を対象の成熟樹状細胞に有効な量で対象に投与するステップと、

(b) 成熟樹状細胞を分離するステップと、

を含む方法。

【請求項 17】

成熟樹状細胞が対象の血液検体から分離される、請求項16に記載の方法。

【請求項 18】

対象に投与される免疫反応調整剤分子の量が少なくとも0.001mg/kgである、請求項16に記載の方法。

【請求項 19】

樹状細胞が形質細胞様樹状細胞である、請求項16に記載の方法。

【請求項 20】

請求項16に記載の方法によって得られる細胞集団。

【請求項 21】

免疫反応調整剤分子がトル様受容体7の作動薬である、請求項16に記載の方法。

【請求項 22】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類、イミダゾピリジンアミン類、6,7-縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、1,2-架橋イミダゾキノリンアミン類、チアゾロおよびオキサゾロキノリンアミン類およびピリジンアミン類、イミダゾナフチリジンアミン類およびテトラヒドロイミダゾナフチリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項16に記載の方法。

【請求項 23】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類および6,7-縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項22に記載の方法。

【請求項 24】

形質細胞様樹状細胞によるサイトカイン産生を検出する方法であって、

(a) 形質細胞様樹状細胞がIL-8、IP-10、IL-6、MIP-1、およびIFN-から選択される1つ以上のサイトカインを産生するように促すために有効な量でトル様受容体6、トル様受容体7、またはトル様受容体8の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離形質細胞様樹状細胞を接触させるステップと、

(b) 樹状細胞によるサイトカインの少なくとも1つの産生を検出するステップと、

を含む方法。

【請求項 25】

免疫反応調整剤分子がトル様受容体7の作動薬である、請求項24に記載の方法。

【請求項 26】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類、イミダゾピリジンアミン類、6,7-縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、1,2-架橋イミダゾキノリンアミン類、チアゾロおよびオキサゾロキノリンアミン類およびピリジンアミン類、イミダゾナフ

10

20

30

40

50

チリジンアミン類およびテトラヒドロイミダゾナフチリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 7】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類および 6 , 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

免疫反応調整剤分子の量が、少なくとも約 0 . 0 0 1 μ M の濃度で提供される、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 9】

サイトカインの少なくとも 1 つの産生を検出するステップが、フローサイトメトリーによる細胞内サイトカインを検出するステップを含む、請求項 2 4 に記載の方法。

10

【請求項 3 0】

サイトカインの少なくとも 1 つの産生を検出するステップが、細胞外サイトカインを検出するステップを含む、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 3 1】

サイトカインの少なくとも 1 つの産生を検出するステップが、酵素結合免疫吸着検定法を用いるステップを含む、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 3 2】

サイトカインの少なくとも 1 つの産生を検出するステップが、形質細胞様樹状細胞中のサイトカインをコードする mRNA を検出するステップを含む、請求項 2 4 に記載の方法。

20

【請求項 3 3】

形質細胞様樹状細胞による共刺激マーカーの発現を検出する方法であって、
(a) 形質細胞様樹状細胞が 1 つ以上の共刺激マーカーを発現するように促すために有効な量でトル様受容体 6、トル様受容体 7、またはトル様受容体 8 の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離形質細胞様樹状細胞を接触させるステップと、
(b) 形質細胞様樹状細胞による少なくとも 1 つの共刺激マーカーの発現を検出するステップと、
を含む方法。

【請求項 3 4】

免疫反応調整剤分子がトル様受容体 7 の作動薬である、請求項 3 3 に記載の方法。

30

【請求項 3 5】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類、イミダゾピリジンアミン類、6 , 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、1 , 2 - 架橋イミダゾキノリンアミン類、チアゾロおよびオキサゾロキノリンアミン類およびピリジンアミン類、イミダゾナフチリジンアミン類およびテトラヒドロイミダゾナフチリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 6】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類および 6 , 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 3 5 に記載の方法。

40

【請求項 3 7】

免疫反応調整剤分子の量が、少なくとも約 0 . 0 0 1 μ M の濃度で提供される、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 8】

共刺激マーカーが CD 8 0、CD 8 6、CD 4 0、または H L A - D R を含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 9】

少なくとも 1 つの共刺激マーカーの発現を検出するステップが、フローサイトメトリーを用いるステップを含む、請求項 3 3 に記載の方法。

50

【請求項 4 0】

少なくとも 1 つの共刺激マーカーの発現を検出するステップが、形質細胞様樹状細胞の細胞表面上の少なくとも 1 つの共刺激マーカーの免疫学的検出を含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 4 1】

少なくとも 1 つの共刺激マーカーの発現を検出するステップが、形質細胞様樹状細胞における共刺激マーカーをコードする mRNA を検出するステップを含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 4 2】

分離形質細胞様樹状細胞の生存を増強する方法であって、

(a) 形質細胞様樹状細胞の生存を増強するために有効な量でトル様受容体 6、トル様受容体 7、またはトル様受容体 8 の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離形質細胞様樹状細胞を接触させるステップと、

(b) 形質細胞様樹状細胞の少なくとも 3 0 % が少なくとも 4 8 時間生存するような条件下に形質細胞様樹状細胞をインキュベートするステップと、

を含む方法。

【請求項 4 3】

形質細胞様樹状細胞の少なくとも 5 0 % が少なくとも 4 8 時間生存する、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 4】

形質細胞様樹状細胞の少なくとも 7 0 % が少なくとも 4 8 時間生存する、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 5】

形質細胞様樹状細胞の少なくとも 7 5 % が少なくとも 4 8 時間生存する、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 6】

免疫反応調整剤分子がトル様受容体 7 の作動薬である、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 7】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類、イミダゾピリジンアミン類、6, 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、1, 2 - 架橋イミダゾキノリンアミン類、チアゾロおよびオキサゾロキノリンアミン類およびピリジンアミン類、イミダゾナフチリジンアミン類およびテトラヒドロイミダゾナフチリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 8】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類および 6, 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 4 7 に記載の方法。

【請求項 4 9】

形質細胞様樹状細胞によるケモカイン受容体の発現を検出する方法であって、

(a) 形質細胞様樹状細胞が 1 つ以上のケモカイン受容体を発現するように促すために有効な量でトル様受容体 6、トル様受容体 7、またはトル様受容体 8 の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離形質細胞様樹状細胞を接触させるステップと、

(b) 少なくとも 1 つのケモカイン受容体の発現を検出するステップと、

を含む方法。

【請求項 5 0】

免疫反応調整剤分子がトル様受容体 7 の作動薬である、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類、イミダゾピリジンアミン類、6, 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、1, 2 - 架橋イミダゾキノリンアミン類、チアゾロおよびオキサゾロキノリンアミン類およびピリジンアミン類、イミダゾナフ

10

20

30

40

50

チリジンアミン類およびテトラヒドロイミダゾナフチリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 52】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類および 6, 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 51 に記載の方法。

【請求項 53】

免疫反応調整剤分子の量が、少なくとも約 0.001 μ M の濃度で提供される、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 54】

ケモカイン受容体が CCR7 である、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 55】

少なくとも 1 つのケモカイン受容体の発現を検出するステップが、ケモカイン受容体発現のアプレギュレーションまたはケモカイン受容体発現のダウンレギュレーションを検出するステップを含む、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 56】

少なくとも 1 つのケモカイン受容体の発現を検出するステップが、フローサイトメトリーの使用を含む、請求項 55 に記載の方法。

【請求項 57】

少なくとも 1 つのケモカイン受容体の発現を検出するステップが、酵素結合免疫吸着検定法を用いるステップを含む、請求項 55 に記載の方法。

【請求項 58】

少なくとも 1 つのケモカイン受容体の発現を検出するステップが、形質細胞様樹状細胞におけるケモカイン受容体をコードする mRNA を検出するステップを含む、請求項 55 に記載の方法。

【請求項 59】

形質細胞様樹状細胞によるケモカイン受容体の産生を選択的に誘導する化合物を同定する方法であって、

(a) 炎症性サイトカイン産生細胞と形質細胞様樹状細胞の両方を含む細胞の集団を得るステップと、

(b) 細胞の集団を試験化合物と接触させるステップと、

(c) 試験化合物と接触した細胞の集団に存在するケモカイン受容体の量を測定するステップと、

(d) 試験化合物と接触した細胞の集団に存在する炎症性サイトカインの量を測定するステップと、

(e) 細胞の集団に存在する炎症性サイトカインの量よりも少なくとも 3 倍多い量で試験化合物との接触後にケモカイン受容体が細胞の集団に存在する場合には、ケモカイン受容体の選択的誘導物質としての試験化合物を同定するステップと、を含む方法。

【請求項 60】

ケモカイン受容体の量がフローサイトメトリーによって測定される、請求項 59 に記載の方法。

【請求項 61】

炎症性サイトカインの量が、酵素結合免疫吸着検定法またはバイオアッセイを用いて培養上清から測定される、請求項 59 に記載の方法。

【請求項 62】

ケモカイン受容体および炎症性サイトカインの量が、ノーザンブロット法、ウェスタンブロット法、およびリアルタイム PCR からなる群から選択される 1 つ以上の方法を用いて測定される、請求項 59 に記載の方法。

【請求項 63】

10

20

30

40

50

炎症性サイトカインが T N F - または I L - 1 2 である、請求項 5 9 に記載の方法。

【請求項 6 4】

細胞の集団が、約 0 . 0 0 5 μ M ~ 約 5 μ M の濃度で試験化合物と接触される、請求項 5 9 に記載の方法。

【請求項 6 5】

ケモカイン受容体を発現する細胞で豊富化された細胞集団を調製する方法であって、

(a) 形質細胞様樹状細胞が 1 つ以上のケモカイン受容体を発現するように促すために有効な量でトル様受容体 6、トル様受容体 7、またはトル様受容体 8 の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離形質細胞様樹状細胞を接触させるステップと、

(b) 細胞集団をケモカイン受容体を発現する細胞で豊富化するステップと、
を含む方法。

10

【請求項 6 6】

免疫反応調整剤分子がトル様受容体 7 の作動薬である、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 7】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類、イミダゾピリジンアミン類、6, 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、1, 2 - 架橋イミダゾキノリンアミン類、チアゾロおよびオキサゾロキノリンアミン類およびピリジンアミン類、イミダゾナフチリジンアミン類およびテトラヒドロイミダゾナフチリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 8】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類および 6, 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 6 7 に記載の方法。

20

【請求項 6 9】

細胞集団を豊富化するステップが、ケモカイン受容体を発現することがない細胞を細胞集団から選択的に除去するステップを含む、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 7 0】

細胞集団を濃縮するステップが、

(a) ケモカイン受容体を発現する細胞を基質に選択的に結合する基質と細胞集団を接触させるステップと、

(b) ケモカイン受容体を発現する細胞に可逆的に基質を結合させるステップと、

(c) 非結合細胞を除去するステップと、

(d) 結合細胞を収集するステップと、

を含む、請求項 6 5 に記載の方法。

30

【請求項 7 1】

選択的な結合が、吸着または免疫吸着を含む、請求項 7 0 に記載の方法。

【請求項 7 2】

ケモカイン受容体が C C R 7 である、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 7 3】

請求項 6 5 に記載の方法によって調製されるケモカイン受容体を発現する細胞で豊富化された形質細胞様樹状細胞の集団。

40

【請求項 7 4】

ケモカイン受容体が C C R 7 である、請求項 7 3 に記載の細胞集団。

【請求項 7 5】

疾患を治療する方法であって、

(a) 形質細胞様樹状細胞が 1 つ以上のケモカイン受容体を発現するように促すために有効な量でトル様受容体 6、トル様受容体 7、またはトル様受容体 8 の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離形質細胞様樹状細胞を接触させるステップと、

(b) 疾患に関連した抗原と形質細胞様樹状細胞の集団を接触させるステップと、

(c) 少なくとも 1 つのケモカイン受容体を高レベルで発現する細胞で細胞集団を豊富化

50

するステップと、

(d) 豊富化した細胞集団を患者に投与するステップと、
を含む方法。

【請求項 76】

免疫反応調整剤分子がトル様受容体 7 の作動薬である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 77】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類、イミダゾピリジンアミン類、6, 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、1, 2 - 架橋イミダゾキノリンアミン類、チアゾロおよびオキサゾロキノリンアミン類およびピリジンアミン類、イミダゾナフチリジンアミン類およびテトラヒドロイミダゾナフチリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 75 に記載の方法。

10

【請求項 78】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類および 6, 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 77 に記載の方法。

【請求項 79】

疾患が腫瘍性疾患であり、抗原が新生細胞由来である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 80】

疾患が感染性因子によって引き起こされ、抗原が感染性因子由来である、請求項 75 に記載の方法。

20

【請求項 81】

抗原が組換え由来である、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 82】

疾患の治療用の細胞様補助剤を調製する方法であって、

(a) トル様受容体 6、トル様受容体 7、またはトル様受容体 8 の作動薬である免疫反応調整剤分子で樹状細胞を処理することによってインビトロで形質細胞様樹状細胞を成熟させるステップと、

(b) 成熟樹状細胞を前記疾患と関連した抗原に曝露するステップと、
を含む方法。

【請求項 83】

免疫反応調整剤分子がトル様受容体 7 の作動薬である、請求項 82 に記載の方法。

30

【請求項 84】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類、イミダゾピリジンアミン類、6, 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、1, 2 - 架橋イミダゾキノリンアミン類、チアゾロおよびオキサゾロキノリンアミン類およびピリジンアミン類、イミダゾナフチリジンアミン類およびテトラヒドロイミダゾナフチリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 85】

免疫反応調整剤分子が、イミダゾキノリンアミン類および 6, 7 - 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される、請求項 84 に記載の方法。

40

【請求項 86】

疾患が腫瘍性疾患であり、抗原が新生細胞由来である、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 87】

疾患が感染性因子によって引き起こされ、抗原が感染性因子由来である、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 88】

抗原が組換え由来である、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 89】

疾患を治療する方法であって、請求項 82 に記載の細胞様補助剤の治療有効量をかかると

50

療を必要とする哺乳動物に投与するステップを含む方法。

【請求項 9 0】

請求項 8 2 に記載の方法によって調製される細胞様補助剤。

【請求項 9 1】

疾患を治療する方法であって、トル様受容体 6、トル様受容体 7、またはトル様受容体 8 の作動薬である免疫反応調整剤分子で刺激することによって成熟されている形質細胞様樹状細胞の治療有効量をかかるとする哺乳動物に投与するステップを含む方法。

【請求項 9 2】

疾患が腫瘍性疾患である、請求項 9 1 に記載の方法。

【請求項 9 3】

疾患が T h 2 媒介性疾患である、請求項 9 1 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願は、2001年8月30日出願の米国仮特許出願第60/316144号、および2002年4月5日出願の米国仮特許出願第60/370177号の利点を請求する。

【背景技術】

【0002】

樹状細胞は、先天性免疫系と後天性免疫系との間の機能的な架け橋を提供する免疫系の抗原発現細胞である。未成熟樹状細胞は種々の体組織中に存在し、それらは病原体または他の外来抗原に接触しうる。これらの接触により、例えば、I F N - などのインターフェロン類を含む一部のサイトカインの分泌が誘発される。未成熟樹状細胞は抗原を捕捉し、次いでリンパ組織に移動し、樹状細胞が成熟した後、それらはリンパ球に抗原（または抗原の一部）を提示する。抗原提示は平行の免疫学的カスケードを誘発し、結果として抗原特異的細胞性免疫反応および抗原特異的体液性免疫反応が生じる。

【0003】

形質細胞様樹状細胞（p D C）は、免疫学的チャレンジに応じて I F N - を含むインターフェロンの産生および分泌を担う樹状細胞の主要なクラスとして同定されている。免疫反応調整剤（I R M）として周知の化合物クラスも、ヒトを含む多くの種における I F N - を含む種々のサイトカインの産生を誘発する。

【0004】

一部の I R M は、例えば、米国特許第 4, 689, 338 号；同第 4, 929, 624 号；同第 5, 266, 575 号；同第 5, 268, 376 号；同第 5, 352, 784 号；同第 5, 389, 640 号；同第 5, 482, 936 号；同第 5, 494, 916 号；同第 6, 110, 929 号；同第 6, 194, 425 号；同第 4, 988, 815 号；同第 5, 175, 296 号；同第 5, 367, 076 号；同第 5, 395, 937 号；同第 5, 693, 811 号；同第 5, 741, 908 号；同第 5, 238, 944 号；同第 5, 939, 090 号；同第 6, 245, 776 号；同第 6, 039, 969 号；同第 6, 083, 969 号；同第 6, 245, 776 号；同第 6, 331, 539 号；および同第 6, 376, 669 号；および国際公開第 00/76505 号；同第 00/76518 号；同第 02/46188 号、同第 02/46189 号；同第 02/46190 号；同第 02/46191 号；同第 02/46192 号；同第 02/46193 号；および同第 02/46194 号に開示されているものなどの小有機分子である。さらなる小分子 I R M としては、プリン誘導體（米国特許第 6, 376, 501 号および同第 6, 028, 076 号に記載されたものなど）、小複素環化合物（米国特許第 6, 329, 381 号に記載されたものなど）、およびアミド誘導體（米国特許第 6, 069, 149 号に記載されたものなど）が挙げられる。これら小分子 I R M の一部は、例えば、T L R - 1、T L R - 2、T L R - 4、T L R - 6、T L R - 7、および T L R - 8 などの 1 つ以上のトル（T o l l）様受容体（T L R）によって作用しうる。

【0005】

10

20

30

40

50

他のIRMとしては、オリゴヌクレオチド配列などの生物学的大分子が挙げられる。一部のIRMオリゴヌクレオチド配列はシトシン-グアニンジヌクレオチド(CpG)を含有し、例えば、米国特許第6,194,388号；同第6,207,646号；同第6,239,116号；同第6,339,068号；および同第6,406,705号に記載されている。CpGは、TLR9によって作用することが報告されている。さらに、CpG分子を用いて樹状細胞を活性化しうる(例えば、米国特許第6,429,199号を参照)。他のIRMヌクレオチド配列はCpGを欠き、例えば、国際公開第00/75304号に記載されている。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明は、インビトロで樹状細胞による抗原提示を誘発する方法であって、(a)分離樹状細胞集団を抗原に曝露するステップと；(b)トル様受容体6、トル様受容体7、またはトル様受容体8の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離樹状細胞を接触させるステップと；(c)樹状細胞を処理し、抗原を提示させるステップと、を含む方法を提供する。本発明の本態様、およびこれに続く追加のすべての態様において、一部の実施形態の免疫反応調整剤分子はトル様受容体7の作動薬であり、他の実施形態では、免疫反応調整剤分子は、イミダゾキノリンアミン類、イミダゾピリジンアミン類、6,7-縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン類、1,2-架橋イミダゾキノリンアミン類、チアゾロおよびオキサゾロキノリンアミン類およびピリジンアミン類、イミダゾナフチリジンアミン類およびテトラヒドロイミダゾナフチリジンアミン類、およびそれらの薬学的に許容される塩類からなる群から選択される。

【0007】

別の態様において、本発明は形質細胞様樹状細胞によるサイトカイン産生を検出する方法であって、(a)形質細胞様樹状細胞がIL-8、IP-10、IL-6、MIP-1、およびIFN-から選択される1つ以上のサイトカインを産生するように促すために有効な量でトル様受容体6、トル様受容体7、またはトル様受容体8の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離形質細胞様樹状細胞を接触させるステップと；(b)樹状細胞によるサイトカインの少なくとも1つの産生を検出するステップと、を含む方法を提供する。

【0008】

別の態様において、本発明は、形質細胞様樹状細胞による共刺激マーカーの発現を検出する方法であって、(a)形質細胞様樹状細胞が1つ以上の共刺激マーカーを発現するように促すために有効な量でトル様受容体6、トル様受容体7、またはトル様受容体8の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離形質細胞様樹状細胞を接触させるステップと；(b)形質細胞様樹状細胞による少なくとも1つの共刺激マーカーの発現を検出するステップと、を含む方法を提供する。

【0009】

別の態様において、本発明は、分離形質細胞様樹状細胞の生存を増強する方法であって、(a)形質細胞様樹状細胞の生存を増強するために有効な量でトル様受容体6、トル様受容体7、またはトル様受容体8の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離形質細胞様樹状細胞の集団を接触させるステップと；(b)形質細胞様樹状細胞の少なくとも30%が少なくとも48時間生存するような条件下に形質細胞様樹状細胞をインキュベートするステップと、を含む方法を提供する。

【0010】

別の態様において、本発明は、形質細胞様樹状細胞によるケモカイン受容体の発現を検出する方法であって、(a)形質細胞様樹状細胞が1つ以上のケモカイン受容体を発現するように促すために有効な量でトル様受容体6、トル様受容体7、またはトル様受容体8の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離形質細胞様樹状細胞を接触させるステップと；(b)少なくとも1つのケモカイン受容体の発現を検出するステップと、を含む方法を提供する。

10

20

30

40

50

【0011】

別の態様において、本発明は、形質細胞様樹状細胞によるケモカインの産生を選択的に誘発する化合物を同定する方法であって、(a)炎症性サイトカイン産生細胞と形質細胞様樹状細胞の両方を含む細胞の集団を得るステップと；(b)細胞の集団を試験化合物と接触させるステップと；(c)試験化合物と接触した細胞の集団に存在するケモカインの量を測定するステップと；(d)試験化合物と接触した細胞の集団に存在する炎症性サイトカインの量を測定するステップと；(e)細胞の集団に存在する炎症性サイトカインの量よりも少なくとも3倍多い量で試験化合物との接触後にケモカイン受容体が細胞の集団に存在する場合には、ケモカイン受容体の選択的誘導物質としての試験化合物を同定するステップと、を含む方法を提供する。

10

【0012】

別の態様において、本発明は、ケモカイン受容体を発現する細胞で豊富化された細胞集団を調製する方法であって、(a)形質細胞様樹状細胞が1つ以上のケモカイン受容体を発現するように促すために有効な量でトル様受容体6、トル様受容体7、またはトル様受容体8の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離形質細胞様樹状細胞を接触させるステップと；(b)ケモカイン受容体を発現する細胞で細胞集団を豊富化するステップと、を含む方法を提供する。

【0013】

別の態様において、本発明は、疾患を治療する方法であって、(a)形質細胞様樹状細胞が1つ以上のケモカイン受容体を発現するように促すために有効な量でトル様受容体6、トル様受容体7、またはトル様受容体8の作動薬である免疫反応調整剤分子と分離形質細胞様樹状細胞を接触させるステップと；(b)疾患と関連した抗原と形質細胞様樹状細胞の集団を接触させるステップと；(c)少なくとも1つのケモカイン受容体を高レベルで発現する細胞で細胞集団を豊富化するステップと；(d)豊富化した細胞集団を患者に投与するステップと、を含む方法を提供する。

20

【0014】

別の態様において、本発明は、疾患を治療するための細胞補助剤を調製する方法であって、(a)トル様受容体6、トル様受容体7、またはトル様受容体8の作動薬である免疫反応調整化合物で樹状細胞を処理することによってインビトロで形質細胞様樹状細胞を成熟させるステップと；(b)成熟樹状細胞を前記疾患と関連した抗原に曝露するステップと、を含む方法を提供する。

30

【0015】

別の態様において、本発明は、疾患を治療する方法であって、トル様受容体6、トル様受容体7、またはトル様受容体8の作動薬である免疫反応調整化合物で刺激することによって成熟されている形質細胞様樹状細胞の治療有効量をかかるとする哺乳動物に投与するステップを含む方法を提供する。

【0016】

本発明の種々の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明、実施例、特許請求の範囲、および添付の図面を参考にして容易に明らかになるであろう。明細書の全体を通じて一部の箇所において、実施例のリストによって案内が示されている。それぞれの場合において、挙げられたリストは代表的なグループとしてのみ提供され、限定的なリストとして解釈すべきではない。

40

【発明を実施するための最良の形態】

【0017】

本発明者らは、一部のトル様受容体(例えば、TLR-6およびTLR-7)の作動薬であるIRMが、IFN- γ を産生するすでに周知の反応に加えて、pDCから種々の生物学的反応を誘発しうることを見出した。例えば、TLR-6、TLR-7、またはTLR-8の作動薬であることが知られている一部のIRMは、ヒトpDCが、IFN- γ およびヒト誘導性タンパク質(IP)-10などのサイトカインを産生するように促しう。これら同じIRMは、pDCの(1)生存力、(2)共刺激マーカーの発現、(3)ケモ

50

カイン受容体の発現、および(4)抗原提示を増強することもでき、これは抗原提示 p D C との接触によって誘発されるナイーブ C D 4⁺ T 細胞による I F N - および I L - 1 0 の産生により測定される。

【0018】

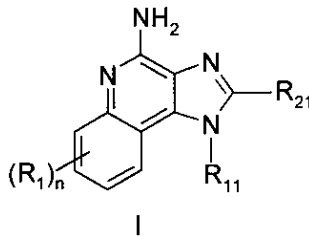
共刺激マーカーまたはケモカイン受容体などのマーカーの発現増大を示す形質細胞様樹状細胞は、細胞集団において豊富化されうる。濃縮にされた細胞集団を用いてインビトロで1つ以上の所望の分子を産生し、その後に治療または予防目的で患者に投与することができる。あるいは、豊富化された細胞集団自体を治療または予防目的で患者に投与することができる。

【0019】

I R M 化合物

上述したように、多くのイミダゾキノリンアミン、イミダゾピリジンアミン、6,7-縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン、1,2-架橋イミダゾキノリンアミン、チアゾロおよびオキサゾロキノリンアミンおよびピリジンアミン、イミダゾナフチリジンアミンおよびテトラヒドロイミダゾナフチリジンアミン I R M 化合物が、重要な免疫調整活性を示している。発明における使用に適した典型的な免疫反応調整剤化合物としては、以下の式 I ~ V のうちの1つによって規定される 1 H - イミダゾ [4 , 5 - c] キノリン - 4 - アミン類

【化1】



[式中、

R₁₁ は、炭素原子が 1 ~ 10 個のアルキルと、炭素原子が 1 ~ 6 個のヒドロキシアルキルと、アシルオキシアルキル [ここで、アシルオキシ部分は炭素原子が 2 ~ 4 個のアルカノイルオキシまたはベンゾイルオキシであり、アルキル部分は 1 ~ 6 個の炭素原子を含有する] と、ベンジルと、(フェニル)エチルと、フェニルと、からなる群から選択され、前記ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基が、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルキルと、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルコキシと、ハロゲンと、からなる群から独立して選択される、1つまたは2つの部分によってベンゼン環上で任意に置換され、但し、前記ベンゼン環が前記部分のうち2つによって置換されている場合、前記部分が両方で6個以下の炭素原子を含有し；

R₂₁ は、水素と、炭素原子が 1 ~ 8 個のアルキルと、ベンジルと、(フェニル)エチルと、フェニルと、からなる群から選択され、ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基が、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルキルと、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルコキシと、ハロゲンと、からなる群から独立して選択される、1つまたは2つの部分によってベンゼン環上で任意に置換され、但し、前記ベンゼン環が前記部分のうち2つによって置換されている場合、前記部分が両方で6個以下の炭素原子を含有し、

各 R₁ は、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルコキシと、ハロゲンと、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルキルと、からなる群から独立して選択され、n は 0 ~ 2 の整数であり、但し、n が 2 である場合、前記 R₁ 基が組み合わせで 6 個以下の炭素原子を含有する] ；

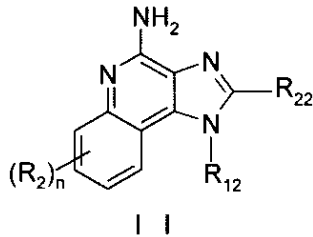
【化2】

10

20

30

40



10

[式中、

R_{12} は、2 ~ 10 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルケニルと、2 ~ 10 個の炭素原子を含有する、置換された直鎖または分岐鎖のアルケニル [ここで、置換基は、1 ~ 4 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルキルと 3 ~ 6 個の炭素原子を含有するシクロアルキルとからなる群から選択される] と、1 ~ 4 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルキルによって置換された、3 ~ 6 個の炭素原子を含有するシクロアルキルと、からなる群から選択され；

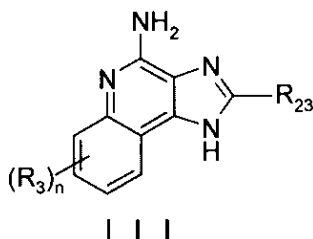
R_{22} は、水素と、1 ~ 8 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルキルと、ベンジルと、(フェニル)エチルと、フェニルと、からなる群から選択され、ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基が、1 ~ 4 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルキルと 1 ~ 4 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルコキシとハロゲンとからなる群から独立して選択される、1 または 2 つの部分によってベンゼン環上で任意に置換され、但し、ベンゼン環がそのような 2 つの部分によって置換されている場合、かかる部分が両方で 6 個以下の炭素原子を含有し；

20

各 R_2 は、1 ~ 4 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルコキシと、ハロゲンと、1 ~ 4 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルキルと、からなる群から独立して選択され、 n は 0 ~ 2 の整数であり、但し、 n が 2 である場合、前記 R_2 基が組み合わせで 6 個以下の炭素原子を含有する] ；

【化 3】

30



[式中、

R_{23} は、水素と、炭素原子が 1 ~ 8 個の直鎖または分岐鎖のアルキルと、ベンジルと、(フェニル)エチルと、フェニルと、からなる群から選択され、ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基が、炭素原子が 1 ~ 4 個の直鎖または分岐鎖のアルキルと炭素原子が 1 ~ 4 個の直鎖または分岐鎖のアルコキシとハロゲンとからなる群から独立して選択される、1 または 2 つの部分によってベンゼン環上で任意に置換され、但し、ベンゼン環がそのような 2 つの部分によって置換されている場合、かかる部分が両方で 6 個以下の炭素原子を含有し；

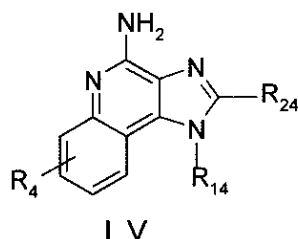
40

各 R_3 は、炭素原子が 1 ~ 4 の直鎖または分岐鎖のアルコキシと、ハロゲンと、炭素原子が 1 ~ 4 個の直鎖または分岐鎖のアルキルと、からなる群から独立して選択され、 n は 0 ~ 2 の整数であり、但し、 n が 2 である場合、前記 R_3 基が組み合わせで 6 個以下の炭素

50

原子を含有する] ;

【化 4】



10

[式中、

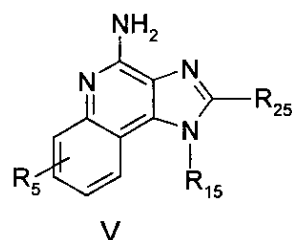
R_{14} は、 $-CHR_xR_y$ [式中、 R_y は水素または炭素 - 炭素結合であり、但し、 R_y が水素である場合、 R_x は、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルコキシ、炭素原子が 1 ~ 4 個のヒドロキシアルコキシ、炭素原子が 2 ~ 10 個の 1 - アルキニル、テトラヒドロピラニル、アルコキシアルキル [ここで、アルコキシ部分は 1 ~ 4 個の炭素原子を含有し、アルキル部分は 1 ~ 4 個の炭素原子を含有する]、2 - ピリジル、3 - ピリジルまたは 4 - ピリジルであり、さらに、 R_y が炭素 - 炭素結合である場合、 R_y と R_x との組み合わせで、ヒドロキシと炭素原子が 1 ~ 4 個のヒドロキシアルキルとからなる群から独立して選択される 1 つ以上の置換基で任意に置換されたテトラヒドロフラン基が形成される] であり ;

20

R_{24} は、水素と、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルキルと、フェニルと、置換されたフェニル [ここで、置換基は、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルキルと、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルコキシと、ハロゲンと、からなる群から選択される] と、からなる群から選択され ;

R_4 は、水素と、1 ~ 4 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルコキシと、ハロゲンと、1 ~ 4 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルキルと、からなる群から選択される] ;

【化 5】



30

[式中、

R_{15} は、水素と、1 ~ 10 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルキルおよび 1 ~ 10 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖の置換されたアルキル [ここで、置換基は、3 ~ 6 個の炭素原子を含有するシクロアルキルと、1 ~ 4 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルキルによって置換された、3 ~ 6 個の炭素原子を含有するシクロアルキルと、からなる群から選択される] と、2 ~ 10 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルケニルおよび 2 ~ 10 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖の置換されたアルケニル [ここで、置換基は 3 ~ 6 個の炭素原子を含有するシクロアルキルと、1 ~ 4 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルキルによって置換された、3 ~ 6 個の炭素原子を含有するシクロアルキルと、からなる群から選択される] と、炭素原子が 1 ~ 6 個のヒドロキシアルキルと、アルコキシアルキル [ここで、アルコキシ部分は 1 ~ 4 個の炭素原子を含有し、アルキル部分は 1 ~ 6 個の炭素原子を含有する] と、アシルオキシ

40

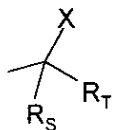
50

アルキル [ここで、アシルオキシ部分は、炭素原子が 2 ~ 4 個のアルカノイルオキシまたはベンゾイルオキシであり、アルキル部分は 1 ~ 6 個の炭素原子を含有する] と、ベンジルと、(フェニル)エチルと、フェニルと、からなる群から選択され、前記ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基が、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルキルと、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルコキシと、ハロゲンと、からなる群から独立して選択される 1 つまたは 2 つの部分によってベンゼン環上で任意に置換され、但し、前記ベンゼン環が前記部分のうち 2 つによって置換されている場合、かかる部分が両方で 6 個以下の炭素原子を含有し；

R₂₅ は、

【化 6】

10



[式中、

R_S および R_T は、水素と、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルキルと、フェニルと、置換されたフェニル [ここで、置換基は、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルキルと、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルコキシと、ハロゲンと、からなる群から選択される] と、からなる群から独立して選択され；

20

X は、1 ~ 4 個の炭素原子を含有するアルコキシと、アルコキシアルキル [ここで、アルコキシ部分は 1 ~ 4 個の炭素原子を含有し、アルキル部分は 1 ~ 4 個の炭素原子を含有する] と、炭素原子が 1 ~ 4 個のヒドロキシアルキルと、炭素原子が 1 ~ 4 個のハロアルキルと、アルキルアミド [ここで、アルキル基は 1 ~ 4 個の炭素原子を含有する] と、アミノと、置換されたアミノ [ここで、置換基は、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルキルまたはヒドロキシアルキルである] と、アジドと、クロロと、ヒドロキシと、1 - モルホリノと、1 - ピロリジノと、炭素原子が 1 ~ 4 のアルキルチオと、からなる群から選択される]；

30

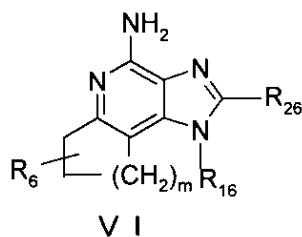
R₅ は、水素と、1 ~ 4 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルコキシと、ハロゲンと、1 ~ 4 個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルキルと、からなる群から選択される]；

および上記のうちのいずれかの薬学的に許容される塩が挙げられる。

【0020】

適切な 6, 7 縮合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン I R M 化合物は、以下の式 V I

【化 7】



V I

40

[式中、

m は、1、2、または 3 であり、

R₁₆ は、水素と、炭素原子が 3、4、または 5 個の環式アルキルと、1 ~ 10 個の炭素原

50

子を含む直鎖または分岐鎖のアルキルと、1～10個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖の置換されたアルキル〔ここで、置換基は、3～6個の炭素原子を含むシクロアルキルと、1～4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖のアルキルによって置換された、3～6個の炭素原子を含むシクロアルキルと、からなる群から選択される〕と、1～10個の炭素原子と1個またはそれ以上のフッ素原子または塩素原子とを含むフルオロアルキルまたはクロロアルキルと、2～10個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖のアルケニルおよび2～10個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖の置換されたアルケニル〔ここで、置換基は、3～6個の炭素原子を含むシクロアルキルと、1～4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖のアルキルによって置換された、3～6個の炭素原子を含むシクロアルキルと、からなる群から選択される〕と、炭素原子が1～6個のヒドロキシアルキルと、アルコキシアルキル〔ここで、アルコキシ部分は1～4個の炭素原子を含むし、アルキル部分は1～6個の炭素原子を含む〕と、アシルオキシアルキル〔ここで、アシルオキシ部分は炭素原子が2～4個のアルカノイルオキシまたはベンゾイルオキシであり、アルキル部分は1～6個の炭素原子を含む〕（但し、上記のアルキル基、置換されたアルキル基、アルケニル基、置換されたアルケニル基、ヒドロキシアルキル基、アルコキシアルキル基またはアシルオキシアルキル基はいずれも、窒素原子に直接結合して完全に炭素置換された炭素原子を含むことはない）と、ベンジルと、（フェニル）エチルと、フェニル〔前記ベンジル、（フェニル）エチルまたはフェニル置換基が、炭素原子が1～4個のアルキルと、炭素原子が1～4個のアルコキシと、ハロゲンと、からなる群から独立して選択される1つまたは2つの部分によってベンゼン環上で任意に置換され、但し、前記ベンゼン環が前記部分のうちの2つによって置換されている場合、かかる部分が両方で6個以下の炭素原子を含む〕と、

10

20

30

40

50

- C H R_x R_y

〔式中、

R_yは水素または炭素-炭素結合であり、但し、R_yが水素である場合、R_xは、炭素原子が1～4個のアルコキシ、炭素原子が1～4個のヒドロキシアルコキシ、炭素原子が2～10個の1-アルキニル、テトラヒドロピラニル、アルコキシアルキル〔ここで、アルコキシ部分は1～4個の炭素原子を含むし、アルキル部分は1～4個の炭素原子を含む〕、2-ピリジル、3-ピリジルまたは4-ピリジルであり、さらに、R_yが炭素-炭素結合である場合、R_yとR_xとの組み合わせで、ヒドロキシと炭素原子が1～4個のヒドロキシアルキルとからなる群から独立して選択される1つまたはそれ以上の置換基で任意に置換されたテトラヒドロフラン基が形成される〕と、からなる群から選択され、R₂₆は、水素と、1～8個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖のアルキルと、1～6個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖のヒドロキシアルキルと、モルホリノアルキルと、ベンジルと、（フェニル）エチルと、フェニル〔ベンジル、（フェニル）エチルまたはフェニル置換基が、メチルと、メトキシと、ハロゲンと、からなる群から選択される部分によってベンゼン環上で任意に置換される〕と；

- C (R_s) (R_T) (X) 〔式中、R_sおよびR_Tは、水素と、炭素原子が1～4個のアルキルと、フェニルと、置換されたフェニル〔但し、置換基は、炭素原子が1～4個のアルキルと、炭素原子が1～4個のアルコキシと、ハロゲンと、からなる群から選択される〕と、からなる群から独立して選択され、

Xは、1～4個の炭素原子を含むアルコキシと、アルコキシアルキル〔ここで、アルコキシ部分は1～4個の炭素原子を含むし、アルキル部分は1～4個の炭素原子を含む〕と、炭素原子が1～4個のハロアルキルと、アルキルアミド〔ここで、アルキル基は1～4個の炭素原子を含む〕と、アミノと、置換されたアミノ〔置換基は1～4個の炭素原子のアルキルまたはヒドロキシアルキルである〕と、アジドと、炭素原子が1～4個のアルキルチオと、モルホリノアルキル〔アルキル部分は1～4個の炭素原子を含む〕と、からなる群から選択される〕と、からなる群から選択され、

R_sは、水素と、フルオロと、クロロと、1～4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖のアルキルと、1～4個の炭素原子と少なくとも1個のフッ素原子または塩素原子とを

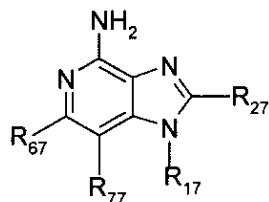
含有する直鎖または分岐鎖のフルオロアルキルまたはクロロアルキルと、からなる群から選択される]；

およびこれらの薬学的に許容される塩類によって規定される。

【0021】

適切なイミダゾピリジンアミンIRM化合物は、以下の式VII

【化8】



VII

10

[式中、

R_{17} は、水素と、 $-CH_2R_w$ [式中、 R_w は、1~10個の炭素原子を含有する、直鎖、分岐鎖または環式のアルキル、2~10個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルケニル、1~6個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のヒドロキシアルキル、アルコキシアルキル [ここで、アルコキシ部分は1~4個の炭素原子を含有し、アルキル部分は1~6個の炭素原子を含有する] およびフェニルエチルからなる群から選択される] と、 $-CH=CR_zR_z$ [式中、各 R_z が独立して、炭素原子が1~6個で、直鎖、分岐鎖または環式のアルキルである] と、からなる群から選択され；

20

R_{27} は、水素と、1~8個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のアルキルと、1~6個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖のヒドロキシアルキルと、アルコキシアルキル [ここで、アルコキシ部分は1~4個の炭素原子を含有し、アルキル部分は1~6個の炭素原子を含有する] と、ベンジルと、(フェニル)エチルと、フェニル [ベンジル、(フェニル)エチルまたはフェニル置換基が、メチルと、メトキシと、ハロゲンと、からなる群から選択される部分によってベンゼン環上で任意に置換される] と、モルホリノアルキル [ここで、アルキル部分は1~4個の炭素原子を含有する] と、からなる群から選択され；

30

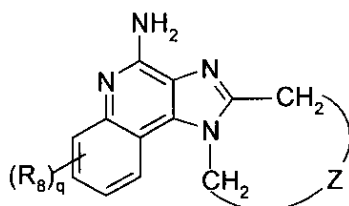
R_{67} および R_{77} は、水素と、1~5個の炭素原子のアルキルと、からなる群から独立して選択され、但し、 R_{67} および R_{77} は組み合わせで6個以下の炭素原子を含有し、さらに、 R_{77} が水素である場合、 R_{67} は水素以外であって R_{27} は水素またはモルホリノアルキル以外であり、さらに、 R_{67} が水素である場合、 R_{77} および R_{27} は水素以外である]；

およびこれらの薬学的に許容される塩類によって規定される。

【0022】

適切な1,2-架橋イミダゾキノリンアミンIRM化合物は、以下の式VIII

【化9】



VIII

40

50

[式中、

Z は、

- (CH₂)_p - [式中、p は 1 ~ 4 である] と、

- (CH₂)_a - C (R_DR_E) (CH₂)_b - [式中、a および b は整数であり、a + b は 0 ~ 3 であり、R_D は水素または炭素原子が 1 ~ 4 個のアルキルであり、R_E は、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルキルと、ヒドロキシと、-OR_F [式中、R_F は炭素原子が 1 ~ 4 個のアルキルである] と、-NR_GR'_G [式中、R_G および R'_G は独立して水素または炭素原子が 1 ~ 4 個のアルキルである] と、からなる群から選択される] と；

- (CH₂)_a - (Y) - (CH₂)_b - [式中、a および b は整数であり、a + b は 0 ~ 3 であり、Y は、O、S または -NR_J - [式中、R_J は水素または 1 ~ 4 個の炭素原子のアルキルである] である] と、からなる群から選択され；

q は 0 または 1 であり；

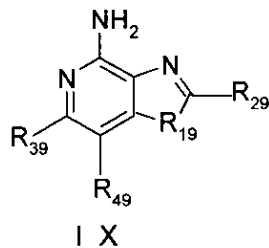
R₈ は、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルキルと、炭素原子が 1 ~ 4 個のアルコキシと、ハロゲンと、からなる群から選択される]

およびこれらの薬学的に許容される塩類によって規定される。

【 0 0 2 3 】

適切なチアゾロ - およびオキサゾロ - キノリンアミン化合物およびピリジンアミン化合物としては、以下の式 I X によって規定される化合物

【 化 1 0 】



[式中、

R₁₉ は、酸素と、硫黄と、セレンと、からなる群から選択され；

R₂₉ は；

- 水素；

- アルキル；

- アルキル - OH；

- ハロアルキル；

- アルケニル；

- アルキル - X - アルキル；

- アルキル - X - アルケニル；

- アルケニル - X - アルキル；

- アルケニル - X - アルケニル；

- アルキル - N (R₅₉)₂；

- アルキル - N₃ と；

- アルキル - O - C (O) - N (R₅₉)₂；

- ヘテロシクリル；

- アルキル - X - ヘテロシクリル；

- アルケニル - X - ヘテロシクリル；

- アリール；

- アルキル - X - アリール；

- アルケニル - X - アリール；

20

30

40

50

- ヘテロアリール ;
 - アルキル - X - ヘテロアリール ; および
 - アルケニル - X - ヘテロアリールからなる群から選択され ;
- R_{39} および R_{49} はそれぞれ独立して、

- 水素 ;
- X - アルキル ;
- ハロ ;
- ハロアルキル ;
- $N(R_{59})_2$;

であるか、あるいは、 R_{39} と R_{49} との組み合わせで、芳香族、ヘテロ芳香族、シクロアルキルまたはヘテロ環の縮合環が形成され ;

X は、- O -、- S -、- $N R_{59}$ -、- C (O) -、- C (O) O -、- O C (O) -、および結合からなる群から選択され ;

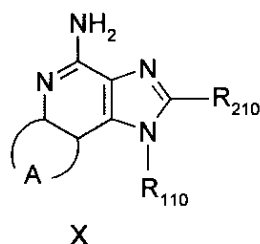
各 R_{59} は独立して、H または C_{1-8} アルキルである]

およびそれらの薬学的に許容される塩類が挙げられる。

【 0 0 2 4 】

適切なイミダゾナフチリジン I R M 化合物およびテトラヒドロイミダゾナフチリジン I R M 化合物は、以下の式 X および X I によって規定される化合物

【 化 1 1 】



20

[式中、

A は、= N - C R = C R - C R = ; = C R - N = C R - C R = ; = C R - C R = N - C R = ; または

= C R - C R = C R - N = であり ;

R_{110} は、

- 水素 ;
- アリール ;
- ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- O - C_{1-20} アルキル ;
- O - (C_{1-20} アルキル) $_{0-1}$ - アリール ;
- O - (C_{1-20} アルキル) $_{0-1}$ - ヘテロアリール ;
- O - (C_{1-20} アルキル) $_{0-1}$ - ヘテロシクリル ;
- C_{1-20} アルコキシカルボニル ;
- S (O) $_{0-2}$ - C_{1-20} アルキル ;
- S (O) $_{0-2}$ - (C_{1-20} アルキル) $_{0-1}$ - アリール ;
- S (O) $_{0-2}$ - (C_{1-20} アルキル) $_{0-1}$ - ヘテロアリール ;
- S (O) $_{0-2}$ - (C_{1-20} アルキル) $_{0-1}$ - ヘテロシクリル ;
- $N (R_{310})_2$;
- N_3 ;

オキソ ;

30

40

50

- ハロゲン ;
- NO_2 ;
- OH ; および
- SH

からなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換されていない、または置換されている、

- C_{1-20} アルキルまたは C_{2-20} アルケニル ; および

Q が $-\text{CO}-$ または $-\text{SO}_2-$ であり ; X が結合であり ; $-\text{O}-$ または $-\text{NR}_{310}-$ および R_{410} がアリール ; ヘテロアリール ; ヘテロシクリル ; または置換されていない、または

10

- アリール ;
- ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- $\text{O}-\text{C}_{1-20}$ アルキル ;
- $\text{O}-\left(\text{C}_{1-20}\text{アルキル}\right)_{0-1}-$ アリール ;
- $\text{O}-\left(\text{C}_{1-20}\text{アルキル}\right)_{0-1}-$ ヘテロアリール ;
- $\text{O}-\left(\text{C}_{1-20}\text{アルキル}\right)_{0-1}-$ ヘテロシクリル ;
- C_{1-20} アルコキシカルボニル ;
- $\text{S}(\text{O})_{0-2}-\text{C}_{1-20}$ アルキル ;

- $\text{S}(\text{O})_{0-2}-\left(\text{C}_{1-20}\text{アルキル}\right)_{0-1}-$ アリール ;
- $\text{S}(\text{O})_{0-2}-\left(\text{C}_{1-20}\text{アルキル}\right)_{0-1}-$ ヘテロアリール ;
- $\text{S}(\text{O})_{0-2}-\left(\text{C}_{1-20}\text{アルキル}\right)_{0-1}-$ ヘテロシクリル ;

20

- $\text{N}(\text{R}_{310})_2$;
- $\text{NR}_{310}-\text{CO}-\text{O}-\text{C}_{1-20}$ アルキル ;
- N_3 ;

オキソ ;

- ハロゲン ;
- NO_2 ;
- OH ; および
- SH

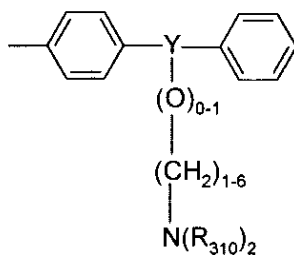
30

からなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換されている $-\text{C}_{1-20}$ アルキルまたは $-\text{C}_{2-20}$ アルケニルである、

- C_{1-20} アルキル - $\text{NR}_{310}-\text{Q}-\text{X}-\text{R}_{410}$ または $-\text{C}_{2-20}$ アルケニル - $\text{NR}_{310}-\text{Q}-\text{X}-\text{R}_{410}$

または、 R_{410} が、

【化 1 2】



40

[式中、Y が $-\text{N}-$ または $-\text{CR}-$ であり ;

R_{210} が

- 水素 ;
- C_{1-10} アルキル ;

50

- C₂₋₁₀アルケニル；
- アリール；
- C₁₋₁₀アルキル - O - C₁₋₁₀アルキル；
- C₁₋₁₀アルキル - O - C₂₋₁₀アルケニル；および
- OH；
- ハロゲン；
- N(R₃₁₀)₂；
- CO - N(R₃₁₀)₂；
- CO - C₁₋₁₀アルキル；
- N₃；

10

- アリール；
- ヘテロアリール；
- ヘテロシクリル；
- CO - アリール；および
- CO - ヘテロアリール

からなる群から選択される1つ以上の置換基によって置換される

- C₁₋₁₀アルキルまたはC₂₋₁₀アルケニル

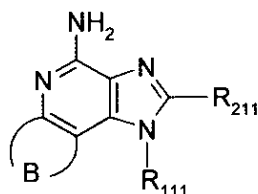
からなる群から選択され；

各R₃₁₀は、水素およびC₁₋₁₀アルキルからなる群から独立して選択され；

各Rは、水素、C₁₋₁₀アルキル、C₁₋₁₀アルコキシ、ハロゲン、およびトリフルオロメチルからなる群から独立して選択され、

20

【化13】



XI

30

[式中、

Bは、-NR - C(R)₂ - C(R)₂ - C(R)₂ - ; - C(R)₂ - NR - C(R)₂ - C(R)₂ - ;

- C(R)₂ - C(R)₂ - NR - C(R)₂ - または - C(R)₂ - C(R)₂ - C(R)₂ - NR - であり；

R₁₁₁は、

- 水素；
- アリール；
- ヘテロアリール；
- ヘテロシクリル；
- O - C₁₋₂₀アルキル；
- O - (C₁₋₂₀アルキル)₀₋₁ - アリール；
- O - (C₁₋₂₀アルキル)₀₋₁ - ヘテロアリール；
- O - (C₁₋₂₀アルキル)₀₋₁ - ヘテロシクリル；
- C₁₋₂₀アルコシカルボニル；
- S(O)₀₋₂ - C₁₋₂₀アルキル；
- S(O)₀₋₂ - (C₁₋₂₀アルキル)₀₋₁ - アリール；
- S(O)₀₋₂ - (C₁₋₂₀アルキル)₀₋₁ - ヘテロアリール；

40

50

- S (O)₀₋₂ - (C₁₋₂₀アルキル)₀₋₁ - ヘテロシクリル ;
- N (R₃₁₁)₂ ;
- N₃ ;

オキソ ;

- ハロゲン ;
- N O₂ ;
- O H ; および
- S H

からなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換されていない、または置換されている、

- C₁₋₂₀アルキルまたは C₂₋₂₀アルケニル ; および

Q が - C O - または - S O₂ - であり ; X が結合であり ; - O - または - N R₃₁₁ - および R₄₁₁ がアリール ; ヘテロアリール ; ヘテロシクリル ; または置換されていない、または

- アリール ;
- ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- O - C₁₋₂₀アルキル ;
- O - (C₁₋₂₀アルキル)₀₋₁ - アリール ;
- O - (C₁₋₂₀アルキル)₀₋₁ - ヘテロアリール ;
- O - (C₁₋₂₀アルキル)₀₋₁ - ヘテロシクリル ;
- C₁₋₂₀アルコキシカルボニル ;
- S (O)₀₋₂ - C₁₋₂₀アルキル ;
- S (O)₀₋₂ - (C₁₋₂₀アルキル)₀₋₁ - アリール ;
- S (O)₀₋₂ - (C₁₋₂₀アルキル)₀₋₁ - ヘテロアリール ;
- S (O)₀₋₂ - (C₁₋₂₀アルキル)₀₋₁ - ヘテロシクリル ;
- N (R₃₁₁)₂ ;

オキソ ;

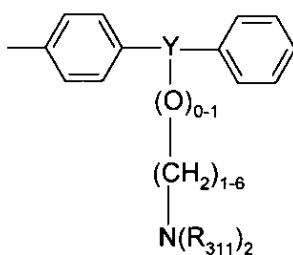
- ハロゲン ;
- N O₂ ;
- O H ; および
- S H

からなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換されている - C₁₋₂₀アルキルまたは - C₂₋₂₀アルケニルである、

- C₁₋₂₀アルキル - N R₃₁₁ - Q - X - R₄₁₁ または - C₂₋₂₀アルケニル - N R₃₁₁ - Q - X - R₄₁₁

または、R₄₁₁ が、

【化 1 4】



[式中、Y が - N - または - C R - であり ;

R₂₁₁が

- 水素；
- C₁₋₁₀アルキル；
- C₂₋₁₀アルケニル；
- アリール；
- C₁₋₁₀アルキル - O - C₁₋₁₀ - アルキル；
- C₁₋₁₀アルキル - O - C₂₋₁₀アルケニル；および
- OH；
- ハロゲン；
- N(R₃₁₁)₂；
- CO - N(R₃₁₁)₂；
- CO - C₁₋₁₀アルキル；
- N₃；
- アリール；
- ヘテロアリール；
- ヘテロシクリル；
- CO - アリール；および
- CO - ヘテロアリール

10

からなる群から選択される1つ以上の置換基によって置換される

- C₁₋₁₀アルキルまたはC₂₋₁₀アルケニル

20

からなる群から選択され；

各R₃₁₁は、水素およびC₁₋₁₀アルキルからなる群から独立して選択され；

各Rは、水素、C₁₋₁₀アルキル、C₁₋₁₀アルコキシ、ハロゲン、およびトリフルオロメチルからなる群から独立して選択される]

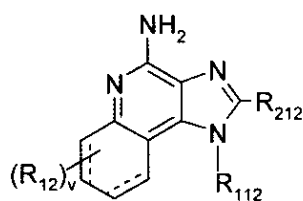
およびそれらの薬学的に許容される塩類である。

【0025】

追加の好ましい1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン類およびテトラヒドロ-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-4-アミン類としては、以下の式XII、XIII、およびXIVによって規定される化合物

【化15】

30



XII

40

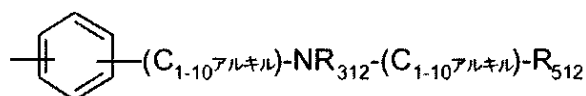
[式中、

R₁₁₂は、R₄₁₂がアリール、ヘテロアリール、アルキルまたはアルケニルであり、そのそれぞれが、

- アルキル；
- アルケニル；
- アルキニル；
- (アルキル)₀₋₁ - アリール；
- (アルキル)₀₋₁ - (置換アリール)；
- (アルキル)₀₋₁ - ヘテロアリール；
- (アルキル)₀₋₁ - (置換ヘテロアリール)；

50

- O - アルキル ;
 - O - (アルキル)₀₋₁ - アリール ;
 - O - (アルキル)₀₋₁ - (置換アリール) ;
 - O - (アルキル)₀₋₁ - ヘテロアリール ;
 - O - (アルキル)₀₋₁ - (置換ヘテロアリール) ;
 - CO - アリール ;
 - CO - (置換アリール) ;
 - CO - ヘテロアリール ;
 - CO - (置換ヘテロアリール) ;
 - COOH ; 10
 - CO - O - アルキル ;
 - CO - アルキル ;
 - S(O)₀₋₂ - アルキル ;
 - S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - アリール ;
 - S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - (置換アリール) ;
 - S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - ヘテロアリール ;
 - S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - (置換ヘテロアリール) ;
 - P(O)(OR₃₁₂)₂ ;
 - NR₃₁₂ - CO - O - アルキル ;
 - N₃ ; 20
 - ハロゲン ;
 - NO₂ ;
 - CN ;
 - ハロアルキル ;
 - O - ハロアルキル ;
 - CO - ハロアルキル ;
 - OH ;
 - SH ; およびアルキル、アルケニル、またはヘテロシクリルの場合、オキソ ;
- からなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換されていなくても、または置換されていてもよい、- アルキル - NR₃₁₂ - CO - R₄₁₂ または - アルケニル - NR₃₁₂ - CO - R₄₁₂ であり、または、R₄₁₂ が、 30
- 【化 16】



[式中、R₅₁₂ が、アリール、(置換アリール)、ヘテロアリール、(置換ヘテロアリール)、ヘテロシクリル、または(置換ヘテロシクリル)基であり； 40

R₂₁₂ は、

- 水素
- アルキル ;
- アルケニル ;
- アリール ;
- (置換アリール) ;
- ヘテロアリール ;
- (置換ヘテロアリール) ;
- ヘテロシクリル ; 50

- (置換ヘテロシクリル) ;
- アルキル - O - アルキル ;
- アルキル - O - アルケニル ; および
- OH ;
- 水素 ;
- $N(R_{312})_2$;
- CO - C_{1-10} アルキル ;
- CO - O - C_{1-10} アルキル ;
- N_3 ;
- アリール ;
- (置換アリール) ;
- ヘテロアリール ;
- (置換ヘテロアリール) ;
- ヘテロシクリル ;
- (置換ヘテロシクリル) ;
- CO - アリール ; および
- CO - ヘテロアリール

10

からなる群から選択される1つ以上の置換基によって置換されている

- アルキルまたはアルケニル

からなる群から選択され ;

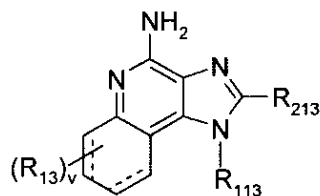
20

各 R_{312} は、水素 ; C_{1-10} アルキル - ヘテロアリール ; C_{1-10} アルキル - (置換ヘテロアリール) ; C_{1-10} アルキル - アリール ; C_{1-10} アルキル - (置換アリール) 、 および C_{1-10} アルキルからなる群から独立して選択され ;

v は、0 ~ 4 であり ;

存在する各 R_{12} は、 C_{1-10} アルキル、 C_{1-10} アルコキシ、ハロゲン、およびトリフルオロメチルからなる群から独立して選択され ;

【化17】



X I I I

30

[式中、

R_{113} は、 - アルキル - $NR_{313} - SO_2 - X - R_{413}$ または - アルケニル - $NR_{313} - SO_2 - X - R_{413}$ であり ;

40

X は結合または - $NR_{513} -$ であり ;

R_{413} は、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、アルキル、またはアルケニルであり、そのそれぞれが、

- アルキル ;
- アルケニル ;
- アリール ;
- ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- 置換シクロアルキル ;
- 置換アリール ;

50

- 置換ヘテロアリアル ;
- 置換ヘテロシクリル ;
- O - アルキル ;
- O - (アルキル)₀₋₁ - アリアル ;
- O - (アルキル)₀₋₁ - 置換アリアル ;
- O - (アルキル)₀₋₁ - ヘテロアリアル ;
- O - (アルキル)₀₋₁ - 置換ヘテロアリアル ;
- O - (アルキル)₀₋₁ - ヘテロシクリル ;
- O - (アルキル)₀₋₁ - 置換ヘテロシクリル ;
- COOH ; 10
- CO - O - アルキル
- CO - アルキル ;
- S(O)₀₋₂ - アルキル ;
- S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - アリアル ;
- S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - 置換アリアル ;
- S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - ヘテロアリアル ;
- S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - 置換ヘテロアリアル ;
- S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - ヘテロシクリル ;
- S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - 置換ヘテロシクリル ;
- (アルキル)₀₋₁ - NR₃₁₃R₃₁₃ ; 20
- (アルキル)₀₋₁ - NR₃₁₃ - CO - O - アルキル ;
- (アルキル)₀₋₁ - NR₃₁₃ - CO - アルキル ;
- (アルキル)₀₋₁ - NR₃₁₃ - CO - アリアル ;
- (アルキル)₀₋₁ - NR₃₁₃ - CO - 置換アリアル ;
- (アルキル)₀₋₁ - NR₃₁₃ - CO - ヘテロアリアル ;
- (アルキル)₀₋₁ - NR₃₁₃ - CO - 置換ヘテロアリアル ;
- N₃ ;
- ハロゲン ;
- ハロアルキル ;
- ハロアルコキシ ; 30
- CO - ハロアルキル ;
- CO - ハロアルコキシ ;
- NO₂ ;
- CN ;
- OH ;
- SH ; およびアルキル、アルケニル、またはヘテロシクリルの場合、オキソ
 からなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換されていなくてもよく、または
 置換されていてもよい ;
- R₂₁₃ は、 40
- 水素
- アルキル ;
- アルケニル ;
- アリアル ;
- 置換アリアル ;
- ヘテロアリアル ;
- 置換ヘテロアリアル ;
- アルキル - O - アルキル ;
- アルキル - O - アルケニル ; および
- OH ;
- ハロゲン ; 50

- $N(R_{313})_2$;
- $CO - N(R_{313})_2$;
- $CO - C_{1-10}$ アルキル ;
- $CO - O - C_{1-10}$ アルキル ;
- N_3 ;
- アリール ;
- 置換アリール ;
- ヘテロアリール ;
- 置換ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- 置換ヘテロシクリル ;
- $CO -$ アリール ;
- $CO -$ (置換アリール) ;
- $CO -$ ヘテロアリール ; および
- $CO -$ (置換ヘテロアリール)

10

からなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換されている

- アルキルまたはアルケニル

からなる群から選択され ;

各 R_{313} は、水素および C_{1-10} アルキルからなる群から独立して選択され ;

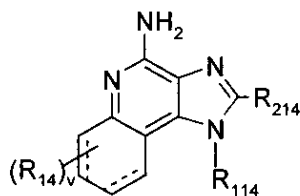
R_{513} は、水素および C_{1-10} アルキルからなる群から選択され、または R_{413} および R_{513} は結合し、複素 3 ~ 7 員環式または置換複素環式環を形成することができ ;

20

v は、0 ~ 4 であり、

存在する各 R_{13} は、 C_{1-10} アルキル、 C_{1-10} アルコキシ、ハロゲン、およびトリフルオロメチルからなる群から独立して選択され ;

【化 18】



XIV

30

[式中、

R_{114} は、- アルキル - $NR_{314} - CY - NR_{514} - X - R_{414}$ または
- アルケニル - $NR_{314} - CY - NR_{514} - X - R_{414}$ であり、

式中、

Y は、= O または = S であり ;

40

X は、結合、- $CO -$ 、または - $SO_2 -$ であり ;

R_{414} は、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、アルキル、またはアルケニルであり、そのそれぞれが、

- アルキル ;
- アルケニル ;
- アリール ;
- ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- 置換アリール ;
- 置換ヘテロアリール ;

50

- 置換ヘテロシクリル；
 - O - アルキル；
 - O - (アルキル)₀₋₁ - アリール；
 - O - (アルキル)₀₋₁ - 置換アリール；
 - O - (アルキル)₀₋₁ - ヘテロアリール；
 - O - (アルキル)₀₋₁ - 置換ヘテロアリール；
 - O - (アルキル)₀₋₁ - ヘテロシクリル；
 - O - (アルキル)₀₋₁ - 置換ヘテロシクリル；
 - COOH；
 - CO - O - アルキル 10
 - CO - アルキル；
 - S(O)₀₋₂ - アルキル；
 - S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - アリール；
 - S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - 置換アリール；
 - S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - ヘテロアリール；
 - S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - 置換ヘテロアリール；
 - S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - ヘテロシクリル；
 - S(O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - 置換ヘテロシクリル；
 - (アルキル)₀₋₁ - NR₃₁₄R₃₁₄；
 - (アルキル)₀₋₁ - NR₃₁₄ - CO - O - アルキル； 20
 - (アルキル)₀₋₁ - NR₃₁₄ - CO - アルキル；
 - (アルキル)₀₋₁ - NR₃₁₄ - CO - アリール；
 - (アルキル)₀₋₁ - NR₃₁₄ - CO - 置換アリール；
 - (アルキル)₀₋₁ - NR₃₁₄ - CO - ヘテロアリール；
 - (アルキル)₀₋₁ - NR₃₁₄ - CO - 置換ヘテロアリール；
 - N₃；
 - ハロゲン；
 - ハロアルキル；
 - ハロアルコキシ；
 - CO - ハロアルコキシ； 30
 - NO₂；
 - CN；
 - OH；
 - SH；およびアルキル、アルケニル、またはヘテロシクリルの場合、オキシ
- からなる群から選択される1つ以上の置換基によって置換されていなくてもよく、または置換されていてもよく；
- 但し、Xが結合である場合、R₄₁₄は追加的に水素であることができ；
- R₂₁₄は、
- 水素
 - アルキル； 40
 - アルケニル；
 - アリール；
 - 置換アリール；
 - ヘテロアリール；
 - 置換ヘテロアリール；
 - アルキル - O - アルキル；
 - アルキル - O - アルケニル；および
 - OH；
 - ハロゲン；
 - N(R₃₁₄)₂； 50

- CO - N (R₃₁₄)₂ ;
- CO - C₁₋₁₀ アルキル ;
- CO - O - C₁₋₁₀ アルキル ;
- N₃ ;
- アリール ;
- 置換アリール ;
- ヘテロアリール ;
- 置換ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- 置換ヘテロシクリル ;
- CO - アリール ;
- CO - (置換アリール) ;
- CO - ヘテロアリール ; および
- CO - (置換ヘテロアリール)

10

からなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換されている

- アルキルまたはアルケニル

からなる群から選択され ;

各 R₃₁₄ は、水素および C₁₋₁₀ アルキルからなる群から独立して選択され ;

R₅₁₄ は、水素および C₁₋₁₀ アルキルからなる群から選択され、または R₄₁₄ および R₅₁₄ は結合し、複素 3 ~ 7 員環式または置換複素環式環を形成することができ ;

20

v は、0 ~ 4 であり、

存在する各 R₁₄ は、C₁₋₁₀ アルキル、C₁₋₁₀ アルコキシ、ハロゲン、およびトリフルオロメチルからなる群から独立して選択される]

およびそれらの薬学的に許容される塩類が挙げられる。

【 0 0 2 6 】

追加の適切な 1 H - イミダゾ [4 , 5 - c] キノリン - 4 - アミン類およびテトラヒドロ

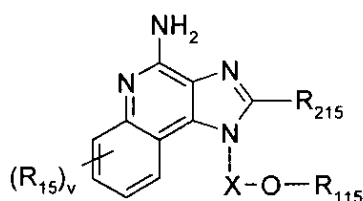
- 1 H - イミダゾ [4 , 5 - c] キノリン - 4 - アミン類としては、以下の式 X V、X V

I、X V I I、X V I I I、X I X、X X、X X I、X X I I、X X I I I、X X I V、

X X V、および X X V I によって規定される化合物

【 化 1 9 】

30



X V

40

[式中、X は - C H R₅₁₅ -、- C H R₅₁₅ - アルキル -、または - C H R₅₁₅ - アルケニル - であり ;

R₁₁₅ は、

- R₄₁₅ - C R₃₁₅ - Z - R₆₁₅ - アルキル ;
- R₄₁₅ - C R₃₁₅ - Z - R₆₁₅ - アルケニル ;
- R₄₁₅ - C R₃₁₅ - Z - R₆₁₅ - アリール ;
- R₄₁₅ - C R₃₁₅ - Z - R₆₁₅ - ヘテロアリール ;
- R₄₁₅ - C R₃₁₅ - Z - R₆₁₅ - ヘテロシクリル ;
- R₄₁₅ - C R₃₁₅ - Z - H ;
- R₄₁₅ - N R₇₁₅ - C R₃₁₅ - R₆₁₅ - アルキル ;

50

- R₄₁₅ - NR₇₁₅ - CR₃₁₅ - R₆₁₅ - アルケニル ;
 - R₄₁₅ - NR₇₁₅ - CR₃₁₅ - R₆₁₅ - アリール ;
 - R₄₁₅ - NR₇₁₅ - CR₃₁₅ - R₆₁₅ - ヘテロアリール ;
 - R₄₁₅ - NR₇₁₅ - CR₃₁₅ - R₆₁₅ - ヘテロシクリル ; および
 - R₄₁₅ - NR₇₁₅ - CR₃₁₅ - R₈₁₅、 かななる群から選択され ;
- Z は、 - NR₅₁₅ - 、 - O - 、 または - S - であり ;

R₂₁₅ は、

- 水素 ;
- アルキル ;
- アルケニル ;
- アリール ;
- ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- アルキル - Y - アルキル ;
- アルキル - Y - アルケニル ;
- アルキル - Y - アリール ; および
- OH ;
- ハロゲン ;
- N (R₅₁₅)₂ ;
- CO - N (R₅₁₅)₂ ;
- CO - C₁₋₁₀ アルキル ;
- CO - O - C₁₋₁₀ アルキル ;

10

- N₃ ;

- アリール ;

- ヘテロアリール ;

- ヘテロシクリル ;

- CO - アリール ; および

- CO - ヘテロアリールからなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換された

- アルキルまたはアルケニルからなる群から選択され ;

20

R₃₁₅ は、 = O または = S であり ;

30

R₄₁₅ は、 1 個以上の - O - 基によって中断されうるアルキルまたはアルケニルであり ;

各 R₅₁₅ は、 独立して H または C₁₋₁₀ アルキルであり ;

R₆₁₅ は、 1 個以上の - O - 基によって中断されうる結合、 アルキル、 またはアルケニルであり ;

R₇₁₅ は、 H、 C₁₋₁₀ アルキル、 またはアリールアルキルであり ; または R₄₁₅ および R₇₁₅ は結合して環を形成することができ ;

R₈₁₅ は、 H または C₁₋₁₀ アルキルであり ; または R₇₁₅ および R₈₁₅ は結合して環を形成することができ ;

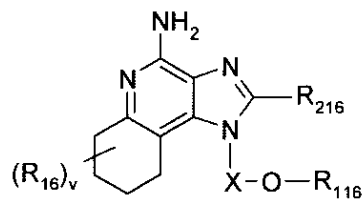
Y は、 - O - または - S (O)₀₋₂ - であり ;

v は、 0 ~ 4 であり ; および

40

存在する各 R₁₅ は、 C₁₋₁₀ アルキル、 C₁₋₁₀ アルコキシ、 ヒドロキシ、 ハロゲン、 およびトリフルオロメチルからなる群から独立して選択され] ;

【化 20】



XVI

10

[式中、X は - C H R₅₁₆ - 、 - C H R₅₁₆ - アルキル - 、または - C H R₅₁₆ - アルケニル - であり；

R₁₁₆ は、

- R₄₁₆ - C R₃₁₆ - Z - R₆₁₆ - アルキル；
 - R₄₁₆ - C R₃₁₆ - Z - R₆₁₆ - アルケニル；
 - R₄₁₆ - C R₃₁₆ - Z - R₆₁₆ - アリール；
 - R₄₁₆ - C R₃₁₆ - Z - R₆₁₆ - ヘテロアリール；
 - R₄₁₆ - C R₃₁₆ - Z - R₆₁₆ - ヘテロシクリル；
 - R₄₁₆ - C R₃₁₆ - Z - H；
 - R₄₁₆ - N R₇₁₆ - C R₃₁₆ - R₆₁₆ - アルキル；
 - R₄₁₆ - N R₇₁₆ - C R₃₁₆ - R₆₁₆ - アルケニル；
 - R₄₁₆ - N R₇₁₆ - C R₃₁₆ - R₆₁₆ - アリール；
 - R₄₁₆ - N R₇₁₆ - C R₃₁₆ - R₆₁₆ - ヘテロアリール；
 - R₄₁₆ - N R₇₁₆ - C R₃₁₆ - R₆₁₆ - ヘテロシクリル；および
 - R₄₁₆ - N R₇₁₆ - C R₃₁₆ - R₈₁₅、からなる群から選択され；
- Z は、- N R₅₁₆ - 、 - O - 、または - S - であり；

20

R₂₁₆ は、

- 水素；
- アルキル；
- アルケニル；
- アリール；
- ヘテロアリール；
- ヘテロシクリル；
- アルキル - Y - アルキル；
- アルキル - Y - アルケニル；
- アルキル - Y - アリール；および
- O H；
- ハロゲン；
- N (R₅₁₆)₂；
- C O - N (R₅₁₆)₂；
- C O - C₁₋₁₀アルキル；
- C O - O - C₁₋₁₀アルキル；
- N₃；
- アリール；
- ヘテロアリール；
- ヘテロシクリル；
- C O - アリール；および
- C O - ヘテロアリールからなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換された
- アルキルまたはアルケニルからなる群から選択され；

30

40

R₃₁₆ は、= O または = S であり；

50

R_{416} は、1 個以上の - O - 基によって中断されうるアルキルまたはアルケニルであり；

各 R_{516} は、独立して H または C_{1-10} アルキルであり；

R_{616} は、1 個以上の - O - 基によって中断されうる結合、アルキル、またはアルケニルであり；

R_{716} は、H、 C_{1-10} アルキル、またはアリールアルキルであり；または R_{416} および R_{716} は結合して環を形成することができ；

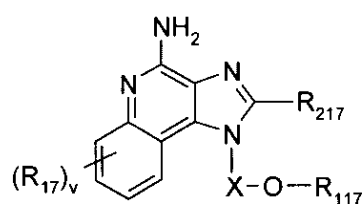
R_{816} は、H または C_{1-10} アルキルであり；または R_{716} および R_{816} は結合して環を形成することができ；

Y は、- O - または - S (O)₀₋₂ - であり；

v は、0 ~ 4 であり；および

存在する各 R_{16} は、 C_{1-10} アルキル、 C_{1-10} アルコキシ、ヒドロキシ、ハロゲン、およびトリフルオロメチルからなる群から独立して選択され]；

【化 2 1】



XVII I

[式中、X は - C H R₃₁₇ - 、 - C H R₃₁₇ - アルキル - 、または - C H R₃₁₇ - アルケニル - であり；

R_{117} は、

- アルケニル；

- アリール；および

- R_{417} アリールからなる群から選択され；

R_{217} は、

- 水素；

- アルキル；

- アルケニル；

- アリール；

- ヘテロアリール；

- ヘテロシクリル；

- アルキル - Y - アルキル；

- アルキル - Y - アルケニル；

- アルキル - Y - アリール；および

- O H；

- ハロゲン；

- N (R₃₁₇)₂；

- C O - N (R₃₁₇)₂；

- C O - C_{1-10} アルキル；

- C O - O - C_{1-10} アルキル；

- N₃；

- アリール；

- ヘテロアリール；

- ヘテロシクリル；

- C O - アリール；および

10

20

30

40

50

- CO - ヘテロアリアルからなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換された
- アルキルまたはアルケニルからなる群から選択され；

R₄₁₇ は、1 個以上の - O - 基によって中断されうるアルキルまたはアルケニルであり；

各 R₃₁₇ は、独立して H または C₁₋₁₀ アルキルであり；

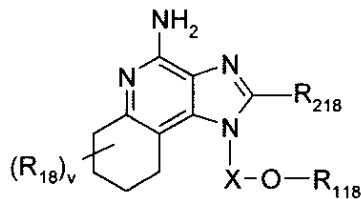
各 Y は、独立して - O - または - S (O)₀₋₂ - であり；

v は、0 ~ 4 であり；および

存在する各 R₁₇ は、C₁₋₁₀ アルキル、C₁₋₁₀ アルコキシ、ヒドロキシ、ハロゲン、および
トリフルオロメチルからなる群から独立して選択され]；

【化 2 2】

10



XVIII

[式中、X は - C H R₃₁₈ - 、 - C H R₃₁₈ - アルキル - 、または - C H R₃₁₈ - アルケニ
ル - であり；

R₁₁₈ は、

- アルケニル；

- アリール；および

- R₄₁₈ アリールからなる群から選択され；

R₂₁₈ は、

- 水素；

- アルキル；

- アルケニル；

- アリール；

- ヘテロアリアル；

- ヘテロシクリル；

- アルキル - Y - アルキル；

- アルキル - Y - アリール；

- アルキル - Y - アルケニル；および

- O H；

- ハロゲン；

- N (R₃₁₈)₂；

- CO - N (R₃₁₈)₂；

- CO - C₁₋₁₀ アルキル；

- CO - O - C₁₋₁₀ アルキル；

- N₃；

- アリール；

- ヘテロアリアル；

- ヘテロシクリル；

- CO - アリール；および

- CO - ヘテロアリアルからなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換された
- アルキルまたはアルケニルからなる群から選択され；

R₄₁₈ は、1 個以上の - O - 基によって中断されうるアルキルまたはアルケニルであり；

各 R₃₁₈ は、独立して H または C₁₋₁₀ アルキルであり；

30

40

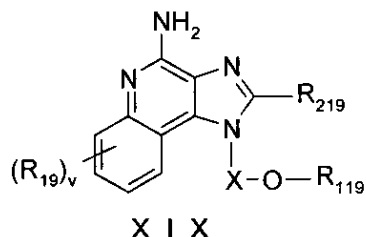
50

各 Y は、独立して - O - または - S (O)₀₋₂ - であり ;

v は、0 ~ 4 であり ; および

存在する各 R₁₈ は、C₁₋₁₀ アルキル、C₁₋₁₀ アルコキシ、ヒドロキシ、ハロゲン、およびトリフルオロメチルからなる群から独立して選択され ;

【化 2 3】



10

[式中、X は - C H R₃₁₉ - 、 - C H R₃₁₉ - アルキル - 、または - C H R₃₁₉ - アルケニル - であり ;

R₁₁₉ は、

- ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- R₄₁₉ - ヘテロアリール ; および
- R₄₁₉ ヘテロシクリルからなる群から選択され ;

20

R₂₁₉ は、

- 水素 ;
- アルキル ;
- アルケニル ;
- アリール ;
- ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- アルキル - Y - アルキル ;
- アルキル - Y - アルケニル ;
- アルキル - Y - アリール ; および
- O H ;
- ハロゲン ;

30

- N (R₃₁₉)₂ ;
- C O - N (R₃₁₉)₂ ;
- C O - C₁₋₁₀ アルキル ;
- C O - O - C₁₋₁₀ アルキル ;

40

- N₃ ;

- アリール ;
- ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- C O - アリール ; および
- C O - ヘテロアリールからなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換された
- アルキルまたはアルケニルからなる群から選択され ;

R₄₁₉ は、1 個以上の - O - 基によって中断されうるアルキルまたはアルケニルであり ;

各 R₃₁₉ は、独立して H または C₁₋₁₀ アルキルであり ;

各 Y は、独立して - O - または - S (O)₀₋₂ - であり ;

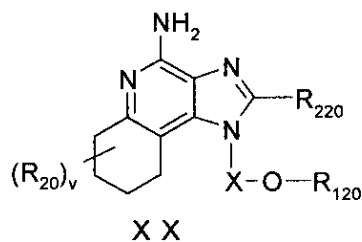
v は、0 ~ 4 であり ; および

存在する各 R₁₉ は、C₁₋₁₀ アルキル、C₁₋₁₀ アルコキシ、ヒドロキシ、ハロゲン、および

50

トリフルオロメチルからなる群から独立して選択され] ;

【化 2 4】



10

[式中、X は - C H R₃₂₀ - 、 - C H R₃₂₀ - アルキル - 、または - C H R₃₂₀ - アルケニル - であり ;

R₁₂₀ は、

- ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- R₄₂₀ - ヘテロアリール ; および
- R₄₁₉ ヘテロシクリルからなる群から選択され ;

R₂₂₀ は、

- 水素 ;
- アルキル ;
- アルケニル ;
- アリール ;
- ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- アルキル - Y - アルキル ;
- アルキル - Y - アルケニル ;
- アルキル - Y - アリール ; および
- O H ;

20

- ハロゲン ;

- N (R₃₂₀)₂ ;
- C O - N (R₃₂₀)₂ ;
- C O - C₁₋₁₀ アルキル ;
- C O - O - C₁₋₁₀ アルキル ;
- N₃ ;

30

- アリール ;

- ヘテロアリール ;

- ヘテロシクリル ;

- C O - アリール ; および

- C O - ヘテロアリールからなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換された

- アルキルまたはアルケニルからなる群から選択され ;

40

R₄₂₀ は、1 個以上の - O - 基によって中断されうるアルキルまたはアルケニルであり ;

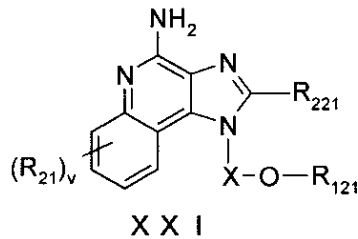
各 R₃₂₀ は、独立して H または C₁₋₁₀ アルキルであり ;

各 Y は、独立して - O - または - S (O)₀₋₂ - であり ;

v は、0 ~ 4 であり ; および

存在する各 R₂₀ は、C₁₋₁₀ アルキル、C₁₋₁₀ アルコキシ、ヒドロキシ、ハロゲン、およびトリフルオロメチルからなる群から独立して選択され] ;

【化 2 5】



10

[式中、X は - C H R₅₂₁ - 、 - C H R₅₂₁ - アルキル - 、または - C H R₅₂₁ - アルケニル - であり；

R₁₂₁ は、

- R₄₂₁ - N R₃₂₁ - S O₂ - R₆₂₁ - アルキル；
- R₄₂₁ - N R₃₂₁ - S O₂ - R₆₂₁ - アルケニル；
- R₄₂₁ - N R₃₂₁ - S O₂ - R₆₂₁ - アリール；
- R₄₂₁ - N R₃₂₁ - S O₂ - R₆₂₁ - ヘテロアリール；
- R₄₂₁ - N R₃₂₁ - S O₂ - R₆₂₁ - ヘテロシクリル；
- R₄₂₁ - N R₃₂₁ - S O₂ - R₇₂₁；
- R₄₂₁ - N R₃₂₁ - S O₂ - N R₅₂₁ - R₆₂₁ - アルキル；
- R₄₂₁ - N R₃₂₁ - S O₂ - N R₅₂₁ - R₆₂₁ - アルケニル；
- R₄₂₁ - N R₃₂₁ - S O₂ - N R₅₂₁ - R₆₂₁ - アリール；
- R₄₂₁ - N R₃₂₁ - S O₂ - N R₅₂₁ - R₆₂₁ - ヘテロアリール；
- R₄₂₁ - N R₃₂₁ - S O₂ - N R₅₂₁ - R₆₂₁ - ヘテロシクリル；および
- R₄₂₁ - N R₃₂₁ - S O₂ - N H₂ からなる群から選択され；

20

R₂₂₁ は、

- 水素；
- アルキル；
- アルケニル；
- アリール；
- ヘテロアリール；
- ヘテロシクリル；
- アルキル - Y - アルキル；
- アルキル - Y - アルケニル；
- アルキル - Y - アリール；および
- O H；
- ハロゲン；
- N (R₅₂₁)₂；
- C O - N (R₅₂₁)₂；
- C O - C₁₋₁₀ アルキル；
- C O - O - C₁₋₁₀ アルキル；
- N₃；
- アリール；
- ヘテロアリール；
- ヘテロシクリル；
- C O - アリール；および
- C O - ヘテロアリールからなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換された
- アルキルまたはアルケニルからなる群から選択され；

30

40

Y は、 - O - または - S (O)₀₋₂ - であり；

R₃₂₁ は、 H、 C₁₋₁₀ アルキル、またはアリールアルキルであり；

50

各 R_{421} は、1 個以上の - O - 基によって中断されうる独立してアルキルまたはアルケニルであり；または R_{321} および R_{421} は結合して環を形成することができ；

各 R_{521} は、独立して H、 C_{1-10} アルキル、または C_{2-10} アルケニルであり；

R_{621} は、1 個以上の - O - 基によって中断されうる結合、アルキル、またはアルケニルであり；

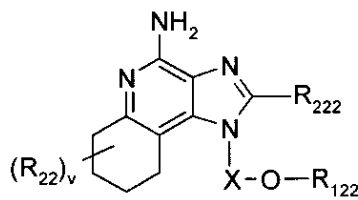
R_{721} は、 C_{1-10} アルキルであり、または R_{321} および R_{721} は結合して環を形成することができ；

v は、0 ~ 4 であり；および

存在する各 R_{21} は、 C_{1-10} アルキル、 C_{1-10} アルコキシ、ヒドロキシ、ハロゲン、およびトリフルオロメチルからなる群から独立して選択され]；

10

【化 2 6】



XXII

20

[式中、X は - $CH R_{522}$ - 、 - $CH R_{522}$ - アルキル - 、または - $CH R_{522}$ - アルケニル - であり；

R_{122} は、

- $R_{422} - NR_{322} - SO_2 - R_{622}$ - アルキル；
- $R_{422} - NR_{322} - SO_2 - R_{622}$ - アルケニル；
- $R_{422} - NR_{322} - SO_2 - R_{622}$ - アリール；
- $R_{422} - NR_{322} - SO_2 - R_{622}$ - ヘテロアリール；
- $R_{422} - NR_{322} - SO_2 - R_{622}$ - ヘテロシクリル；
- $R_{422} - NR_{322} - SO_2 - R_{722}$ ；
- $R_{422} - NR_{322} - SO_2 - NR_{522} - R_{622}$ - アルキル；
- $R_{422} - NR_{322} - SO_2 - NR_{522} - R_{622}$ - アルケニル；
- $R_{422} - NR_{322} - SO_2 - NR_{522} - R_{622}$ - アリール；
- $R_{422} - NR_{322} - SO_2 - NR_{522} - R_{622}$ - ヘテロアリール；
- $R_{422} - NR_{322} - SO_2 - NR_{522} - R_{622}$ - ヘテロシクリル；および
- $R_{422} - NR_{322} - SO_2 - NH_2$ からなる群から選択され；

30

R_{222} は、

- 水素；
- アルキル；
- アルケニル；
- アリール；
- ヘテロアリール；
- ヘテロシクリル；
- アルキル - Y - アルキル；
- アルキル - Y - アルケニル；
- アルキル - Y - アリール；および
- OH；
- ハロゲン；
- $N(R_{522})_2$ ；
- $CO - N(R_{522})_2$ ；

40

50

- CO - C₁₋₁₀アルキル ;
- CO - O - C₁₋₁₀アルキル ;
- N₃ ;
- アリール ;
- ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- CO - アリール ; および
- CO - ヘテロアリールからなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換された
- アルキルまたはアルケニルからなる群から選択され ;

Y は、 - O - または - S (O)₀₋₂ - であり ;

10

R₃₂₂ は、 H、 C₁₋₁₀アルキル、またはアリールアルキルであり ;

各 R₄₂₂ は、 1 個以上の - O - 基によって中断されうる独立してアルキルまたはアルケニルであり ; または R₃₂₂ および R₄₂₂ は結合して環を形成することができ ;

各 R₅₂₂ は、 H、 C₁₋₁₀アルキル、または C₂₋₁₀アルケニルであり ;

R₆₂₂ は、 1 個以上の - O - 基によって中断されうる結合、アルキル、またはアルケニルであり ;

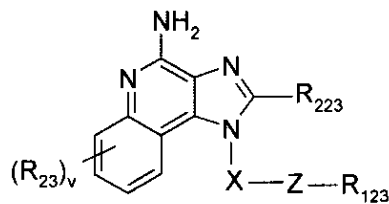
R₇₂₂ は、 C₁₋₁₀アルキルであり、または R₃₂₂ および R₇₂₂ は結合して環を形成することができ ;

v は、 0 ~ 4 であり ; および

存在する各 R₂₂ は、 C₁₋₁₀アルキル、 C₁₋₁₀アルコキシ、ヒドロキシ、ハロゲン、およびトリフルオロメチルからなる群から独立して選択され] ;

20

【化 27】



XXIII

30

[式中、 X は - CHR₃₂₃ - 、 - CHR₃₂₃ - アルキル - 、または - CHR₃₂₃ - アルケニル - であり ;

Z は、 - S - 、 - SO - 、または - SO₂ - であり ;

R₁₂₃ は、

- アルキル ;
- アリール ;
- ヘテロアリール ;
- ヘテロシクリル ;
- アルケニル ;

40

- R₄₂₃ - アリール ;

- R₄₂₃ - ヘテロアリール ;

- R₄₂₃ - ヘテロシクリル

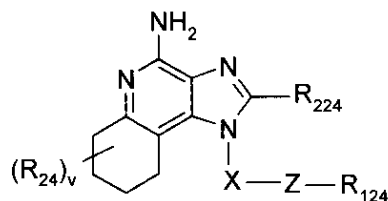
からなる群から選択され ;

R₂₂₃ は、

- 水素 ;
- アルキル ;
- アルケニル ;
- アリール ;

50

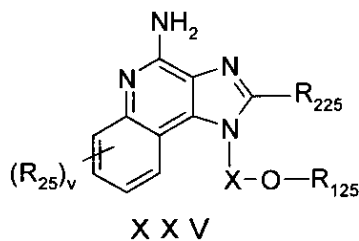
- ヘテロアリール ;
 - ヘテロシクリル ;
 - アルキル - Y - アルキル ;
 - アルキル - Y - アルケニル ;
 - アルキル - Y - アリール ; および
 - OH ;
 - ハロゲン ;
 - N (R₃₂₃)₂ ;
 - CO - N (R₃₂₃)₂ ;
 - CO - C₁₋₁₀アルキル ;
 - CO - O - C₁₋₁₀アルキル ;
 - N₃ ;
 - アリール ;
 - ヘテロアリール ;
 - ヘテロシクリル ;
 - CO - アリール ; および
 - CO - ヘテロアリールからなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換された
 - アルキルまたはアルケニルからなる群から選択され ;
- 各 R₃₂₃ は、独立して H または C₁₋₁₀アルキルであり ;
- 各 R₄₂₃ は、独立してアルキルまたはアルケニルであり ;
- 各 Y は、独立して - O - または - S (O)₀₋₂ - であり ;
- v は、0 ~ 4 であり ; および
- 存在する各 R₂₃ は、C₁₋₁₀アルキル、C₁₋₁₀アルコキシ、ヒドロキシ、ハロゲン、およびトリフルオロメチルからなる群から独立して選択され] ;
- 【化 2 8】



XXIV

- [式中、X は - CH R₃₂₄ - 、 - C H R₃₂₄ - アルキル - 、または - C H R₃₂₄ - アルケニル - であり ;
- Z は、- S - 、 - SO - 、または - SO₂ - であり ;
- R₁₂₄ は、
- アルキル ;
 - アリール ;
 - ヘテロアリール ;
 - ヘテロシクリル ;
 - アルケニル ;
 - R₄₂₄ - アリール ;
 - R₄₂₄ - ヘテロアリール ; および
 - R₄₂₄ - ヘテロシクリル
- からなる群から選択され ;
- R₂₂₄ は、
- 水素 ;

- アルキル ;
 - アルケニル ;
 - アリール ;
 - ヘテロアリール ;
 - ヘテロシクリル ;
 - アルキル - Y - アルキル ;
 - アルキル - Y - アルケニル ;
 - アルキル - Y - アリール ; および
 - OH ;
 - ハロゲン ;
 - N (R₃₂₄)₂ ;
 - CO - N (R₃₂₄)₂ ;
 - CO - C₁₋₁₀アルキル ;
 - CO - O - C₁₋₁₀アルキル ;
 - N₃ ;
 - アリール ;
 - ヘテロアリール ;
 - ヘテロシクリル ;
 - CO - アリール ; および
 - CO - ヘテロアリールからなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換された
 - アルキルまたはアルケニルからなる群から選択され ;
- 各 R₃₂₄ は、独立して H または C₁₋₁₀アルキルであり ;
 各 R₄₂₄ は、独立してアルキルまたはアルケニルであり ;
 各 Y は、独立して - O - または - S (O)₀₋₂ - であり ;
 v は、0 ~ 4 であり ; および
 存在する各 R₂₄ は、C₁₋₁₀アルキル、C₁₋₁₀アルコキシ、ヒドロキシ、ハロゲン、および
 トリフルオロメチルからなる群から独立して選択され] ;
 【化 29】



[式中、X は - C H R₅₂₅ - 、 - C H R₅₂₅ - アルキル - 、または - C H R₅₂₅ - アルケニル - であり ;

R₁₂₅ は、

- R₄₂₅ - N R₈₂₅ - C R₃₂₅ - N R₅₂₅ - Z - R₆₂₅ - アルキル ;
- R₄₂₅ - N R₈₂₅ - C R₃₂₅ - N R₅₂₅ - Z - R₆₂₅ - アルケニル ;
- R₄₂₅ - N R₈₂₅ - C R₃₂₅ - N R₅₂₅ - Z - R₆₂₅ - アリール ;
- R₄₂₅ - N R₈₂₅ - C R₃₂₅ - N R₅₂₅ - Z - R₆₂₅ - ヘテロアリール ;
- R₄₂₅ - N R₈₂₅ - C R₃₂₅ - N R₅₂₅ - Z - R₆₂₅ - ヘテロシクリル ;
- R₄₂₅ - N R₈₂₅ - C R₃₂₅ - N R₅₂₅ R₇₂₅ ;
- R₄₂₅ - N R₈₂₅ - C R₃₂₅ - N R₉₂₅ - Z - R₆₂₅ - アルキル ;
- R₄₂₅ - N R₈₂₅ - C R₃₂₅ - N R₉₂₅ - Z - R₆₂₅ - アルケニル ;
- R₄₂₅ - N R₈₂₅ - C R₃₂₅ - N R₉₂₅ - Z - R₆₂₅ - アリール ;

- R_{425} - NR_{825} - CR_{325} - NR_{925} - Z - R_{625} - ヘテロアリアル ; および
 - R_{425} - NR_{825} - CR_{325} - NR_{925} - Z - R_{625} - ヘテロシクリルからなる群から選択され ;

R_{225} は、

- 水素 ;
- アルキル ;
- アルケニル ;
- アリアル ;
- ヘテロアリアル ;
- ヘテロシクリル ;
- アルキル - Y - アルキル ;
- アルキル - Y - アルケニル ;
- アルキル - Y - アリアル ; および
- OH ;
- ハロゲン ;
- $N(R_{525})_2$;
- $CO - N(R_{525})_2$;
- $CO - C_{1-10}$ アルキル ;
- $CO - O - C_{1-10}$ アルキル ;

10

- N_3 ;

20

- アリアル ;
- ヘテロアリアル ;
- ヘテロシクリル ;
- CO - アリアル ; および
- CO - ヘテロアリアルからなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換された
- アルキルまたはアルケニルからなる群から選択され ;

各 R_{325} は、 $=O$ または $=S$ であり ;

各 R_{425} は、独立して 1 個以上の $-O-$ 基によって中断されうるアルキルまたはアルケニルであり ;

各 R_{525} は、独立して H または C_{1-10} アルキルであり ;

30

R_{625} は、1 個以上の $-O-$ 基によって中断されうる結合、アルキル、またはアルケニルであり ;

R_{725} は、 H 、またはヘテロ原子によって中断されうる C_{1-10} アルキルであり、または R_{725} は R_{525} と結合して環を形成することができ ;

R_{825} は、 H 、 C_{1-10} アルキル、またはアリアルアルキルであり ; または R_{425} および R_{825} は結合して環を形成することができ ;

R_{925} は、 R_{825} と結合して環を形成することができる C_{1-10} アルキルであり ;

各 Y は、独立して $-O-$ または $-S(O)_{0-2}-$ であり ;

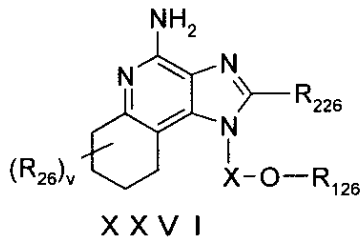
Z は、結合、 $-CO-$ 、または $-SO_2-$ であり ;

v は、 $0 \sim 4$ であり ; および

40

存在する各 R_{25} は、 C_{1-10} アルキル、 C_{1-10} アルコキシ、ヒドロキシ、ハロゲン、およびトリフルオロメチルからなる群から独立して選択され ;

【化 30】



10

[式中、X は - C H R₅₂₆ - 、 - C H R₅₂₆ - アルキル - 、または - C H R₅₂₆ - アルケニル - であり；

R₁₂₆ は、

- R₄₂₆ - N R₈₂₆ - C R₃₂₆ - N R₅₂₆ - Z - R₆₂₆ - アルキル；
- R₄₂₆ - N R₈₂₆ - C R₃₂₆ - N R₅₂₆ - Z - R₆₂₆ - アルケニル；
- R₄₂₆ - N R₈₂₆ - C R₃₂₆ - N R₅₂₆ - Z - R₆₂₆ - アリール；
- R₄₂₆ - N R₈₂₆ - C R₃₂₆ - N R₅₂₆ - Z - R₆₂₆ - ヘテロアリール；
- R₄₂₆ - N R₈₂₆ - C R₃₂₆ - N R₅₂₆ - Z - R₆₂₆ - ヘテロシクリル；
- R₄₂₆ - N R₈₂₆ - C R₃₂₆ - N R₅₂₆ R₇₂₆；
- R₄₂₆ - N R₈₂₆ - C R₃₂₆ - N R₉₂₆ - Z - R₆₂₆ - アルキル；
- R₄₂₆ - N R₈₂₆ - C R₃₂₆ - N R₉₂₆ - Z - R₆₂₆ - アルケニル；
- R₄₂₆ - N R₈₂₆ - C R₃₂₆ - N R₉₂₆ - Z - R₆₂₆ - アリール；
- R₄₂₆ - N R₈₂₆ - C R₃₂₆ - N R₉₂₆ - Z - R₆₂₆ - ヘテロアリール；および
- R₄₂₆ - N R₈₂₆ - C R₃₂₆ - N R₉₂₆ - Z - R₆₂₆ - ヘテロシクリルからなる群から選択され；

20

R₂₂₆ は、

- 水素；
- アルキル；
- アルケニル；
- アリール；
- ヘテロアリール；
- ヘテロシクリル；
- アルキル - Y - アルキル；
- アルキル - Y - アルケニル；
- アルキル - Y - アリール；および
- O H；
- ハロゲン；
- N (R₅₂₆)₂；
- C O - N (R₅₂₆)₂；
- C O - C₁₋₁₀アルキル；
- C O - O - C₁₋₁₀アルキル；
- N₃；
- アリール；
- ヘテロアリール；
- ヘテロシクリル；
- C O - アリール；および
- C O - ヘテロアリールからなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換された
- アルキルまたはアルケニルからなる群から選択され；

30

40

各 R₃₂₆ は、= O または = S であり；

各 R₄₂₆ は、独立して 1 個以上の - O - 基によって中断されうるアルキルまたはアルケニ

50

ルであり；

各 R_{526} は、独立して H または C_{1-10} アルキルであり；

R_{626} は、1 個以上の - O - 基によって中断されうる結合、アルキル、またはアルケニルであり；

R_{726} は、H、またはヘテロ原子によって中断されうる C_{1-10} アルキルであり；または R_{726} は R_{526} と結合して環を形成することができ；

R_{826} は、H、 C_{1-10} アルキルまたはアリールアルキルであり；または R_{426} および R_{826} は結合して環を形成することができ；

R_{926} は、 R_{826} と結合して環を形成することができる C_{1-10} アルキルであり；

各 Y は、独立して - O - または - S (O)₀₋₂ - であり；

10

Z は、結合、- C O -、または - S O₂ - であり；

v は、0 ~ 4 であり；および

存在する各 R_{26} は、 C_{1-10} アルキル、 C_{1-10} アルコキシ、ヒドロキシ、ハロゲン、およびトリフルオロメチルからなる群から独立して選択される]

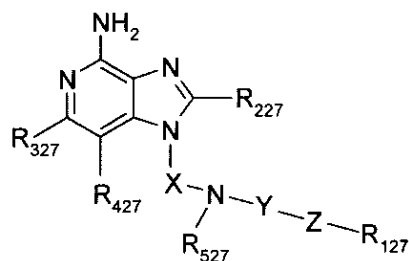
および上記のいずれかの薬学的に許容される塩類が挙げられる。

【 0 0 2 7 】

追加の適切な 1 H - イミダゾ [4 , 5 - c] ピリジン - 4 - アミン類としては、式 X X V I I によって規定される化合物

【 化 3 1 】

20



XXVII

30

[式中、X は、アルキレンまたはアルケニレンであり；

Y は、- C O -、- C S -、または - S O₂ - であり；

Z は、結合、- O -、- S -、または - N R₅₂₇ - であり；

R_{127} は、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、 C_{1-20} アルキル、または C_{2-20} アルケニルであり、そのそれぞれは、

- アルキル；
- アルケニル；
- アリール；
- ヘテロアリール；
- ヘテロシクリル；
- 置換シクロアルキル；
- O - アルキル；
- O - (アルキル)₀₋₁ - アリール；
- O - (アルキル)₀₋₁ - ヘテロアリール；
- O - (アルキル)₀₋₁ - ヘテロシクリル；
- C O O H；
- C O - O - アルキル；
- C O - アルキル；
- S (O)₀₋₂ - アルキル；

40

50

- S (O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - アリール ;
 - S (O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - ヘテロアリール ;
 - S (O)₀₋₂ - (アルキル)₀₋₁ - ヘテロシクリル ;
 - (アルキル)₀₋₁ - N (R₅₂₇)₂ ;
 - (アルキル)₀₋₁ - N R₅₂₇ - C O - O - アルキル ;
 - (アルキル)₀₋₁ - N R₅₂₇ - C O - アルキル ;
 - (アルキル)₀₋₁ - N R₅₂₇ - C O - アリール ;
 - (アルキル)₀₋₁ - N R₅₂₇ - C O - ヘテロアリール ;
 - N₃ ;
 - ハロゲン ;
 - ハロアルキル ;
 - ハロアルコキシ ;
 - C O - ハロアルキル ;
 - C O - ハロアルコキシ ;
 - N O₂ ;
 - C N ;
 - O H ;
 - S H からなる群から独立して選択される 1 つ以上の置換基によって、置換されず、または置換されることができ ; アルキル、アルケニル、およびヘテロシクリル、オキソの場合 ;
- R₂₂₇ は、
- 水素 ;
 - アルキル ;
 - アルケニル ;
 - アルキル - O - アルキル ;
 - アルキル - S - アルキル ;
 - アルキル - O - アリール ;
 - アルキル - S - アリール ;
 - アルキル - O - アルケニル ;
 - アルキル - S - アルケニル ; および
 - O H ;
 - ハロゲン ;
 - N (R₅₂₇)₂ ;
 - C O - N (R₅₂₇)₂ ;
 - C S - N (R₅₂₇)₂ ;
 - S O₂ - N (R₅₂₇)₂ ;
 - N R₅₂₇ - C O - C₁₋₁₀ アルキル ;
 - N R₅₂₇ - C S - C₁₋₁₀ アルキル ;
 - N R₅₂₇ - S O₂ - C₁₋₁₀ アルキル ;
 - C O - C₁₋₁₀ アルキル ;
 - C O - O - C₁₋₁₀ アルキル ;
 - N₃ ;
 - アリール ;
 - ヘテロアリール ;
 - ヘテロシクリル ;
 - C O - アリール ; および
 - C O - ヘテロアリールからなる群から選択される 1 つ以上の置換基によって置換された
 - アルキルまたはアルケニルからなる群から選択され ;
- R₃₂₇ および R₄₂₇ は、水素、アルキル、アルケニル、ハロゲン、アルコキシ、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、およびアルキルチオからなる群から独立して選択され

10

20

30

40

50

；
各 $R_{5,2,7}$ は、独立して H または C_{1-10} アルキルである]
およびそれらの薬学的に許容される塩類が挙げられる。

【 0 0 2 8 】

本願中で用いられる、「アルキル」、「アルケニル」なる用語、および「アルキ (a l k) - 」なる接頭辞は、直鎖基と分岐鎖基の両方、および環式基、すなわち、シクロアルキルとシクロアルケニルを含む。他に特に規定がない限り、これらの基は 1 ~ 2 0 個の炭素原子とともに、2 ~ 2 0 個の炭素原子を含有するアルケニル基を含有する。好ましい基は、合計 1 0 個までの炭素原子を有する。環式基は、単環式または多環式であることができ、3 ~ 1 0 個の環状炭素原子を有することが好ましい。典型的な環式基としては、シクロプロピル、シクロプロピルメチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、およびアダマンチルが挙げられる。

10

【 0 0 2 9 】

「ハロアルキル」なる用語は、フッ素基を含めて、1 個以上のハロゲン原子によって置換された基を含む。これは、「ハロ (h a l o) - 」なる接頭辞を含む基にも当てはまる。適切なハロアルキル基の例は、クロロメチル、トリフルオロメチルなどである。

【 0 0 3 0 】

本願中で用いられる「アリール」なる用語は、炭素環式芳香族環または環系を含む。アリール基の例としては、フェニル、ナフチル、ビフェニル、フルオレニル、およびインデニルが挙げられる。「ヘテロアリール」なる用語は、少なくとも 1 個の環状ヘテロ原子 (例えば、O、S、N) を含有する原子環または環系を含む。適切なヘテロアリール基としては、フリル、チエニル、ピリジル、キノリニル、イソキノリニル、インドリル、イソインドリル、トリアゾルイル、ピルロルイル、テトラゾルイル、イミダゾルイル、ピラゾルイル、オキサゾルイル、チアゾルイル、ベンゾフラニル、ベンゾチオフェニル、カルバゾルイル、ベンゾキサゾルイル、ピリミジニル、ベンズイミダゾルイル、キノキサリニル、ベンゾチアゾリル、ナフチリジニル、イソキサゾリル、イソチアゾリル、プリニル、キナゾリニルなどが挙げられる。

20

【 0 0 3 1 】

「ヘテロシクリル」は、少なくとも 1 個の環ヘテロ原子 (例えば、O、S、N) を含む非芳香族環または環系を含むとともに、上記ヘテロアリール基のうち完全に飽和した誘導体および部分的に飽和した誘導体のすべてを含む。典型的なヘテロ環式基としては、ピロリジニル、テトラヒドロフラニル、モルホリニル、チオモルホリニル、ピペリジニル、ピペラジニル、チアゾリジニル、イミダゾリジニル、イソチアゾリジニルなどが挙げられる。

30

【 0 0 3 2 】

p D C の成熟

上述した I R M 化合物は、エクスピボ (e x v i v o) で形質細胞様樹状細胞の成熟を誘発することがわかっている。一般に、成熟 p D C は、サイトカイン分泌、特定の細胞表面マーカーの発現、および T 細胞を刺激する増強能力などの特性を示す。

【 0 0 3 3 】

本発明の方法を用いて成熟しうる形質細胞様樹状細胞は、適切な任意の源から得ることができる。例えば、未成熟 p D C は、血液またはリンパ様組織などの組織から p D C を分離することによって得ることができる。p D C を得る 1 つの方法としては、血液からの末梢血単核球細胞 (P B M C) の分離、次いで p D C の試料の選択的豊富化が挙げられる。本願で用いられる「豊富化する」、「豊富化」、または「豊富化された」は、天然の試料における同じ細胞型の比率に対する集団における 1 つの細胞型の比率の選択的増大を指す。細胞集団は、細胞集団から他の細胞型を除去することによって豊富化されうる。あるいは、所望の細胞型を細胞集団から選択的に除去し、非所望の細胞を洗い流し、所望の細胞を適切な細胞培地中に再懸濁しうる。「豊富化された」なる用語は、所望の細胞型が関連細胞集団の特定の比率を構成することを示すことはない。

40

【 0 0 3 4 】

50

こうして得られる p D C は未成熟状態下にあり、一般に抗原の捕捉および処理の高い能力を有するが、T 細胞刺激は比較的低い。最適の T 細胞刺激能を得るには、p D C が安定した成熟状態下にある必要がある。成熟 p D C は、C D 4 0、C D 8 0、C D 8 6、および C C R 7 など一部の細胞表面マーカーのその発現を含めて、多くの特性によって同定しうる。成熟 p D C は、混合リンパ球反応時に、樹状細胞サイトカインの産生増大および T 細胞によるサイトカイン産生の誘発を含むがこれに限定されない典型的な反応も示す。

【0035】

本発明の方法は一般に、D C を成熟させるに十分な量および時間の I R M で p D C を刺激することによる分離細胞集団における p D C の成熟を含む。本願中で用いられる「分離」細胞集団は、エキスビボで培養された細胞を指す。p D C は、例えば、血液検体を含めて適切な任意の方法によって対象から得ることができる。血液検体は、分離細胞集団における p D C の比率を濃縮する一部の方法で処理しうるが、このような処理は必須ではない。したがって、「分離」は、対象からの分離を指し、細胞集団に存在しうる他の細胞型に関して p D C の純度の基準を指すことはない。組織培地および条件は、当業者には容易に決定可能である。

10

【0036】

使用される I R M の具体的な量および曝露時間は、成熟される p D C 源、使用される I R M 化合物の潜在力および他の特性などを含めて、当業者には自明であろう多くの因子によって変動する。一部の実施形態では、I R M は約 0.1 μ M ~ 約 100 μ M の濃度で用いることができる。I R M 化合物は、p D C 培地に添加される前に、好ましくは水中または生理緩衝液中で可溶化されうる。しかし、必要に応じて、化合物は少量の D M S O など有機溶媒中で可溶化し、次いで希釈または p D C 培地に直接添加することができる。

20

【0037】

I R M 成熟樹状細胞の使用

一部の I R M への曝露によって成熟されている樹状細胞は、未成熟 p D C と比較して抗原提示能を増強しており、種々の方法で対象の免疫反応の増強において用いることができる。例えば、成熟 p D C は、患者に直接注入することができる。この場合、患者が p D C 源であることが望ましい場合もある。

【0038】

p D C は多くの免疫療法において用いることもできる。かかる療法の例としては、A I D S などの免疫系の疾患を治療するためのエキスビボ細胞移植療法；T 細胞、特に免疫系の変質によって特徴づけられる疾患を治療するために用いることができる抗原特異的 T 細胞のエキスビボ増幅 (*ex vivo expansion*) ；p D C 特異的マーカー類を認識するモノクローナル抗体の生成；当業界で周知の方法による抗原活性化 p D C の調製；およびワクチンやワクチン補助剤の開発が挙げられる。

30

【0039】

1 つ以上の I R M への曝露によって成熟されている p D C の好ましい使用としては、抗原活性化 p D C および / または p D C 変性抗原の利用が挙げられる。本発明の抗原活性化 p D C、または細胞補助剤は一般に I R M で処理した p D C を抗原に曝露することによって調製される。抗原は、自然状態のタンパク質、糖質、または核酸でありうるとともに、新生細胞 (例えば、腫瘍細胞) 類、プリオン類、および感染性因子類 (例えば、細菌類、ウイルス類、酵母菌、寄生体) を含むがこれらに限定されない適切な任意の源由来でありうる。あるいは、抗原は組換え手段によって誘導しうる。

40

【0040】

本発明の細胞補助剤は、疾患の治療において用いることができる。例えば、p D C を腫瘍由来抗原に曝露することによって調製される細胞補助剤を患者に投与し、それによって患者における抗原腫瘍免疫反応を誘発することができる。同様に、感染性因子由来の抗原に p D C を曝露することによって調製される細胞補助剤を患者に投与することによって感染症を治療することができる。細胞補助剤は、アルツハイマー病および一部の心疾患形態を含むがこれらに限定されない非感染性タンパク質関連疾患の治療に用いることもできる。

50

【0041】

本発明の方法によって処理されている形質細胞様樹状細胞は、Th1免疫反応の生成に有利であるIFN- γ などのサイトカイン類を産生する。Th2免疫性とは対照的に、Th1免疫性に対する免疫反応にバイアスをつける能力は、Th2媒介性疾患の治療用手段を提供しうる。かかる疾患の例として挙げられるのは、喘息；アレルギー性鼻炎；全身性紅斑性狼瘡；湿疹；アトピー性皮膚炎オーメン症候群（好酸球過剰増多（hyper eosinophilia）症候群）；皮膚および全身性リウマチ症、トキソプラズマ感染症、およびトリパノソーマ感染症など一部の寄生虫感染症；および一部の真菌感染症、例えば、カンジダ症およびヒストプラズマ症；およびらい病や結核症など一部の細胞内細菌感染症である。

10

【0042】

また、T細胞からIL-10を誘導する能力は、Th3-様反応に対する免疫反応にバイアスをつけることができる。Th3-様免疫性は、免疫反応をダウンレギュレートするIL-10産生細胞の生成の結果として生じる。これらのT細胞は、制御性T細胞とも呼ばれている。一部の環境下でのpDCの活性化の結果として、効果器T細胞機能をダウンレギュレートする制御性T細胞が生成された。かかる細胞の生成は、もっぱら、または少なくとも部分的にT細胞によって媒介される疾患の治療に有用でありうる。これらの疾患としては、乾癬、炎症性腸疾患、関節リウマチ、糖尿病、多発性硬化症、および慢性T細胞活性化と関連した他の疾患が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0043】

一般に、本発明は、TLR-6、TLR-7、またはTLR-8の作動薬である、免疫反応調整剤分子で分離形質細胞様樹状細胞の細胞集団を処理するステップを含む。一部の実施形態では、TLR-7の作動薬である免疫反応調整剤分子が利用される。こうした分離pDCの処理は、広域スペクトルの生物活性を誘発する。本発明は、pDCを処理して所望の活性を示す方法、所望の生物活性を検出する方法、所望の生物活性を有する細胞を検査する方法、所望の生物活性を有する細胞で豊富化される細胞集団、および治療または予防目的で豊富化された細胞集団を用いる方法を含む。

【0044】

1つの実施形態では、本発明は、形質細胞様樹状細胞による特定抗原の抗原提示をエクスピボで誘発する方法を含む。この方法は、分離細胞集団を抗原に曝露し、分離細胞集団をIRMで処理するステップを含む。IRM処理により、pDCのT細胞刺激能が増強される。pDCによる抗原提示に対する1つのターゲットは、ナイーブT細胞である。したがって、抗原を提示しているpDCとの接触から生じるT細胞の1つ以上の生物活性を検出することによってIRMによるpDCにおける抗原提示の誘発を検出しうる。適切なT細胞の生物活性としては、IFN- γ およびIL-10の産生が挙げられるが、これに限定されない。

30

【0045】

したがって、pDCによる抗原提示の誘導を検出する1つの方法は、IFN- γ 、IL-10、または特定抗原に曝露され、IRMで処理されたpDCと接触されたT細胞による産生を検出するステップを含む。IFN- γ のT細胞産生は、Th1、または細胞媒介性免疫反応に関与しうる。IL-10は、Th2、または体液性、免疫反応に関連してT細胞によって産生されるサイトカインの一例である。IL-10のT細胞産生は、Tr3、または制御性、T細胞反応にも関与する。図1は、IRMで処理したpDCとの接触の結果として4対象におけるT細胞によるIFN- γ 産生のELISA検出の結果を示す。図2は、IRMで処理したpDCとの接触の結果として4対象におけるT細胞によるIL-10産生のELISA検出の結果を示す。

40

【0046】

分離pDCは、上述したIRMのいずれかで処理しうる。さらに、pDCが曝露される抗原は、それに対してTh1またはTh2免疫反応が望ましい抗原でありうる。適切な抗原の例としては、病原体由来の抗原、新生細胞由来の抗原、および組換え抗原のほか、他の

50

疾患関連性抗原が挙げられる。したがって、病原体抗原の p D C 提示は、医原病に対する治療または予防を提供しうる。同様に、新生細胞由来抗原の p D C 提示は、腫瘍関連性疾患に対する治療および予防を提供しうる。

【 0 0 4 7 】

対象の治療は、成熟 p D C によるナイーブ T 細胞へのエクスピボ抗原提示の後、活性化 T 細胞、抗原提示 p D C、またはその両方の対象への投与を含みうる。

【 0 0 4 8 】

別の実施形態では、本発明は、I R M によるインピボ処理の後、対象からの成熟 p D C の分離による成熟形質細胞様樹状細胞集団を得る方法を提供する。一部の実施形態では、成熟 p D C は、対象から採取した血液検体から分離される。こうして得られた成熟 p D C は、p D C がインピボで曝露された 1 つ以上の抗原に対するエクスピボで T 細胞を刺激し、それによって対象特異的、抗原特異的療法の可能性を提供するために有用でありうる。

10

【 0 0 4 9 】

別の実施形態では、本発明は、I R M による処理に応じて分離形質細胞様樹状細胞によるサイトカイン産生を検出する方法を提供する。この方法は、I R M で p D C の分離集団を処理し、1 つ以上のサイトカインの産生を検出するステップを含む。I R M による処理に応じて p D C により産生されるサイトカインとしては、I L - 8、I P - 1 0、I L - 6、M I P - 1、および I F N - が挙げられるが、これらに限定されない。サイトカイン産生は、フローサイトメトリー、E L I S A、ウェスタンブロット分析、および特定のサイトカインをコードする細胞内 m R N A の検出を含む一部の標準方法のいずれか 1 つによって検出しうる。

20

【 0 0 5 0 】

別の実施形態では、本発明は、I R M での処理に応じた p D C による共刺激マーカーの発現を検出するための方法を提供する。この方法は、p D C の分離集団を I R M で処理し、1 つ以上の共刺激マーカーの発現を検出するステップを含む。I R M での p D C 処理後に検出しうる共刺激マーカーの例としては、C D 8 0、C D 8 6、および C D 4 0 が挙げられるが、これらに限定されない。共刺激マーカーの発現は、例えば、フローサイトメトリー、免疫組織化学、または特定の共刺激マーカーをコードする細胞内 m R N A を検出することによって検出しうる。

【 0 0 5 1 】

図 3 は、それぞれが p D C の生存を誘発する、サイトカイン I L - 3 および I F N - で処理した場合の共刺激マーカーの p D C 発現と比較した I R M で処理した p D C の共刺激マーカーの発現のフローサイトメトリー分析を示す。

30

【 0 0 5 2 】

共刺激マーカーは、p D C を含む抗原提示細胞上に発現し、ナイーブ T 細胞ならびに活性化およびメモリー T 細胞への抗原提示を補助する。したがって、共刺激マーカーの発現の検出は、抗原提示が可能な p D C を検出するために望ましい場合がある。また、C C R 7 の発現は、I 型インターフェロンの p D C 産生および p D C 成熟と相関する。さらに別の実施形態では、本発明は、インピトロで p D C の生存を増強する方法を提供する。この方法は、分離 p D C の集団を I R M で処理し、p D C の生存を促進する条件下に細胞をインキュベートするステップを含む。

40

【 0 0 5 3 】

図 4 は、I R M の有無による処理後 2 4 時間と 4 8 時間での p D C の生存の比較である。4 8 時間では、I R M で処理した p D C は、統計上有意に高い生存率を示した。一部の実施形態では、I R M で処理した 4 8 時間後の p D C の生存は、約 7 5 % を超え；他の実施形態では、4 8 時間生存は約 7 0 % を超え；他の実施形態では、I R M 処理後 4 8 時間の生存は約 5 0 % を超え；他の実施形態では、4 8 時間生存は約 3 0 % を超える。

【 0 0 5 4 】

インピトロでの p D C の生存の増強は、治療または予防使用の p D C 細胞集団の生成に際して望ましい場合がある。かかる細胞集団における p D C のインピトロ生存の増強は、有

50

効な治療または予防を提供し、失効細胞集団と関連した消耗を削減しうる。

【0055】

さらに別の実施形態では、本発明は、IRMでの処理に応じてpDCによるケモカイン受容体の発現を検出する方法を提供する。この方法は、分離pDCの集団をIRMで処理し、次いで少なくとも1つのケモカイン受容体の発現を検出するステップを含む。ケモカインの発現を検出する方法としては、共刺激マーカーおよびサイトカインの発現を検出するために有用な上述した方法が挙げられる。IRMでのpDCの処理に応じて発現されるケモカイン受容体の一例はCCR7であり、これは成熟pDCのリンパ節への誘導と関係がある。図5は、IRMで処理した場合のケモカイン受容体CCR7対pDC生存因子IL-3およびIFN- γ の組換え異形のpDC発現のフローサイトメトリー分析を示す。

10

【0056】

本発明は、比較的高いレベルのケモカイン受容体を発現するpDCの集団を調製する方法も提供する。この方法は、分離pDCの集団をIRMで処理することによってケモカイン受容体の発現を誘導するステップを含む。この方法は、細胞集団をケモカイン受容体を発現する細胞で豊富化するステップも含む。

【0057】

ケモカイン受容体を発現する細胞は、インビボで、二次リンパ組織に移動し、ここでT細胞への抗原提示が生じ、それによってTh1およびTh2を刺激しうる。ケモカイン受容体を発現する抗原特異的pDCは、例えば、単独、またはワクチン中の補助剤として、特に有用な治療薬または予防薬を提供しうる。したがって、本発明は、分離pDCの集団を抗原に曝露し、pDCをIRMで処理し、ケモカイン受容体を発現する細胞で処理細胞を豊富化し、豊富化された細胞集団を患者に投与すステップを含む、疾患を治療する方法を提供する。

20

【実施例】

【0058】

以下の実施例は、ただ単に、本発明の特徴、利点、および他の詳細をさらに示すために選択された。しかし、これらの実施例はこの目的に役立つが、使用される具体的な材料や量、および他の条件や詳細は、本発明の範囲を過度に限定するように解釈すべきではないことを明確に理解すべきである。

【0059】

IRM、4-アミノ-2-エトキシメチル-、-ジメチル-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-1-エタノール、M.W.=314.4を、ジメチルスルホキシド(DMSO、滅菌細胞培養等級、シグマ・ケミカル・カンパニー(Sigma Chemical Company)(ミズーリ州、セントルイス))中に溶解し、そのIRMの12mM溶液を形成した。IRM溶液を-20℃下、分割量で保存した。他に特に規定がない限り、IRMを細胞培養に添加し、最終濃度を3 μ Mとした。

30

【0060】

他に特に規定がない限り、すべてのpDC細胞培養をX-Vivo20倍地(バイオウイタッカー(BioWhittaker)社(Inc.)(メリーランド州、ウォルカーズビル))中に37℃下、5%CO₂で維持した。

40

【0061】

正の選択およびpDCの減少用に用いた抗体は、BDCA-2およびBDCA-4マイクロビーズ(ミルテニー・バイオテック(Miltenyi Biotec)社(Inc.)(カリフォルニア州、オーバーン))を含む。ビオチン標識モノクローナル抗体を用いて負の選択によってpDCを得た；これらにはCD3、CD11b、CD11c、CD14、CD19、CD56(アンセル(Ancell)社(Corp.)(ミネソタ州、ベイポート))が含まれる。フローサイトメトリー用の抗体および蛍光色素標識試薬は、HLA-DR-PerCP、CD123(IL-3-R)-PE、CD80-PE、CD86-PE、CD40-PE、ビオチン標識CCR7、ストレプトアビジン-PE、TNF- α -FITC、TNF- β -PE、IL-12p40/70-FITC、IL-12p

50

40 / 70 - P E (B D フアルミンゲン (P h a r m i n g e n) (カリフォルニア州、サンディエゴ))、I F N - 2 - F I T C、および I F N - 2 - P E (クロマプローブ (C h r o m a p r o b e) 社 (I n c .) (カリフォルニア州、アプトス) を含む。F c 受容体への非特異的結合は、I g G (全分子、ピアス・ケミカル (P i e r c e C h e m i c a l) 社 (C o m p a n y) (イリノイ州、ロックフォード) または F c R 遮断試薬 (ミルテニー・バイオテック社) を用いて行われた。

【 0 0 6 2 】

細胞内フローサイトメトリーは、ゴルジプラグ (G o l g i P l u g) を含有するサイトステインキット (C y t o S t a i n K i t) (B D フアルミンゲン) を用いて行われた。

10

【 0 0 6 3 】

H S V - 1 (マッキンタイア (M a c I n t y r e)) は、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション (A T C C) (バージニア州、マナッサス) から得た。L P S は、シグマ・ケミカル・カンパニー (ミズーリ州、セントルイス) から得た。組換えヒトサイトカイン I L - 3 および r G M - C S F は、R & D システムズ (S y s t e m s) 社 (I n c .) (ミネソタ州、ミネアポリス) から得るとともに、r I F N - F は、P B L バイオメディカル・ラボラトリーズ (B i o m e d i c a l L a b o r a t o r i e s) (ニュージャージー州、ニューブランズウィック) から得た。

【 0 0 6 4 】

実施例 1 - P B M C 分離

ヒストパケ (H i s t o p a q u e) 1 0 7 7 (シグマ・ケミカル・カンパニー (ミズーリ州、セントルイス) をメーカーによる推奨どおり用いた密度勾配遠心法によって E D T A で抗凝固処理した全血から P M B C を分離した。ハンクスの平衡塩溶液 (セロックス・ラボラトリーズ (C e l o x L a b o r a t o r i e s) 社 (I n c .) (ミネソタ州、セントポール) で分離単核球を 2 回洗浄し、完全 R P M I (c R P M I ; R P M I 1 6 4 0、2 5 m M H E P E S、1 m M ピルビン酸ナトリウム、0 . 1 m M 非必須アミノ酸、1 m M L - グルタミン、1 % ペニシリン / ストレプトマイシン、 5×10^{-5} M 2 - メルカプトエタノール、および 1 0 % 加熱不活性化ウシ胎児血清 (F C S、セロックス・ラボラトリーズ社、またはハイクロン・ラボラトリーズ (H y c l o n e L a b o r a t o r i e s) 社 (I n c .) (ユタ州、ローガン)) または X - V i v o 2 0 培地 (バ

20

30

【 0 0 6 5 】

実施例 2 - 形質細胞様 D C の分離

メーカー (ミルテニー・バイオテック社 (カリフォルニア州、オーバーン)) の指示に従い免疫磁気ビーズの正の選択によって P B M C からヒト p D C を分離した。簡単に言えば、p D C 特異的抗体、B D C A - 2、または B D C A - 4 で P B M C をインキュベートし、ミルテニー L C カラムで標識細胞を収集した。正の選択細胞を X - V i v o 2 0 培地中に再懸濁した。

【 0 0 6 6 】

L i n ⁺ 細胞を消耗させることで P B M C から負の選択によってヒト p D C も濃縮した。簡単に言えば、1 2 0 m L 全血から分離された P B M C を 1 m L P B S、1 % B S A、1 m M E D T A 中に再懸濁し、C D 3、C D 1 4、C D 1 9、C D 5 6、および一部の場合に C D 1 1 b および C D 1 1 c に対して特異的なビオチン標識抗体で、各抗体について最終濃度 1 0 0 μ g / m L でインキュベートした。6 ~ 1 2 下、1 5 分のインキュベーション後、細胞を洗浄し、さらに 1 5 分間、6 ~ 1 2 下にストレプトアビジンマイクロビーズまたは抗ビオチンマイクロビーズのいずれかでインキュベートした。洗浄後、ミルテニー C S カラムまたは L S カラム上に非標識画分を収集し、細胞を X - V i v o 2 0 中に再懸濁した。p D E 集団、H L A - D R ⁺ / C D 1 2 3 ^{H I} を、0 . 1 ~ 0 . 5 % の開始 P B M C と比較して定期的に 5 ~ 1 0 % の最終調製物とした。

40

【 0 0 6 7 】

50

実施例 3 - フローサイトメトリーによって測定される細胞内サイトカインの検出

X - V i v o 2 0 培地 (バイオウイタッカー社) 中の $1 \times 10^6 / \text{mL}$ で細胞をインキュベートし、IRMで1時間刺激した。刺激後、細胞培地 1 mL に対して、ブレフェルジン (B r e f e l d i n) - A (ゴルジプラグ、BDファルミゲン (カリフォルニア州、サンディエゴ)) $1 \mu\text{L}$ を添加した。次いで、12時間以下、 37°C 下に $5\% \text{CO}_2$ で一夜インキュベートした。細胞を洗浄し、ファルミゲンステインバッファー - BSA (BDファルミゲン) 中に2回再懸濁した。ImmunopureマウスIgG (全分子、ピアス・ケミカル・カンパニー) でFc受容体を遮断した (4°C 下、15分間、染色緩衝液 $100 \mu\text{L}$ 中 $100 \text{mL} / 10^6$ 細胞) 。次いで、細胞を染色緩衝液で洗浄し、次いで表面抗原に対して染色した (4°C 下、30分間、染色緩衝液 $50 \mu\text{L}$ 中の抗体 $10 \mu\text{L}$) 。次いで、細胞を洗浄し、サイトフィックス (C y t o f i x) / サイトパーマ (C y t o p e r m) (BDファルミゲン) 中に再懸濁し、細胞を固定し、浸透化した。パーマ/ウォッシュ溶液 (BDファルミゲン) での洗浄後、 4°C 下、30 ~ 45分間、抗 - TNF - 、または抗 - IFN - 蛍光色素標識抗体で細胞内サイトカインに対して細胞を染色した。最後に、細胞を洗浄し、染色緩衝液中に再懸濁し、FACSscanフロー (F L O W) サイトメーターおよびCellQuestソフトウェア (BDバイオサイエンシズ (B i o s c i e n c e s)) (カリフォルニア州、サンノゼ) を用いて分析した。

【0068】

実施例 4 - フローサイトメトリーにより測定される共刺激マーカーの発現

BDC A - 2 または BDC A - 4 精製細胞を、X - V i v o 2 0 培地中で24時間または48時間、 $1000 \text{U} / \text{mL}$ rIL - 3、 $1000 \text{U} / \text{mL}$ rIFN - 、またはIRMで処理した。

【0069】

染色前に、ファルミゲンステインバッファー - BSA 中で細胞を洗浄した。次いで、細胞をファルミゲンステインバッファー - BSA 中に再懸濁し、CD80、CD86、またはCD40に対して特異的な蛍光染色標識抗体を添加した。 4°C 下、30分後、細胞を洗浄し、フローサイトメトリーによって分析した。

【0070】

実施例 5 - フローサイトメトリーによって測定されるケモカイン受容体の発現

蛍光染色標識抗体がCCR7に対して特異的であったことを除き、実施例4に記載されたように、BDC A - 2 細胞またはBDC A - 4 細胞を精製し、処理した。

【0071】

実施例 6 - リアルタイム (RT) PCR および ELISA によるサイトカインおよびケモカインの分析

サイトカインおよびケモカインの発現をRT PCRによって評価した。PBMCおよびBDC A - 2 精製pDCを24穴プレート中で $3 \mu\text{M}$ IRMで刺激した。ビヒクル対照細胞をDMSOで処理した。 37°C 下、1時間または2時間のいずれかで細胞をインキュベートした。指示時間で、細胞を1.5 mLのエッペンドルフチューブに静かにピペットで取ることによって細胞を収穫し、 4°C 下、10分間、 $400 \times g$ で遠心分離した。チューブから上清を除去し、1 mLのTRIzol (インビトロゲン (I n v i t r o g e n) 社 (C o r p .) (カリフォルニア州、カールスバッド) で細胞を溶解した。RNAを試料から精製し、DNase I (インビトロゲン社) で処理し、汚染ゲノムDNAを除去し、その後試料をTRIzolで再抽出した。最終ペレットを $10 \mu\text{L}$ の水中に懸濁した。 $1 \mu\text{L}$ を1 : 100に希釈し、RNAを吸光度 ($A b s_{260}$) によって定量化した。

【0072】

RT - PCR用のスーパークリプト・ファーストストランド合成システム (S u p e r S c r i p t F i r s t S t r a n d S y n t h e s i s S y s t e m) (インビトロゲン社) を用いてRNAを逆転写した。プライマー・エクスプレス (アプライド・バイオシステムズ・グループ (A p p l i e d B i o s y s t e m s G r o u p) (カリフォルニア州、フォスターシティー) を用いて定量PCR用のプライマーを生成し

た。各プライマーセットをゲノムDNAを増幅させるように設計し、ヒトゲノムDNAの試料に対して試験し、アンプリコンサイズを検証した。プライマーセットは表Iに示されている。ABI PRISM (商標) 7700シーケンスデテクター(アプライド・バイオシステムズ・グループ)上で定量PCRを行った。SYBR (登録商標) グリーンPCRマスターミックス(アプライド・バイオシステムズ・グループ)を用いて増幅産物を検出した。各プライマーセットを各試料につき3回試験した。95 °C下に15秒間と60 °C下に1分間の35サイクルでPCRを行う前に、50 °C下に2分間と95 °C下に10分間、インキュベートした。

【0073】

計測器ソフトウェアにより、ベースラインより少なくとも10以上の標準偏差の指定閾値に達する累積シグナルに必要とされる、 C_t で指定されたサイクル数を計算した。その結果、 C_t 値はターゲットシーケンスの開始コピー数に比例する。 C_t 法(ユーザー広報#2、アプライド・バイオシステムズ・グループ)を用いて遺伝子発現の相対定量を行った。簡単に言えば、以下の式を用いてGAPDHの発現に対して発現のフォールド変化を計算した

$$\text{フォールド変化} = 2^{-\Delta C_t}$$

[式中、 $C_t = [\text{当該 } C_t \text{ 遺伝子 (刺激試料) } - C_t \text{ GAPDH (刺激試料) }] - [\text{当該 } C_t \text{ 遺伝子 (ビヒクル対照) } - C_t \text{ GAPDH (ビヒクル対照) }]$]

【0074】

サイトカインおよびケモカインのタンパク質レベルを、ELISAによって組織培養上清または細胞抽出物から測定した。ヒトTNF、IL-12、IL-10(標準IL-10アッセイおよびIL-10超高感度)、IL-6、IL-1RA、MCP-1、およびMip-1 ELISAキットをバイオ・ソース・インターナショナル(BioSource International)社(Inc.) (カリフォルニア州、カマリロ)から入手した。ヒトMip-3 ELISAキットおよび多種IFN-ELISAキットをそれぞれ、R&Dシステムズ(ミネソタ州、ミネアポリス)およびPBLバイオメディカル・ラボラトリーズ(Biomedical Laboratories) (ニュージャージー州、ニューブランズウィック)から入手した。ヒトIP-10 ELISAキットをセル・サイエンス(Cell Sciences)社(Inc.) (マサチューセッツ州、ノーウッド)から入手した。すべてのELISA結果はpg/mLで示されている。ELISAアッセイに対する確実な検出の限界は、1pg/mLであるIL-10超高感度アッセイを除き、40pg/mL以下である。多種IFN-ELISAアッセイは、IFN- γ (IFN-21)を除き、ヒトIFN-サブタイプのすべてを特異的に検出する。

【0075】

実施例8 - T細胞活性化アッセイ

凍結ナイブ臍帯血CD4⁺/CD45RA⁺/CD45RO⁻T細胞をオールセルズ(All Cells) LLC (カリフォルニア州、パークリー)から入手し、メーカーの推奨に従い解凍した。簡単に言えば、凍結細胞を37 °C水浴中で解凍し、DNase I (ステムセル・テクノロジーズ(Stemcell Technologies)社(Inc.) (ブリティッシュコロンビア州、バンクーバー) 300 μ gを含有する15 mLの円錐管に移した。X-Vivo 20培地(バイオウイタッカー社(メリーランド州、ウォルカーズビル))を細胞にゆっくり添加し、量を15 mLまでにした。X-Vivo 20培地中で15分間、200 \times gで遠心分離することによって、細胞を2回洗浄した。細胞を最後に2 \times 10⁶細胞/mLでX-Vivo 20培地中に再懸濁した。

【0076】

BDC4-4マイクロピース(ミルテニー・バイオテック社(カリフォルニア州、オーバーン))で正の選択によって形質細胞様樹状細胞を調製した。X-Vivo 20培地中で濃縮-pDCとT細胞の比1:10(ウェル当り1 \times 10⁵ pDC/mL: 1 \times 10⁶ T細胞/mL)でナイブ臍帯血T細胞とpDCを共培養した。培養の開始時、IL-3 [100

10

20

30

40

50

0 U / m L]、I F N - [1 0 0 0 U / m L]、I R M、またはビヒクル (D M S O) で細胞を処理した。7 2 時間後、細胞を含まない上清を収集し、E L I S A によって I F N - 、I L - 1 3、および I L - 1 0 について分析した。

【 0 0 7 7 】

実施例 9 - 生存の増強

実施例 2 に記載されているように分離 p D C を得た。分離 p D C を I R M の有無によってインキュベートした。2 4 時間後とさらに 4 8 時間後にフローサイトメトリーによって両方の培養における細胞の生存を測定した。

【 0 0 7 8 】

実施例 1 0 - ケモカイン受容体の発現検査

実施例 2 に記載されているように p D C の集団を得ることができる。p D C 含有細胞集団を X - V i v o 2 0 培地 (バイオウイタッカー社) 中、 $1 \times 10^6 / m L$ でインキュベートし、1 時間、I R M ($1 \mu M \sim 10 \mu M$) で刺激することができる。ケモカインの発現は、実施例 5 または実施例 6 のいずれかの方法に従い測定することができる。

【 0 0 7 9 】

実施例 1 1 - ケモカイン受容体を発現する細胞で豊富化された p D C 集団を用いた処理
実施例 2 に記載されているように患者から形質細胞様樹状細胞を得ることができる。分離 p D C を抗原 (例えば、破傷風トキソイド) および I R M ($1 \mu M \sim 10 \mu M$) と約 1 時間 ~ 約 2 4 時間、共刺激することができる。

【 0 0 8 0 】

高レベルのケモカイン受容体を発現する刺激 p D C を実施例 1 0 に記載されているように検査することができる。高レベルのケモカイン受容体を発現する形質細胞様樹状細胞は、フローサイトメトリーによって分類することができる。ケモカイン受容体を発現する p D C は、X - V i v o 2 0 培地中に再懸濁することができる。

【 0 0 8 1 】

抗原を発現し、高レベルのケモカイン受容体を発現する形質細胞様樹状細胞は、静脈内に、または皮下免疫によって患者に再導入することができる。

【 0 0 8 2 】

統計的方法

図 3 は、各共刺激マーカーおよび時点で別々に検査されたデータを示す。

【 0 0 8 3 】

図 4 は、2 4 時間と 4 8 時間の時点の変換されていないデータおよび逆正弦変換されたデータで別々に行われた、ドナーおよび治療に対する反応変数および説明変数としての % 変数とともに分散分析 (A N O V A) を示す。ダンネットの調整を用いて、対照群と I R M 処理細胞の二つ一組の比較を行い、0 . 0 5 の有意水準を維持した。2 つの方法間に不一致点があった場合は、逆正弦変換データからの結果を報告した。

【 0 0 8 4 】

本願中に引用された特許、特許文献、および刊行物の完全な開示は、それぞれが個別に援用されるようにその全体が参考によって援用される。不一致が生じた場合は、本明細書は、定義を含めて、調整しなければならない。

【 0 0 8 5 】

本発明に対する種々の変形および変更は、本発明の範囲および精神から逸脱することなく当業者には明らかであろう。説明するための実施形態および実施例は、諸例としてのみ示されており、本発明の範囲を限定することは意図されていない。発明の範囲は、次に記載される特許請求の範囲によってのみ限定される。

【 0 0 8 6 】

【 表 1 】

10

20

30

40

表 1. リアルタイム RT-PCR プライマーセット

<u>遺伝子</u>	<u>受入番号</u>	<u>順方向プライマー</u>	<u>逆方向プライマー</u>
IL-6	M14584	AAGCAGCAAAGAGGCACTGG	GCATCCATCTTTTTTCAGCCATC
IL-10	M57627	TGAGAACAGCTGCACCCACTT	GCTGAAGGCATCTCGGAGATC
IL-12p40	NM_002187	ACAACCTTGCACTGAAGCCA	AGGGTACTCCCAGCTGACCTC
IL-1RA	NM_000577	GGTTGGTTCCTCTGCACAGC	GCCTTCGTCAGGCATATTGGT
TNF- α	M10988	ATCAATCGGCCGACTATCTC	CACAGGGCAATGATCCCAA
IP-10	NM_001565	TACGCTGTACCTGCATCAGCA	GACAAAATTGGCTTGCAGGAAT
MCP-1	NM_002982	AGCAAGTGTCCCAAAGAAGCTG	CAGATCTCCTTGGCCACAATG
MIP-1 α	NM_002983	AGCTACACCTCCCGGCAGAT	GGCTGCTCGTCTCAAAGTAGTCA
MIP-3 α	NM_004591	GCTGTCTTGGATACACAGACCGT	CACAGCCTTCATTGGCCAG
GAPDH		ACCCACTCCTCCACCTTTGA	TGACAAAGTGGTCGTTGAGGG

10

20

【図面の簡単な説明】

【0087】

【図1】pDCによる抗原提示の結果としてT細胞によって産生されるIFN- γ のELISA検出を示す図である。

【図2】pDCによる抗原提示の結果としてT細胞によって産生されるIL-10のELISA検出を示す図である。

【図3】IL-3、IFN- γ 、およびIRMで処理したpDCによって共刺激マーカー発現を比較するフローサイトメトリーデータを示す図である。 30

【図4】IRMの有無でインキュベートした場合のpDCの生存を比較するフローサイトメトリーデータを示す図である。

【図5】IL-3、IFN- γ 、およびIRMで処理したpDCによるケモカイン受容体CCR7を比較するフローサイトメトリーデータを示す図である。

【 図 1 】

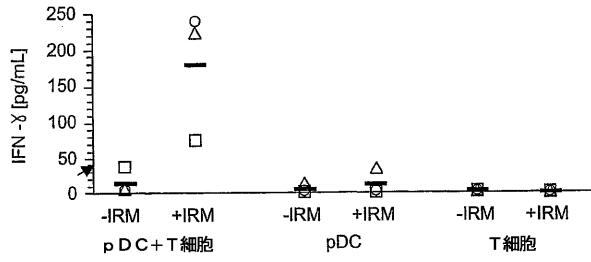


FIG. 1

【 図 2 】

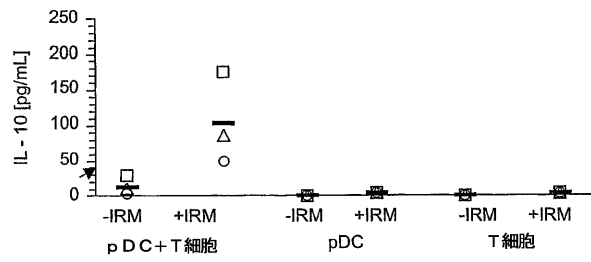


FIG. 2

【 図 4 】

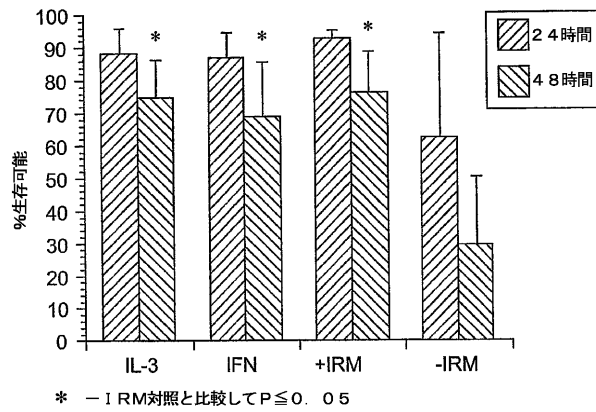
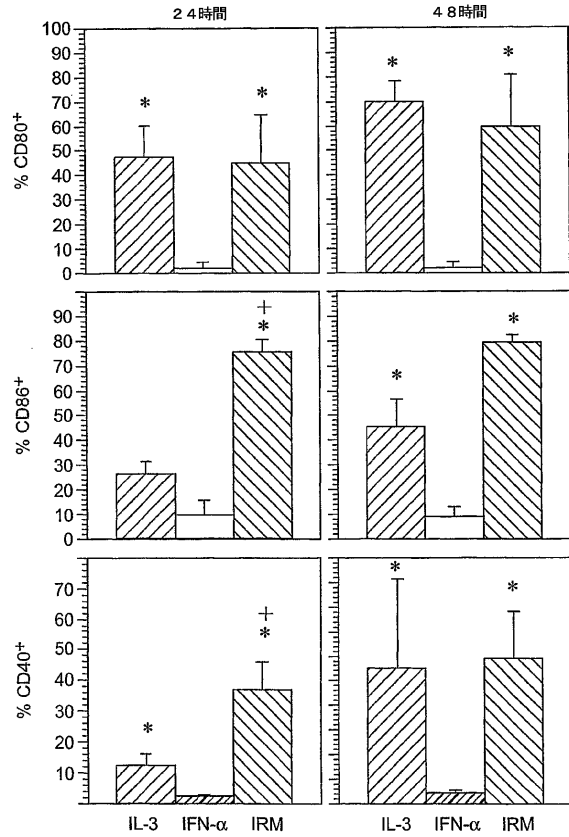


FIG. 4

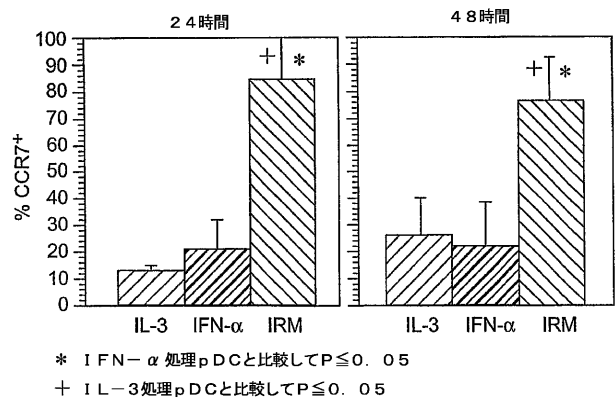
【 図 3 】



* IFN- α 処理 pDC と比較して $P \leq 0.05$
 + IL-3 処理 pDC と比較して $P \leq 0.05$

FIG. 3

【 図 5 】



* IFN- α 処理 pDC と比較して $P \leq 0.05$
 + IL-3 処理 pDC と比較して $P \leq 0.05$

FIG. 5

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
13 March 2003 (13.03.2003)

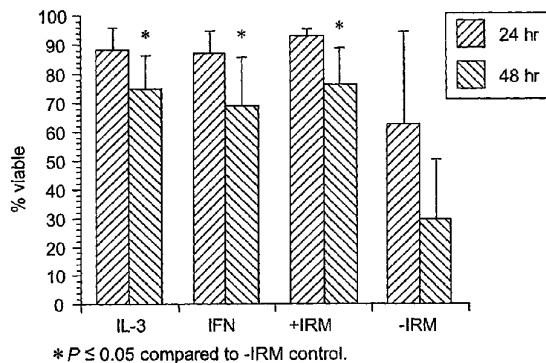
PCT

(10) International Publication Number
WO 03/020889 A2

- (51) International Patent Classification: C12N
- (21) International Application Number: PCT/US02/27393
- (22) International Filing Date: 28 August 2002 (28.08.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
 - 60/316,144 30 August 2001 (30.08.2001) US
 - 60/370,177 5 April 2002 (05.04.2002) US
- (71) Applicant: 3M INNOVATIVE PROPERTIES COMPANY [US/US]; 3M Center, Post Office Box 33427, Saint Paul, MN 55133-3427 (US).
- (72) Inventors: TOMAI, Mark, A.; Post Office Box 33427, Saint Paul, MN 55133-3427 (US); VASILAKOS, John, P.; Post Office Box 33427, Saint Paul, MN 55133-3427 (US); STOLPA, John, C.; Post Office Box 33427, Saint Paul, MN 55133-3427 (US).
- (74) Agents: GRAM, Christopher, D. et al.; Office of Intellectual Property Counsel, Post Office Box 33427, Saint Paul, MN 55133-3427 (US).
- (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT (utility model), AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ (utility model), DE (utility model), DK, DM, DZ, EC, EE (utility model), FI, ES, FR (utility model), GB, GD, GI, GM, GR, HT, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK (utility model), SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GI, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Continued on next page]

(54) Title: METHODS OF MATURING PLASMACYTOID DENDRITIC CELLS USING IMMUNE RESPONSE MODIFIER MOLECULES



(57) Abstract: The present invention relates to methods of maturing plasmacytoid dendritic cells using immune response modifier molecules. The present invention also relates to methods of detecting biological activities of matured plasmacytoid dendritic cells and methods of using mature plasmacytoid dendritic cells for therapeutic or prophylactic purposes.

WO 03/020889 A2

WO 03/020889 A2



Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(i)) for the following designations AF, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)
- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii)) for the following designations AF, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LU, LV, MA, MD, MG, MK,

- AM, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii)) for all designations
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii)) for all designations

Published: without international search report and to be republished upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

**METHODS OF MATURING PLASMACYTOID DENDRITIC CELLS USING
IMMUNE RESPONSE MODIFIER MOLECULES**

This application claims the benefit of U.S. Provisional Patent Application Ser. Nos. 5 60/316144, filed August 30, 2001 and 60/370177, filed April 5, 2002.

Background of the Invention

Dendritic cells are antigen-presenting cells of the immune system that provide a functional bridge between the innate and the acquired immune systems. Immature dendritic cells can reside in various tissues of the body, where they may encounter 10 pathogens or other foreign antigens. These encounters induce the secretion of certain cytokines including, for example, interferons such as IFN- α . The immature dendritic cells may capture an antigen and then migrate to lymphoid tissue where, after the dendritic cells mature, they present the antigen (or a portion of the antigen) to lymphocytes. Antigen presentation triggers parallel immunological cascades resulting in an antigen-specific cell- 15 mediated immune response and an antigen-specific humoral immune response.

Plasmacytoid dendritic cells (pDCs) have been identified as the primary class of dendritic cell responsible for producing and secreting interferons, including IFN- α , in response to an immunological challenge. A class of compounds known as immune response modifiers (IRMs) also can induce the production of various cytokines, including 20 IFN- α , in numerous species, including humans.

Certain IRMs are small organic molecules such as those disclosed in, for example, U.S. Patent Nos. 4,689,338; 4,929,624; 5,266,575; 5,268,376; 5,352,784; 5,389,640; 5,482,936; 5,494,916; 6,110,929; 6,194,425; 4,988,815; 5,175,296; 5,367,076; 5,395,937; 5,693,811; 5,741,908; 5,238,944; 5,939,090; 6,245,776; 6,039,969; 6,083,969; 6,245,776; 25 6,331,539; and 6,376,669; and PCT Publications WO 00/76505; WO 00/76518; WO 02/46188, WO 02/46189; WO 02/46190; WO 02/46191; WO 02/46192; WO 02/46193; and WO 02/46194. Additional small molecule IRMs include purine derivatives (such as those described in U.S. Patent Nos. 6,376,501 and 6,028,076), small heterocyclic compounds (such as those described in U.S. Patent No. 6,329,381), and amide derivatives 30 (such as those described in U.S. Patent No. 6,069,149). Some of these small molecule IRMs may act through one or more Toll-like receptors (TLR) such as, for example, TLR-1, TLR-2, TLR-4, TLR-6, TLR-7, and TLR-8.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

Other IRMs include large biological molecules such as oligonucleotide sequences. Some IRMs oligonucleotide sequences contain cytosine-guanine dinucleotides (CpG) and are described, for example, in U.S. Patent Nos. 6,194,388; 6,207,646; 6,239,116; 6,339,068; and 6,406,705. CpG has been reported to act through TLR 9. Further, CpG molecules may be used to activate dendritic cells (see, e.g., U.S. Pat. No. 6,429,199).
5 Other IRM nucleotide sequences lack CpG and are described, for example, in International Patent Publication No. WO 00/75304.

Summary of the Invention

10 The present invention provides a method of inducing antigen presentation by dendritic cells *in vitro*, the method including: (a) exposing an isolated dendritic cell population to an antigen; (b) contacting the isolated dendritic cell with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7
15 or Toll-like receptor 8; and (c) allowing the dendritic cell to process and present the antigen. In this aspect of the invention and in all additional aspects that follow, for some embodiments the immune response modifier molecule is an agonist of Toll-like receptor 7, and in other embodiments, the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines, imidazopyridine amines, 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, 1,2-bridged imidazoquinoline amines, thiazolo- and
20 oxazolo-quinolinamines and pyridinamines, imidazonaphthyridine amines and tetrahydroimidazonaphthyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.

In another aspect, the present invention provides a method of detecting cytokine production by a plasmacytoid dendritic cell, the method including: (a) contacting an
25 isolated plasmacytoid dendritic cell with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8 in an amount effective for inducing the plasmacytoid dendritic cell to produce one or more cytokines selected from IL-8, IP-10, IL-6, MIP-1 α , and IFN- ω ; and (b) detecting production of at least one of the cytokines by the dendritic cell.

In another aspect, the present invention provides a method of detecting expression
30 of co-stimulatory markers by plasmacytoid dendritic cells, the method including: (a) contacting an isolated plasmacytoid dendritic cell with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor

WO 03/020889

PCT/US02/27393

8 in an amount effective for inducing the plasmacytoid dendritic cell to express one or more co-stimulatory marker; and (b) detecting the expression of at least one co-stimulatory marker by the plasmacytoid dendritic cell.

5 In another aspect, the present invention provides a method of enhancing survival of isolated plasmacytoid dendritic cells, the method including: (a) contacting a population of isolated plasmacytoid dendritic cells with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8 in an amount effective for enhancing survival of the plasmacytoid dendritic cells; and (b) incubating the plasmacytoid dendritic cells under conditions so that at least 30% of the plasmacytoid
10 dendritic cell survive for at least 48 hours.

In another aspect, the present invention provides a method of detecting expression of chemokine receptors by plasmacytoid dendritic cells, the method including: (a) contacting an isolated plasmacytoid dendritic cell with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor
15 8 in an amount effective for inducing the plasmacytoid dendritic cell to express one or more chemokine receptor; and (b) detecting expression of at least one chemokine receptor.

In another aspect, the present invention provides a method of identifying a compound that selectively induces production of a chemokine receptor by plasmacytoid dendritic cells, the method including: (a) obtaining a population of cells that includes both
20 inflammatory cytokine producing cells and plasmacytoid dendritic cells; (b) contacting the population of cells with a test compound; (c) determining the amount of chemokine receptor present in the population of cells contacted with the test compound; (d) determining the amount of inflammatory cytokine(s) present in the population of cells contacted with the test compound; and (e) identifying the test compound as a selective
25 inducer of the chemokine receptor if the chemokine receptor is present in the population of cells after contact with the test compound in an amount at least three times greater than the amount of inflammatory cytokine(s) present in the population of cells.

In another aspect, the present invention provides a method of preparing a cell population enriched for cells that express a chemokine receptor, the method including: (a)
30 contacting an isolated plasmacytoid dendritic cell with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8 in an amount effective for inducing the plasmacytoid dendritic cell to express one or

WO 03/020889

PCT/US02/27393

more chemokine receptor; and (b) enriching the cell population for cells that express a chemokine receptor.

In another aspect, the present invention provides a method of treating a disease including: (a) contacting an isolated plasmacytoid dendritic cell with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8 in an amount effective for inducing the plasmacytoid dendritic cell to express one or more chemokine receptor; (b) contacting the population of plasmacytoid dendritic cells with an antigen associated with the disease; (c) enriching the cell population for cells expressing a high level of expression of at least one chemokine receptor; and (d) administering the enriched cell population to a patient.

In another aspect, the present invention provides a method of preparing a cellular adjuvant for the treatment of a disease including: (a) maturing plasmacytoid dendritic cells *in vitro* by treating the dendritic cells with an immune response modifying compound that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8; and (b) exposing the mature dendritic cells to an antigen associated with said disease.

In another aspect, the present invention provides a method of treating a disease including administering a therapeutically effective dose of plasmacytoid dendritic cells that have been matured by stimulation with an immune response modifying compound that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8 to mammal in need of such treatment.

Various other features and advantages of the present invention should become readily apparent with reference to the following detailed description, examples, claims and appended drawings. In several places throughout the specification, guidance is provided through lists of examples. In each instance, the recited list serves only as a representative group and should not be interpreted as an exclusive list.

Brief Description of the Drawings

FIG. 1 shows ELISA detection of IFN- γ produced by T-cells as a result of antigen presentation by pDCs.

FIG. 2 shows ELISA detection of IL-10 produced by T-cells as a result of antigen presentation by pDCs.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

FIG. 3 shows flow cytometry data comparing co-stimulatory marker expression by pDCs treated with IL-3, IFN- α and IRM.

FIG. 4 shows flow cytometry data comparing survival of pDCs when incubated with and without IRM.

5 FIG. 5 shows flow cytometry data comparing chemokine receptor CCR7 expression by pDCs treated with IL-3, IFN- α and IRM.

Detailed Description of Illustrative Embodiments of the Invention

10 We have found that IRMs that are agonists of certain Toll-like receptors (for example, TLR-6 and TLR-7) can induce a variety of biological responses from pDCs in addition to the previously known response of producing IFN- α . For example, certain IRMs that are known to be agonists of TLR-6, TLR-7 or TLR-8 can induce human pDCs to produce cytokines such as IFN- ω and human inducible protein (IP)-10. These same IRMs also can enhance pDC (1) viability, (2) expression of co-stimulatory markers, (3) 15 expression of chemokine receptors, and (4) antigen presentation, as measured by production of IFN- γ and IL-10 by naive CD4⁺ T-cells, induced by contact with antigen presenting pDCs.

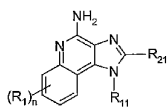
Plasmacytoid dendritic cells that exhibit increased expression of markers such as co-stimulatory markers or chemokine receptors may be enriched in a cell population. The 20 enriched cell population may be used to produce one or more desired molecules *in vitro* that may subsequently be administered to a patient for therapeutic or prophylactic purposes. Alternatively, the enriched cell population itself may be administered to a patient for therapeutic or prophylactic purposes.

IRM Compounds

25 As noted above, many imidazoquinoline amine, imidazopyridine amine, 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amine, 1,2-bridged imidazoquinoline amine, thiazolo- and oxazolo- quinolinamines and pyridinamines, imidazonaphthyridine and tetrahydroimidazonaphthyridine amine IRM compounds have demonstrated significant 30 immunomodulating activity. Exemplary immune response modifier compounds suitable for use in invention include 1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amines defined by one of Formulas I-V below:

WO 03/020889

PCT/US02/27393



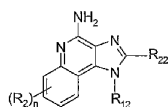
I

wherein

5 **R₁₁** is selected from the group consisting of alkyl of one to ten carbon atoms, hydroxyalkyl of one to six carbon atoms, acyloxyalkyl wherein the acyloxy moiety is alkanoyloxy of two to four carbon atoms or benzyloxy, and the alkyl moiety contains one to six carbon atoms, benzyl, (phenyl)ethyl and phenyl, said benzyl, (phenyl)ethyl or phenyl substituent being optionally substituted on the benzene ring by one or two moieties independently selected from the group consisting of alkyl of one to four carbon atoms,
 10 alkoxy of one to four carbon atoms and halogen, with the proviso that if said benzene ring is substituted by two of said moieties, then said moieties together contain no more than six carbon atoms;

15 **R₂₁** is selected from the group consisting of hydrogen, alkyl of one to eight carbon atoms, benzyl, (phenyl)ethyl and phenyl, the benzyl, (phenyl)ethyl or phenyl substituent being optionally substituted on the benzene ring by one or two moieties independently selected from the group consisting of alkyl of one to four carbon atoms, alkoxy of one to four carbon atoms and halogen, with the proviso that when the benzene ring is substituted by two of said moieties, then the moieties together contain no more than six carbon atoms;
 20 and

20 each **R₁** is independently selected from the group consisting of alkoxy of one to four carbon atoms, halogen, and alkyl of one to four carbon atoms, and n is an integer from 0 to 2, with the proviso that if n is 2, then said **R₁** groups together contain no more than six carbon atoms;



II

25

wherein

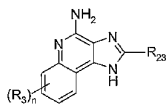
WO 03/020889

PCT/US02/27393

R_{12} is selected from the group consisting of straight chain or branched chain alkenyl containing two to ten carbon atoms and substituted straight chain or branched chain alkenyl containing two to ten carbon atoms, wherein the substituent is selected from the group consisting of straight chain or branched chain alkyl containing one to four carbon atoms and cycloalkyl containing three to six carbon atoms; and cycloalkyl containing three to six carbon atoms substituted by straight chain or branched chain alkyl containing one to four carbon atoms; and

R_{22} is selected from the group consisting of hydrogen, straight chain or branched chain alkyl containing one to eight carbon atoms, benzyl, (phenyl)ethyl and phenyl, the benzyl, (phenyl)ethyl or phenyl substituent being optionally substituted on the benzene ring by one or two moieties independently selected from the group consisting of straight chain or branched chain alkyl containing one to four carbon atoms, straight chain or branched chain alkoxy containing one to four carbon atoms, and halogen, with the proviso that when the benzene ring is substituted by two such moieties, then the moieties together contain no more than six carbon atoms; and

each R_2 is independently selected from the group consisting of straight chain or branched chain alkoxy containing one to four carbon atoms, halogen, and straight chain or branched chain alkyl containing one to four carbon atoms, and n is an integer from zero to 2, with the proviso that if n is 2, then said R_2 groups together contain no more than six carbon atoms;



III

wherein

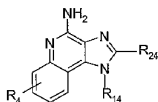
R_{23} is selected from the group consisting of hydrogen, straight chain or branched chain alkyl of one to eight carbon atoms, benzyl, (phenyl)ethyl and phenyl, the benzyl, (phenyl)ethyl or phenyl substituent being optionally substituted on the benzene ring by one or two moieties independently selected from the group consisting of straight chain or branched chain alkyl of one to four carbon atoms, straight chain or branched chain alkoxy of one to four carbon atoms, and halogen, with the proviso that when the benzene ring is

WO 03/020889

PCT/US02/27393

substituted by two such moieties, then the moieties together contain no more than six carbon atoms; and

5 each R_3 is independently selected from the group consisting of straight chain or branched chain alkoxy of one to four carbon atoms, halogen, and straight chain or branched chain alkyl of one to four carbon atoms, and n is an integer from zero to 2, with the proviso that if n is 2, then said R_3 groups together contain no more than six carbon atoms;



IV

10 wherein

R_{14} is $-CHR_xR_y$ wherein R_y is hydrogen or a carbon-carbon bond, with the proviso that when R_y is hydrogen R_x is alkoxy of one to four carbon atoms, hydroxyalkoxy of one to four carbon atoms, 1-alkynyl of two to ten carbon atoms, tetrahydropyranyl, alkoxyalkyl wherein the alkoxy moiety contains one to four carbon atoms and the alkyl moiety contains one to four carbon atoms, 2-, 3-, or 4-pyridyl, and with the further proviso that when R_y is a carbon-carbon bond R_y and R_x together form a tetrahydrofuran ring optionally substituted with one or more substituents independently selected from the group consisting of hydroxy and hydroxyalkyl of one to four carbon atoms;

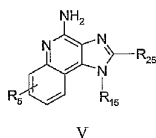
15 R_{24} is selected from the group consisting of hydrogen, alkyl of one to four carbon atoms, phenyl, and substituted phenyl wherein the substituent is selected from the group consisting of alkyl of one to four carbon atoms, alkoxy of one to four carbon atoms, and halogen; and

20 R_4 is selected from the group consisting of hydrogen, straight chain or branched chain alkoxy containing one to four carbon atoms, halogen, and straight chain or branched chain alkyl containing one to four carbon atoms;

25

WO 03/020889

PCT/US02/27393



wherein

R₁₅ is selected from the group consisting of: hydrogen; straight chain or branched chain alkyl containing one to ten carbon atoms and substituted straight chain or branched chain alkyl containing one to ten carbon atoms, wherein the substituent is selected from the group consisting of cycloalkyl containing three to six carbon atoms and cycloalkyl containing three to six carbon atoms substituted by straight chain or branched chain alkyl containing one to four carbon atoms; straight chain or branched chain alkenyl containing two to ten carbon atoms and substituted straight chain or branched chain alkenyl containing two to ten carbon atoms, wherein the substituent is selected from the group consisting of cycloalkyl containing three to six carbon atoms and cycloalkyl containing three to six carbon atoms substituted by straight chain or branched chain alkyl containing one to four carbon atoms; hydroxyalkyl of one to six carbon atoms; alkoxyalkyl wherein the alkoxy moiety contains one to four carbon atoms and the alkyl moiety contains one to six carbon atoms; acyloxyalkyl wherein the acyloxy moiety is alkanoyloxy of two to four carbon atoms or benzyloxy, and the alkyl moiety contains one to six carbon atoms; benzyl; (phenyl)ethyl; and phenyl; said benzyl, (phenyl)ethyl or phenyl substituent being optionally substituted on the benzene ring by one or two moieties independently selected from the group consisting of alkyl of one to four carbon atoms, alkoxy of one to four carbon atoms, and halogen, with the proviso that when said benzene ring is substituted by two of said moieties, then the moieties together contain no more than six carbon atoms;

R₂₅ is



wherein

R₈ and **R₁₇** are independently selected from the group consisting of hydrogen, alkyl of one to four carbon atoms, phenyl, and substituted phenyl wherein the substituent is

WO 03/020889

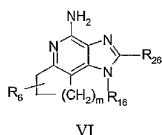
PCT/US02/27393

selected from the group consisting of alkyl of one to four carbon atoms, alkoxy of one to four carbon atoms, and halogen;

5 X is selected from the group consisting of alkoxy containing one to four carbon atoms, alkoxyalkyl wherein the alkoxy moiety contains one to four carbon atoms and the alkyl moiety contains one to four carbon atoms, hydroxyalkyl of one to four carbon atoms, haloalkyl of one to four carbon atoms, alkylamido wherein the alkyl group contains one to four carbon atoms, amino, substituted amino wherein the substituent is alkyl or hydroxyalkyl of one to four carbon atoms, azido, chloro, hydroxy, 1-morpholino, 1-pyrrolidino, alkylthio of one to four carbon atoms; and

10 R₅ is selected from the group consisting of hydrogen, straight chain or branched chain alkoxy containing one to four carbon atoms, halogen, and straight chain or branched chain alkyl containing one to four carbon atoms; and a pharmaceutically acceptable salt of any of the foregoing.

15 Suitable 6,7 fused cycloalkylimidazopyridine amine IRM compounds are defined by Formula VI below:



wherein

20 m is 1, 2, or 3;
 R₁₆ is selected from the group consisting of hydrogen; cyclic alkyl of three, four, or five carbon atoms; straight chain or branched chain alkyl containing one to ten carbon atoms and substituted straight chain or branched chain alkyl containing one to ten carbon atoms, wherein the substituent is selected from the group consisting of cycloalkyl containing three to six carbon atoms and cycloalkyl containing three to six carbon atoms substituted by straight chain or branched chain alkyl containing one to four carbon atoms;
 25 fluoro- or chloroalkyl containing from one to ten carbon atoms and one or more fluorine or chlorine atoms; straight chain or branched chain alkenyl containing two to ten carbon atoms and substituted straight chain or branched chain alkenyl containing two to ten carbon atoms, wherein the substituent is selected from the group consisting of cycloalkyl

WO 03/020889

PCT/US02/27393

containing three to six carbon atoms and cycloalkyl containing three to six carbon atoms substituted by straight chain or branched chain alkyl containing one to four carbon atoms; hydroxyalkyl of one to six carbon atoms; alkoxyalkyl wherein the alkoxy moiety contains one to four carbon atoms and the alkyl moiety contains one to six carbon atoms;

5 acyloxyalkyl wherein the acyloxy moiety is alkanoyloxy of two to four carbon atoms or benzoyloxy, and the alkyl moiety contains one to six carbon atoms, with the proviso that any such alkyl, substituted alkyl, alkenyl, substituted alkenyl, hydroxyalkyl, alkoxyalkyl, or acyloxyalkyl group does not have a fully carbon substituted carbon atom bonded directly to the nitrogen atom; benzyl; (phenyl)ethyl; and phenyl; said benzyl, (phenyl)ethyl

10 or phenyl substituent being optionally substituted on the benzene ring by one or two moieties independently selected from the group consisting of alkyl of one to four carbon atoms, alkoxy of one to four carbon atoms, and halogen, with the proviso that when said benzene ring is substituted by two of said moieties, then the moieties together contain no more than six carbon atoms;

15 and $-\text{CHR}_x\text{R}_y$
wherein

R_y is hydrogen or a carbon-carbon bond, with the proviso that when R_y is hydrogen R_x is alkoxy of one to four carbon atoms, hydroxyalkoxy of one to four carbon atoms, 1-alkynyl of two to ten carbon atoms, tetrahydropyranyl, alkoxyalkyl wherein the alkoxy

20 moiety contains one to four carbon atoms and the alkyl moiety contains one to four carbon atoms, 2-, 3-, or 4-pyridyl, and with the further proviso that when R_y is a carbon-carbon bond R_y and R_x together form a tetrahydrofuranyl group optionally substituted with one or more substituents independently selected from the group consisting of hydroxy and hydroxyalkyl of one to four carbon atoms,

25 R_{26} is selected from the group consisting of hydrogen, straight chain or branched chain alkyl containing one to eight carbon atoms, straight chain or branched chain hydroxyalkyl containing one to six carbon atoms, morpholinoalkyl, benzyl, (phenyl)ethyl and phenyl, the benzyl, (phenyl)ethyl or phenyl substituent being optionally substituted on the benzene ring by a moiety selected from the group consisting of methyl, methoxy, and

30 halogen; and

$-\text{C}(\text{R}_S)(\text{R}_T)(\text{X})$ wherein R_S and R_T are independently selected from the group consisting of hydrogen, alkyl of one to four carbon atoms, phenyl, and substituted phenyl

WO 03/020889

PCT/US02/27393

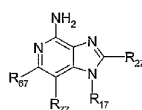
wherein the substituent is selected from the group consisting of alkyl of one to four carbon atoms, alkoxy of one to four carbon atoms, and halogen;

5 X is selected from the group consisting of alkoxy containing one to four carbon atoms, alkoxyalkyl wherein the alkoxy moiety contains one to four carbon atoms and the alkyl moiety contains one to four carbon atoms, haloalkyl of one to four carbon atoms, alkylamido wherein the alkyl group contains one to four carbon atoms, amino, substituted amino wherein the substituent is alkyl or hydroxyalkyl of one to four carbon atoms, azido, alkylthio of one to four carbon atoms, and morpholinoalkyl wherein the alkyl moiety contains one to four carbon atoms, and

10 R₄ is selected from the group consisting of hydrogen, fluoro, chloro, straight chain or branched chain alkyl containing one to four carbon atoms, and straight chain or branched chain fluoro- or chloroalkyl containing one to four carbon atoms and at least one fluorine or chlorine atom;

and pharmaceutically acceptable salts thereof.

15 Suitable imidazopyridine amine IRM compounds are defined by Formula VII below:



VII

wherein

20 R₁₇ is selected from the group consisting of hydrogen; -CH₂R_w wherein R_w is selected from the group consisting of straight chain, branched chain, or cyclic alkyl containing one to ten carbon atoms, straight chain or branched chain alkenyl containing two to ten carbon atoms, straight chain or branched chain hydroxyalkyl containing one to six carbon atoms, alkoxyalkyl wherein the alkoxy moiety contains one to four carbon atoms and the alkyl moiety contains one to six carbon atoms, and phenylethyl; and -

25 CH=CR_zR_z wherein each R_z is independently straight chain, branched chain, or cyclic alkyl of one to six carbon atoms;

R₂₇ is selected from the group consisting of hydrogen, straight chain or branched chain alkyl containing one to eight carbon atoms, straight chain or branched chain

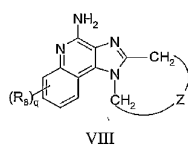
WO 03/020889

PCT/US02/27393

hydroxyalkyl containing one to six carbon atoms, alkoxyalkyl wherein the alkoxy moiety contains one to four carbon atoms and the alkyl moiety contains one to six carbon atoms, benzyl, (phenyl)ethyl and phenyl, the benzyl, (phenyl)ethyl or phenyl substituent being optionally substituted on the benzene ring by a moiety selected from the group consisting of methyl, methoxy, and halogen; and morpholinoalkyl wherein the alkyl moiety contains one to four carbon atoms;

R_{67} and R_{77} are independently selected from the group consisting of hydrogen and alkyl of one to five carbon atoms, with the proviso that R_{67} and R_{77} taken together contain no more than six carbon atoms, and with the further proviso that when R_{77} is hydrogen then R_{67} is other than hydrogen and R_{27} is other than hydrogen or morpholinoalkyl, and with the further proviso that when R_{67} is hydrogen then R_{77} and R_{27} are other than hydrogen; and pharmaceutically acceptable salts thereof.

Suitable 1,2-bridged imidazoquinoline amine IRM compounds are defined by Formula VIII below:



VIII

wherein

Z is selected from the group consisting of:

$-(CH_2)_p-$ wherein p is 1 to 4;

$-(CH_2)_a-C(R_D R_E)(CH_2)_b-$, wherein a and b are integers and $a+b$ is 0 to 3, R_D is hydrogen or alkyl of one to four carbon atoms, and R_E is selected from the group consisting of alkyl of one to four carbon atoms, hydroxy, $-OR_F$ wherein R_F is alkyl of one to four carbon atoms, and $-NR_G R'_G$ wherein R_G and R'_G are independently hydrogen or alkyl of one to four carbon atoms; and

$-(CH_2)_a-(Y)-(CH_2)_b-$ wherein a and b are integers and $a+b$ is 0 to 3, and Y is O, S, or $-NR_1-$ wherein R_1 is hydrogen or alkyl of one to four carbon atoms;

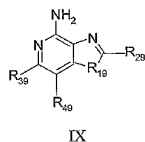
q is 0 or 1; and

WO 03/020889

PCT/US02/27393

R_8 is selected from the group consisting of alkyl of one to four carbon atoms, alkoxy of one to four carbon atoms, and halogen, and pharmaceutically acceptable salts thereof.

Suitable thiazolo- and oxazolo- quinolinamine and pyridinamine compounds
5 include compounds defined by Formula IX:



wherein:

10 R_{19} is selected from the group consisting of oxygen, sulfur and selenium;

R_{29} is selected from the group consisting of

- hydrogen;
- alkyl;
- alkyl-OH;
- 15 -haloalkyl;
- alkenyl;
- alkyl-X-alkyl;
- alkyl-X-alkenyl;
- alkenyl-X-alkyl;
- 20 -alkenyl-X-alkenyl;
- alkyl-N(R_{59})₂;
- alkyl-N₃;
- alkyl-O-C(O)-N(R_{59})₂;
- heterocyclyl;
- 25 -alkyl-X-heterocyclyl;
- alkenyl-X-heterocyclyl;
- aryl;
- alkyl-X-aryl;
- alkenyl-X-aryl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393

-heteroaryl;
 -alkyl-X-heteroaryl; and
 -alkenyl-X-heteroaryl;

R_{39} and R_{49} are each independently:

5 -hydrogen;
 -X-alkyl;
 -halo;
 -haloalkyl;
 -N(R_{59})₂;

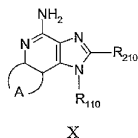
10 or when taken together, R_{39} and R_{49} form a fused aromatic, heteroaromatic, cycloalkyl or heterocyclic ring;

X is selected from the group consisting of -O-, -S-, -NR₅₉-, -C(O)-, -C(O)O-, -OC(O)-, and a bond; and

each R_{59} is independently H or C₁₋₈alkyl;

15 and pharmaceutically acceptable salts thereof.

Suitable imidazonaphthyridine and tetrahydroimidazonaphthyridine IRM compounds are those defined by Formulas X and XI below:



20 wherein

A is =N-CR=CR-CR=; =CR-N=CR-CR=; =CR-CR=N-CR=; or
 =CR-CR=CR-N=;

R_{110} is selected from the group consisting of:

- hydrogen;

25 -C₁₋₂₀ alkyl or C₂₋₂₀ alkenyl that is unsubstituted or substituted by one or more substituents selected from the group consisting of:

-aryl;
 -heteroaryl;
 -heterocyclyl;

WO 03/020889

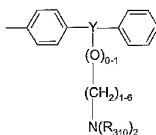
PCT/US02/27393

- 5
- O-C₁₋₂₀ alkyl;
 - O-(C₁₋₂₀alkyl)_{0,1}-aryl;
 - O-(C₁₋₂₀alkyl)_{0,1}-heteroaryl;
 - O-(C₁₋₂₀alkyl)_{0,1}-heterocyclyl;
 - C₁₋₂₀ alkoxycarbonyl;
 - S(O)_{0,2}-C₁₋₂₀ alkyl;
 - S(O)_{0,2}-(C₁₋₂₀ alkyl)_{0,1}-aryl;
 - S(O)_{0,2}-(C₁₋₂₀ alkyl)_{0,1}-heteroaryl;
 - S(O)_{0,2}-(C₁₋₂₀ alkyl)_{0,1}-heterocyclyl;
- 10
- N(R₃₁₀)₂;
 - N₃;
 - oxo;
 - halogen;
 - NO₂;
- 15
- OH; and
 - SH; and
- C₁₋₂₀ alkyl-NR₃₁₀-Q-X-R₄₁₀ or -C₂₋₂₀ alkenyl-NR₃₁₀-Q-X-R₄₁₀ wherein Q is -CO- or -SO₂-; X is a bond, -O- or -NR₃₁₀- and R₄₁₀ is aryl; heteroaryl; heterocyclyl; or -C₁₋₂₀ alkyl or C₂₋₂₀ alkenyl that is unsubstituted or substituted by one or more substituents
- 20 selected from the group consisting of:
- aryl;
 - heteroaryl;
 - heterocyclyl;
 - O-C₁₋₂₀ alkyl,
- 25
- O-(C₁₋₂₀alkyl)_{0,1}-aryl;
 - O-(C₁₋₂₀alkyl)_{0,1}-heteroaryl;
 - O-(C₁₋₂₀alkyl)_{0,1}-heterocyclyl;
 - C₁₋₂₀ alkoxycarbonyl;
 - S(O)_{0,2}-C₁₋₂₀ alkyl;
- 30
- S(O)_{0,2}-(C₁₋₂₀ alkyl)_{0,1}-aryl;
 - S(O)_{0,2}-(C₁₋₂₀ alkyl)_{0,1}-heteroaryl;
 - S(O)_{0,2}-(C₁₋₂₀ alkyl)_{0,1}-heterocyclyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393

-N(R₃₁₀)₂;
 -NR₃₁₀-CO-O-C₁₋₂₀alkyl;
 -N₃;
 oxo;
 -halogen;
 -NO₂;
 -OH; and
 -SH; or R₄₁₀ is



wherein Y is -N- or -CR-;

R₂₁₀ is selected from the group consisting of:

-hydrogen;
 -C₁₋₁₀ alkyl;
 -C₂₋₁₀ alkenyl;
 -aryl;
 -C₁₋₁₀ alkyl-O-C₁₋₁₀ alkyl;
 -C₁₋₁₀ alkyl-O-C₂₋₁₀ alkenyl; and
 -C₁₋₁₀ alkyl or C₂₋₁₀ alkenyl substituted by one or more substituents selected from

the group consisting of:

-OH;
 -halogen;
 -N(R₃₁₀)₂;
 -CO-N(R₃₁₀)₂;
 -CO-C₁₋₁₀ alkyl;
 -N₃;
 -aryl;
 -heteroaryl;
 -heterocyclyl;

WO 03/020889

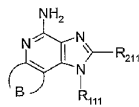
PCT/US02/27393

-CO-aryl; and

-CO-heteroaryl;

each R_{310} is independently selected from the group consisting of hydrogen and C_{1-10} alkyl; and

5 each R is independently selected from the group consisting of hydrogen, C_{1-10} alkyl, C_{1-10} alkoxy, halogen and trifluoromethyl,



XI

wherein

10 B is $-NR-C(R)_2-C(R)_2-C(R)_2-$; $-C(R)_2-NR-C(R)_2-C(R)_2-$;

$-C(R)_2-C(R)_2-NR-C(R)_2-$ or $-C(R)_2-C(R)_2-C(R)_2-NR-$;

R_{111} is selected from the group consisting of:

- hydrogen;

- C_{1-20} alkyl or C_{2-20} alkenyl that is unsubstituted or substituted by one or more

15 substituents selected from the group consisting of:

-aryl;

-heteroaryl;

-heterocyclyl;

-O- C_{1-20} alkyl;

20 -O-(C_{1-20} alkyl) $_{0-1}$ -aryl;

-O-(C_{1-20} alkyl) $_{0-1}$ -heteroaryl;

-O-(C_{1-20} alkyl) $_{0-1}$ -heterocyclyl;

- C_{1-20} alkoxy-carbonyl;

-S(O) $_{0-2}$ - C_{1-20} alkyl;

25 -S(O) $_{0-2}$ -(C_{1-20} alkyl) $_{0-1}$ -aryl;

-S(O) $_{0-2}$ -(C_{1-20} alkyl) $_{0-1}$ -heteroaryl;

-S(O) $_{0-2}$ -(C_{1-20} alkyl) $_{0-1}$ -heterocyclyl;

-N(R_{211}) $_2$;

-N $_3$;

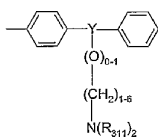
WO 03/020889

PCT/US02/27393

- oxo;
 -halogen;
 -NO₂;
 -OH; and
 5 -SH; and
 -C₁₋₂₀ alkyl-NR₃₁₁-Q-X-R₄₁₁ or -C₂₋₂₀ alkenyl-NR₃₁₁-Q-X-R₄₁₁ wherein Q is -CO-
 or -SO₂-; X is a bond, -O- or -NR₃₁₁- and R₄₁₁ is aryl; heteroaryl; heterocyclyl; or -C₁₋₂₀
 alkyl or C₂₋₂₀ alkenyl that is unsubstituted or substituted by one or more substituents
 selected from the group consisting of:
 10 -aryl;
 -heteroaryl;
 -heterocyclyl;
 -O-C₁₋₂₀ alkyl,
 -O-(C₁₋₂₀alkyl)₀₋₁-aryl;
 15 -O-(C₁₋₂₀alkyl)₀₋₁-heteroaryl;
 -O-(C₁₋₂₀alkyl)₀₋₁-heterocyclyl;
 -C₁₋₂₀ alkoxy carbonyl;
 -S(O)₀₋₂-C₁₋₂₀ alkyl;
 -S(O)₀₋₂-(C₁₋₂₀ alkyl)₀₋₁-aryl;
 20 -S(O)₀₋₂-(C₁₋₂₀ alkyl)₀₋₁-heteroaryl;
 -S(O)₀₋₂-(C₁₋₂₀ alkyl)₀₋₁-heterocyclyl;
 -N(R₃₁₁)₂;
 -NR₃₁₁-CO-O-C₁₋₂₀alkyl;
 -N₃;
 25 oxo;
 -halogen;
 -NO₂;
 -OH; and
 -SH; or R₄₁₁ is

WO 03/020889

PCT/US02/27393



wherein Y is -N- or -CR-;

R₃₁₁ is selected from the group consisting of:

- hydrogen;
 - 5 -C₁₋₁₀ alkyl;
 - C₂₋₁₀ alkenyl;
 - aryl
 - C₁₋₁₀ alkyl -O-C₁₋₁₀-alkyl;
 - C₁₋₁₀ alkyl-O-C₂₋₁₀ alkenyl; and
 - 10 -C₁₋₁₀ alkyl or C₂₋₁₀ alkenyl substituted by one or more substituents selected from
- the group consisting of:
- OH;
 - halogen;
 - N(R₃₁₁)₂;
 - 15 -CO-N(R₃₁₁)₂;
 - CO-C₁₋₁₀ alkyl;
 - N₃;
 - aryl;
 - heteroaryl;
 - 20 -heterocyclyl;
 - CO-aryl; and
 - CO-heteroaryl;

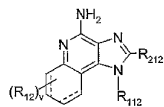
each R₃₁₁ is independently selected from the group consisting of hydrogen and C₁₋₁₀ alkyl; and

- 25 each R is independently selected from the group consisting of hydrogen,
- C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, halogen and trifluoromethyl,
- and pharmaceutically acceptable salts thereof.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

Additional suitable 1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-amines and tetrahydro-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-amines include compounds defined by Formulas XII, XIII and XIV below:



XII

5

wherein

R_{112} is -alkyl-NR₃₁₂-CO-R₄₁₂ or -alkenyl-NR₃₁₂-CO- R₄₁₂ wherein R_{412} is aryl, heteroaryl, alkyl or alkenyl, each of which may be unsubstituted or substituted by one or

10

more substituents selected from the group consisting of:

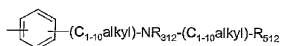
- alkyl;
- alkenyl;
- alkynyl;
- (alkyl)_{0,1}-aryl;
- (alkyl)_{0,1}-(substituted aryl);
- (alkyl)_{0,1}-heteroaryl;
- (alkyl)_{0,1}-(substituted heteroaryl);
- O-alkyl;
- O-(alkyl)_{0,1}-aryl;
- O-(alkyl)_{0,1}-(substituted aryl);
- O-(alkyl)_{0,1}-heteroaryl;
- O-(alkyl)_{0,1}-(substituted heteroaryl);
- CO-aryl;
- CO-(substituted aryl);
- CO-heteroaryl;
- CO-(substituted heteroaryl);
- COOH;
- CO-O-alkyl;

25

WO 03/020889

PCT/US02/27393

- 5
- CO-alkyl;
 - S(O)₀₋₂-alkyl;
 - S(O)₀₋₂-(alkyl)₀₋₁-aryl;
 - S(O)₀₋₂-(alkyl)₀₋₁-(substituted aryl);
 - S(O)₀₋₂-(alkyl)₀₋₁-heteroaryl;
 - S(O)₀₋₂-(alkyl)₀₋₁-(substituted heteroaryl);
 - P(O)(OR₃₁₂)₂;
 - NR₃₁₂-CO-O-alkyl;
 - N₃;
 - 10
 - halogen;
 - NO₂;
 - CN;
 - haloalkyl;
 - O-haloalkyl;
 - 15
 - CO-haloalkyl;
 - OH;
 - SH; and in the case of alkyl, alkenyl, or heterocyclyl, oxo;
 - or R₄₁₂ is



20

wherein R₅₁₂ is an aryl, (substituted aryl), heteroaryl, (substituted heteroaryl), heterocyclyl or (substituted heterocyclyl) group;

R₃₁₂ is selected from the group consisting of:

- 25
- hydrogen;
 - alkyl;
 - alkenyl;
 - aryl;
 - (substituted aryl);
 - heteroaryl;
 - 30
 - (substituted heteroaryl);
 - heterocyclyl;

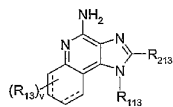
WO 03/020889

PCT/US02/27393

- (substituted heterocyclyl);
 -alkyl-O-alkyl;
 -alkyl-O-alkenyl; and
 -alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected from the
 5 group consisting of:
 -OH;
 -halogen;
 -N(R₃₁₂)₂;
 -CO-N(R₃₁₂)₂;
 10 -CO-C₁₋₁₀ alkyl;
 -CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;
 -N₃;
 -aryl;
 -(substituted aryl);
 15 -heteroaryl;
 -(substituted heteroaryl);
 -heterocyclyl;
 -(substituted heterocyclyl);
 -CO-aryl; and
 20 -CO-heteroaryl;
 each R₃₁₂ is independently selected from the group consisting of hydrogen; C₁₋₁₀
 alkyl-heteroaryl; C₁₋₁₀ alkyl-(substituted heteroaryl); C₁₋₁₀ alkyl-aryl; C₁₋₁₀ alkyl-
 (substituted aryl) and C₁₋₁₀ alkyl;
 v is 0 to 4;
 25 and each R₁₂ present is independently selected from the group consisting of C₁₋₁₀
 alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, halogen and trifluoromethyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393



XIII

wherein

- 5 **R₁₁₃** is -alkyl-NR₃₁₃-SO₂-X-R₄₁₃ or -alkenyl-NR₃₁₃-SO₂-X-R₄₁₃;
 X is a bond or -NR₅₁₃-;
 R₄₁₃ is aryl, heteroaryl, heterocyclyl, alkyl or alkenyl, each of which may be
 unsubstituted or substituted by one or more substituents selected from the group consisting
 of:
- 10 -alkyl;
 -alkenyl;
 -aryl;
 -heteroaryl;
 -heterocyclyl;
- 15 -substituted cycloalkyl;
 -substituted aryl;
 -substituted heteroaryl;
 -substituted heterocyclyl;
 -O-alkyl;
- 20 -O-(alkyl)_{0,1}-aryl;
 -O-(alkyl)_{0,1}-substituted aryl;
 -O-(alkyl)_{0,1}-heteroaryl;
 -O-(alkyl)_{0,1}-substituted heteroaryl;
 -O-(alkyl)_{0,1}-heterocyclyl;
- 25 -O-(alkyl)_{0,1}-substituted heterocyclyl;
 -COOH;
 -CO-O-alkyl;
 -CO-alkyl;
 -S(O)_{0,2}-alkyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393

- 5
- S(O)₀₋₂-(alkyl)₀₋₁-aryl;
 - S(O)₀₋₂-(alkyl)₀₋₁-substituted aryl;
 - S(O)₀₋₂-(alkyl)₀₋₁-heteroaryl;
 - S(O)₀₋₂-(alkyl)₀₋₁-substituted heteroaryl;
 - S(O)₀₋₂-(alkyl)₀₋₁-heterocyclyl;
 - S(O)₀₋₂-(alkyl)₀₋₁-substituted heterocyclyl;
 - (alkyl)₀₋₁-NR₃₁₃R₃₁₃;
 - (alkyl)₀₋₁-NR₃₁₃-CO-O-alkyl;
 - (alkyl)₀₋₁-NR₃₁₃-CO-alkyl;

10

 - (alkyl)₀₋₁-NR₃₁₃-CO-aryl;
 - (alkyl)₀₋₁-NR₃₁₃-CO-substituted aryl;
 - (alkyl)₀₋₁-NR₃₁₃-CO-heteroaryl;
 - (alkyl)₀₋₁-NR₃₁₃-CO-substituted heteroaryl;

15

 - N₃;
 - halogen;
 - haloalkyl;
 - haloalkoxy;
 - CO-haloalkyl;
 - CO-haloalkoxy;

20

 - NO₂;
 - CN;
 - OH;
 - SH; and in the case of alkyl, alkenyl, or heterocyclyl, oxo;
- R₂₁₃** is selected from the group consisting of:
- 25
- hydrogen;
 - alkyl;
 - alkenyl;
 - aryl;
 - substituted aryl;

30

 - heteroaryl;
 - substituted heteroaryl;
 - alkyl-O-alkyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393

- alkyl-O- alkenyl; and
 - alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected from the
 group consisting of:

- 5 -OH;
- halogen;
- N(R₃₁₃)₂;
- CO-N(R₃₁₃)₂;
- CO-C₁₋₁₀ alkyl;
- CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;
- 10 -N₃;
- aryl;
- substituted aryl;
- heteroaryl;
- substituted heteroaryl;
- 15 -heterocyclyl;
- substituted heterocyclyl;
- CO-aryl;
- CO-(substituted aryl);
- CO-heteroaryl; and
- 20 -CO-(substituted heteroaryl);

each R₃₁₃ is independently selected from the group consisting of hydrogen and C₁₋₁₀ alkyl;

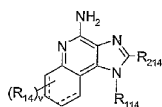
R₅₁₃ is selected from the group consisting of hydrogen and C₁₋₁₀ alkyl, or R₄₁₃ and R₅₁₃ can combine to form a 3 to 7 membered heterocyclic or substituted heterocyclic ring;

25 v is 0 to 4;

and each R₁₃ present is independently selected from the group consisting of C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, halogen and trifluoromethyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393



XIV

wherein

5 R_{114} is -alkyl-NR₃₁₄-CY-NR₅₁₄-X-R₄₁₄ or
-alkenyl-NR₃₁₄-CY-NR₅₁₄-X-R₄₁₄

wherein

Y is =O or =S;

X is a bond, -CO- or -SO₂-;

10 R_{414} is aryl, heteroaryl, heterocyclyl, alkyl or alkenyl, each of which may be
unsubstituted or substituted by one or more substituents selected from the group consisting
of:

-alkyl;

-alkenyl;

-aryl;

15 -heteroaryl;

-heterocyclyl;

-substituted aryl;

-substituted heteroaryl;

-substituted heterocyclyl;

20 -O-alkyl;

-O-(alkyl)_{0,1}-aryl;

-O-(alkyl)_{0,1}-substituted aryl;

-O-(alkyl)_{0,1}-heteroaryl;

-O-(alkyl)_{0,1}-substituted heteroaryl;

25 -O-(alkyl)_{0,1}-heterocyclyl;

-O-(alkyl)_{0,1}-substituted heterocyclyl;

-COOH;

-CO-O-alkyl;

-CO-alkyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393

- 5
- S(O)_{0,2}-alkyl;
 - S(O)_{0,2}-(alkyl)_{0,1}-aryl;
 - S(O)_{0,2}-(alkyl)_{0,1}-substituted aryl;
 - S(O)_{0,2}-(alkyl)_{0,1}-heteroaryl;
 - S(O)_{0,2}-(alkyl)_{0,1}-substituted heteroaryl;
 - S(O)_{0,2}-(alkyl)_{0,1}-heterocyclyl;
 - S(O)_{0,2}-(alkyl)_{0,1}-substituted heterocyclyl;
 - R₃₁₄-(alkyl)_{0,1}-NR₃₁₄R₃₁₄;
 - R₃₁₄-(alkyl)_{0,1}-NR₃₁₄-CO-O-alkyl;
 - 10
 - R₃₁₄-(alkyl)_{0,1}-NR₃₁₄-CO-alkyl;
 - R₃₁₄-(alkyl)_{0,1}-NR₃₁₄-CO-aryl;
 - R₃₁₄-(alkyl)_{0,1}-NR₃₁₄-CO-substituted aryl;
 - R₃₁₄-(alkyl)_{0,1}-NR₃₁₄-CO-heteroaryl;
 - R₃₁₄-(alkyl)_{0,1}-NR₃₁₄-CO-substituted heteroaryl;
 - 15
 - N₃;
 - halogen;
 - haloalkyl;
 - haloalkoxy;
 - CO-haloalkoxy;
 - 20
 - NO₂;
 - CN;
 - OH;
 - SH; and, in the case of alkyl, alkenyl or heterocyclyl, oxo;
- with the proviso that when X is a bond R₃₁₄ can additionally be hydrogen;
- 25
- R₃₁₄ is selected from the group consisting of:
- hydrogen;
 - alkyl;
 - alkenyl;
 - aryl;
 - 30
 - substituted aryl;
 - heteroaryl;
 - substituted heteroaryl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393

-alkyl-O-alkyl;
 -alkyl-O-alkenyl; and
 -alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected from the
 group consisting of:

- 5 -OH;
 -halogen;
 -N(R₃₁₄)₂;
 -CO-N(R₃₁₄)₂;
 10 -CO-C₁₋₁₀ alkyl;
 -CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;
 -N₃;
 -aryl;
 -substituted aryl;
 -heteroaryl;
 15 -substituted heteroaryl;
 -heterocyclyl;
 -substituted heterocyclyl;
 -CO-aryl;
 -CO-(substituted aryl);
 20 -CO-heteroaryl; and
 -CO-(substituted heteroaryl);

each R₃₁₄ is independently selected from the group consisting of hydrogen and C₁₋₁₀ alkyl;

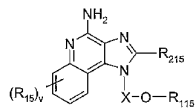
R₃₁₄ is selected from the group consisting of hydrogen and C₁₋₁₀ alkyl, or R₄₁₄ and
 25 R₅₁₄ can combine to form a 3 to 7 membered heterocyclic or substituted heterocyclic ring;
 v is 0 to 4;

and each R₁₄ present is independently selected from the group consisting of C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, halogen and trifluoromethyl, and pharmaceutically acceptable salts thereof.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

Additional suitable 1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-amines and tetrahydro-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-amines include compounds defined by Formulas XV, XVI, XVII, XVIII, XIX, XX, XXI, XXII, XXIII, XXIV, XXV, and XXVI below



XV

10 wherein: X is -CHR₅₁₅-, -CHR₅₁₅-alkyl-, or -CHR₅₁₅-alkenyl-;

R₁₁₅ is selected from the group consisting of:

- R₄₁₅-CR₃₁₅-Z-R₆₁₅-alkyl;
- R₄₁₅-CR₃₁₅-Z-R₆₁₅-alkenyl;
- R₄₁₅-CR₃₁₅-Z-R₆₁₅-aryl;
- R₄₁₅-CR₃₁₅-Z-R₆₁₅-heteroaryl;
- R₄₁₅-CR₃₁₅-Z-R₆₁₅-heterocyclyl;
- R₄₁₅-CR₃₁₅-Z-H;
- R₄₁₅-NR₇₁₅-CR₃₁₅-R₆₁₅-alkyl;
- R₄₁₅-NR₇₁₅-CR₃₁₅-R₆₁₅-alkenyl;
- R₄₁₅-NR₇₁₅-CR₃₁₅-R₆₁₅-aryl;
- R₄₁₅-NR₇₁₅-CR₃₁₅-R₆₁₅-heteroaryl;
- R₄₁₅-NR₇₁₅-CR₃₁₅-R₆₁₅-heterocyclyl; and
- R₄₁₅-NR₇₁₅-CR₃₁₅-R₈₁₅;

Z is -NR₅₁₅-, -O-, or -S-;

25 R₂₁₅ is selected from the group consisting of:

- hydrogen;
- alkyl;
- alkenyl;
- aryl;
- heteroaryl;
- heterocyclyl;

30

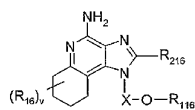
WO 03/020889

PCT/US02/27393

-alkyl-Y-alkyl;
 -alkyl-Y-alkenyl;
 -alkyl-Y-aryl; and
 -alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected
 5 from the group consisting of:
 -OH;
 -halogen;
 -N(R₅₁₅)₂;
 -CO-N(R₅₁₅)₂;
 10 -CO-C₁₋₁₀ alkyl;
 -CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;
 -N₃;
 -aryl;
 -heteroaryl;
 15 -heterocyclyl;
 -CO-aryl; and
 -CO-heteroaryl;
R₃₁₅ is =O or =S;
R₄₁₅ is alkyl or alkenyl, which may be interrupted by one or more
 20 -O- groups;
 each **R₅₁₅** is independently H or C₁₋₁₀ alkyl;
R₆₁₅ is a bond, alkyl, or alkenyl, which may be interrupted by one or more
 -O- groups;
R₇₁₅ is H, C₁₋₁₀ alkyl, or arylalkyl; or **R₄₁₅** and **R₇₁₅** can join together to
 25 form a ring;
R₈₁₅ is H or C₁₋₁₀ alkyl; or **R₇₁₅** and **R₈₁₅** can join together to form a ring;
Y is -O- or -S(O)₀₋₂;
v is 0 to 4; and
 each **R₁₅** present is independently selected from the group consisting of C₁₋
 30 ₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, hydroxy, halogen and trifluoromethyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393



XVI

wherein: X is $-\text{CHR}_{516}$ -, $-\text{CHR}_{516}\text{-alkyl-}$, or $-\text{CHR}_{516}\text{-alkenyl-}$;

- 5 **R**₁₁₆ is selected from the group consisting of:
- R₄₁₆-CR₃₁₆-Z-R₆₁₆-alkyl;
 - R₄₁₆-CR₃₁₆-Z-R₆₁₆-alkenyl;
 - R₄₁₆-CR₃₁₆-Z-R₆₁₆-aryl;
 - R₄₁₆-CR₃₁₆-Z-R₆₁₆-heteroaryl;
 - 10 -R₄₁₆-CR₃₁₆-Z-R₆₁₆-heterocyclyl;
 - R₄₁₆-CR₃₁₆-Z-H;
 - R₄₁₆-NR₇₁₆-CR₃₁₆-R₆₁₆-alkyl;
 - R₄₁₆-NR₇₁₆-CR₃₁₆-R₆₁₆-alkenyl;
 - R₄₁₆-NR₇₁₆-CR₃₁₆-R₆₁₆-aryl;
 - 15 -R₄₁₆-NR₇₁₆-CR₃₁₆-R₆₁₆-heteroaryl;
 - R₄₁₆-NR₇₁₆-CR₃₁₆-R₆₁₆-heterocyclyl; and
 - R₄₁₆-NR₇₁₆-CR₃₁₆-R₈₁₆;

Z is $-\text{NR}_{516}$ -, $-\text{O-}$, or $-\text{S-}$;

- 20 **R**₂₁₆ is selected from the group consisting of:
- hydrogen;
 - alkyl;
 - alkenyl;
 - aryl;
 - heteroaryl;
 - 25 -heterocyclyl;
 - alkyl-Y-alkyl;
 - alkyl-Y-alkenyl;
 - alkyl-Y-aryl; and

WO 03/020889

PCT/US02/27393

- alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected from the group consisting of:

- OH;
- halogen;
- N(R₅₁₆)₂;
- CO-N(R₅₁₆)₂;
- CO-C₁₋₁₀ alkyl;
- CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;
- N₃;
- aryl;
- heteroaryl;
- heterocyclyl;
- CO-aryl; and
- CO-heteroaryl;

R₃₁₆ is =O or =S;

R₄₁₆ is alkyl or alkenyl, which may be interrupted by one or more

-O- groups;

each R₅₁₆ is independently H or C₁₋₁₀ alkyl;

R₆₁₆ is a bond, alkyl, or alkenyl, which may be interrupted by one or more

-O- groups;

R₇₁₆ is H, C₁₋₁₀ alkyl, arylalkyl; or R₄₁₆ and R₇₁₆ can join together to form a ring;

R₈₁₆ is H or C₁₋₁₀ alkyl; or R₇₁₆ and R₈₁₆ can join together to form a ring;

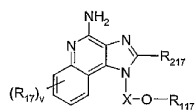
Y is -O- or -S(O)₀₋₂;

v is 0 to 4; and

each R₁₆ present is independently selected from the group consisting of C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, hydroxy, halogen, and trifluoromethyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393



XVII

wherein: X is $-\text{CHR}_{317}$ -, $-\text{CHR}_{317}$ -alkyl-, or $-\text{CHR}_{317}$ -alkenyl-;

5 R_{117} is selected from the group consisting of:

-alkenyl;

-aryl; and

$-\text{R}_{417}$ -aryl;

10 R_{217} is selected from the group consisting of:

-hydrogen;

-alkyl;

-alkenyl;

-aryl;

-heteroaryl;

15 -heterocyclyl;

-alkyl-Y-alkyl;

-alkyl-Y-alkenyl;

-alkyl-Y-aryl; and

20 -alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected from the group consisting of:

-OH;

-halogen;

$-\text{N}(\text{R}_{317})_2$;

$-\text{CO}-\text{N}(\text{R}_{317})_2$;

25 $-\text{CO}-\text{C}_{1-10}$ alkyl;

$-\text{CO}-\text{O}-\text{C}_{1-10}$ alkyl;

$-\text{N}_3$;

-aryl;

-heteroaryl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393

-heterocyclyl;
 -CO-aryl; and
 -CO-heteroaryl;

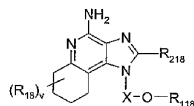
R₄₁₇ is alkyl or alkenyl, which may be interrupted by one or more
 -O- groups;

each **R₃₁₇** is independently H or C₁₋₁₀ alkyl;

each **Y** is independently -O- or -S(O)₀₋₂;

v is 0 to 4; and

each **R₁₇** present is independently selected from the group consisting of C₁₋
 10 alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, hydroxy, halogen and trifluoromethyl;



XVIII

15 wherein: **X** is -CHR₃₁₈-, -CHR₃₁₈-alkyl-, or -CHR₃₁₈-alkenyl-;

R₁₁₈ is selected from the group consisting of:

-aryl;
 -alkenyl; and
 -R₄₁₈-aryl;

20 **R₂₁₈** is selected from the group consisting of:

-hydrogen;
 -alkyl;
 -alkenyl;

25 -aryl;

-heteroaryl;
 -heterocyclyl;

-alkyl-Y-alkyl;

-alkyl-Y-aryl;

- alkyl-Y- alkenyl; and

WO 03/020889

PCT/US02/27393

- alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected from the group consisting of:

- OH;
- halogen;
- N(R₃₁₈)₂;
- CO-N(R₃₁₈)₂;
- CO-C₁₋₁₀ alkyl;
- CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;
- N₃;
- aryl;
- heteroaryl;
- heterocyclyl;
- CO-aryl; and
- CO-heteroaryl;

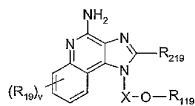
R₄₁₈ is alkyl or alkenyl, which may be interrupted by one or more -O- groups;

each R₃₁₈ is independently H or C₁₋₁₀ alkyl;

each Y is independently -O- or -S(O)_{0,2};

v is 0 to 4; and

each R₁₈ present is independently selected from the group consisting of C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, hydroxy, halogen and trifluoromethyl;



XIX

wherein: X is -CHR₃₁₉-, -CHR₃₁₉-alkyl-, or -CHR₃₁₉-alkenyl-;

R₁₁₉ is selected from the group consisting of:

- heteroaryl;
- heterocyclyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393

-R₄₁₉- heteroaryl; and-R₄₁₉-heterocyclyl;**R**₃₁₉ is selected from the group consisting of:

-hydrogen;

5

-alkyl;

-alkenyl;

-aryl;

-heteroaryl;

-heterocyclyl;

10

-alkyl-Y-alkyl;

-alkyl-Y- alkenyl;

-alkyl-Y-aryl; and

-alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected from the group consisting of:

15

-OH;

-halogen;

-N(R₃₁₉)₂;-CO-N(R₃₁₉)₂;-CO-C₁₋₁₀ alkyl;

20

-CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;-N₃;

-aryl;

-heteroaryl;

-heterocyclyl;

25

-CO-aryl; and

-CO-heteroaryl;

R₄₁₉ is alkyl or alkenyl, which may be interrupted by one or more

-O- groups;

each **R**₃₁₉ is independently H or C₁₋₁₀ alkyl;

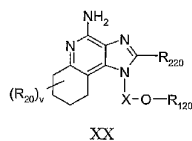
30

each **Y** is independently -O- or -S(O)_{0,2};**v** is 0 to 4; and

WO 03/020889

PCT/US02/27393

each R_{19} present is independently selected from the group consisting of C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, hydroxy, halogen and trifluoromethyl;



5

wherein: X is -CHR₃₂₀-, -CHR₃₂₀-alkyl-, or -CHR₃₂₀-alkenyl-;

R_{120} is selected from the group consisting of:

- 10
- heteroaryl;
 - heterocyclyl;
 - R₄₂₀-heteroaryl; and
 - R₄₂₀-heterocyclyl;

R_{220} is selected from the group consisting of:

- 15
- hydrogen;
 - alkyl;
 - alkenyl;
 - aryl;
 - heteroaryl;
 - heterocyclyl;
 - 20 -alkyl-Y-alkyl;
 - alkyl-Y-alkenyl;
 - alkyl-Y-aryl; and

-alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected from the group consisting of:

- 25
- OH;
 - halogen;
 - N(R₃₂₀)₂;
 - CO-N(R₃₂₀)₂;
 - CO-C₁₋₁₀ alkyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393

-CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;
 -N₃;
 -aryl;
 -heteroaryl;
 -heterocyclyl;
 -CO-aryl; and
 -CO-heteroaryl;

5

R₄₂₀ is alkyl or alkenyl, which may be interrupted by one or more
 -O- groups;

10

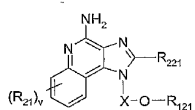
each R₃₂₀ is independently H or C₁₋₁₀ alkyl;

each Y is independently -O- or -S(O)_{0,2};

v is 0 to 4; and

each R₂₀ present is independently selected from the group consisting of C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, hydroxy, halogen and trifluoromethyl;

15



XXI

wherein: X is -CHR₅₂₁-, -CHR₅₂₁-alkyl-, or -CHR₅₂₁-alkenyl-;

20

R₁₂₁ is selected from the group consisting of:

-R₄₂₁-NR₃₂₁-SO₂-R₆₂₁-alkyl;
 -R₄₂₁-NR₃₂₁-SO₂-R₆₂₁-alkenyl;
 -R₄₂₁-NR₃₂₁-SO₂-R₆₂₁-aryl;
 -R₄₂₁-NR₃₂₁-SO₂-R₆₂₁-heteroaryl;
 -R₄₂₁-NR₃₂₁-SO₂-R₆₂₁-heterocyclyl;
 -R₄₂₁-NR₃₂₁-SO₂-R₇₂₁;
 -R₄₂₁-NR₃₂₁-SO₂-NR₅₂₁-R₆₂₁-alkyl;
 -R₄₂₁-NR₃₂₁-SO₂-NR₅₂₁-R₆₂₁-alkenyl;
 -R₄₂₁-NR₃₂₁-SO₂-NR₅₂₁-R₆₂₁-aryl;

25

WO 03/020889

PCT/US02/27393

-R₄₂₁-NR₃₂₁-SO₂-NR₅₂₁-R₆₂₁-heteroaryl;
 -R₄₂₁-NR₃₂₁-SO₂-NR₅₂₁-R₆₂₁-heterocyclyl; and
 -R₄₂₁-NR₃₂₁-SO₂-NH₂;

R₃₂₁ is selected from the group consisting of:

5 -hydrogen;
 -alkyl;
 -alkenyl;
 -aryl;
 -heteroaryl;
 10 -heterocyclyl;
 -alkyl-Y-alkyl;
 -alkyl-Y-alkenyl;
 -alkyl-Y-aryl; and
 -alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected
 15 from the group consisting of:
 -OH;
 -halogen;
 -N(R₅₂₁)₂;
 -CO-N(R₅₂₁)₂;
 20 -CO-C₁₋₁₀ alkyl;
 -CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;
 -N₃;
 -aryl;
 -heteroaryl;
 25 -heterocyclyl;
 -CO-aryl; and
 -CO-heteroaryl;

Y is -O- or -S(O)₀₋₂;

R₃₂₁ is H, C₁₋₁₀ alkyl, or arylalkyl;

30 each R₄₂₁ is independently alkyl or alkenyl, which may be interrupted by
 one or more -O- groups; or R₃₂₁ and R₄₂₁ can join together to form a ring;
 each R₅₂₁ is independently H, C₁₋₁₀ alkyl, or C₂₋₁₀ alkenyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393

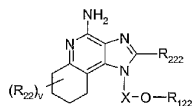
R_{621} is a bond, alkyl, or alkenyl, which may be interrupted by one or more -O- groups;

R_{721} is C_{1-10} alkyl; or R_{321} and R_{721} can join together to form a ring;

v is 0 to 4; and

5 each R_{21} present is independently selected from the group consisting of C_{1-10}

10 alkyl, C_{1-10} alkoxy, hydroxy, halogen and trifluoromethyl;



XXII

10

wherein: X is $-CHR_{522}-$, $-CHR_{522}-alkyl-$, or $-CHR_{522}-alkenyl-$;

R_{122} is selected from the group consisting of:

$-R_{422}-NR_{322}-SO_2-R_{622}-alkyl$;

$-R_{422}-NR_{322}-SO_2-R_{622}-alkenyl$;

15

$-R_{422}-NR_{322}-SO_2-R_{622}-aryl$;

$-R_{422}-NR_{322}-SO_2-R_{622}-heteroaryl$;

$-R_{422}-NR_{322}-SO_2-R_{622}-heterocyclyl$;

$-R_{422}-NR_{322}-SO_2-R_{722}$;

$-R_{422}-NR_{322}-SO_2-NR_{522}-R_{622}-alkyl$;

20

$-R_{422}-NR_{322}-SO_2-NR_{522}-R_{622}-alkenyl$;

$-R_{422}-NR_{322}-SO_2-NR_{522}-R_{622}-aryl$;

$-R_{422}-NR_{322}-SO_2-NR_{522}-R_{622}-heteroaryl$;

$-R_{422}-NR_{322}-SO_2-NR_{522}-R_{622}-heterocyclyl$; and

$-R_{422}-NR_{322}-SO_2-NH_2$;

25

R_{222} is selected from the group consisting of:

-hydrogen;

-alkyl;

-alkenyl;

-aryl;

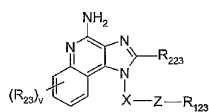
WO 03/020889

PCT/US02/27393

-heteroaryl;
 -heterocyclyl;
 -alkyl-Y-alkyl;
 -alkyl-Y-alkenyl;
 5 -alkyl-Y-aryl; and
 -alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected
 from the group consisting of:
 -OH;
 -halogen;
 10 -N(R₅₂₂)₂;
 -CO-N(R₅₂₂)₂;
 -CO-C₁₋₁₀ alkyl;
 -CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;
 -N₃;
 15 -aryl;
 -heteroaryl;
 -heterocyclyl;
 -CO-aryl; and
 -CO-heteroaryl;
 20 **Y** is -O- or -S(O)₀₋₂;
R₃₂₂ is H, C₁₋₁₀ alkyl, or arylalkyl;
 each **R**₄₂₂ is independently alkyl or alkenyl, which may be interrupted by
 one or more -O- groups; or **R**₃₂₂ and **R**₄₂₂ can join together to form a ring;
 each **R**₅₂₂ is independently H, C₁₋₁₀ alkyl, or C₂₋₁₀ alkenyl;
 25 **R**₆₂₂ is a bond, alkyl, or alkenyl, which may be interrupted by one or more -
 O- groups;
R₇₂₂ is C₁₋₁₀ alkyl; or **R**₃₂₂ and **R**₇₂₂ can join together to form a ring;
v is 0 to 4; and
 each **R**₂₂ present is independently selected from the group consisting of C<sub>1-
 30 10</sub> alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, hydroxy, halogen, and trifluoromethyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393



XXIII

wherein: X is $-\text{CHR}_{323}-$, $-\text{CHR}_{323}\text{-alkyl}-$, or $-\text{CHR}_{323}\text{-alkenyl}-$;

5 Z is $-\text{S}-$, $-\text{SO}-$, or $-\text{SO}_2-$;

R_{123} is selected from the group consisting of:

-alkyl;

-aryl;

-heteroaryl;

10 -heterocyclyl;

-alkenyl;

$-\text{R}_{423}\text{-aryl}$;

$-\text{R}_{423}\text{-heteroaryl}$;

$-\text{R}_{423}\text{-heterocyclyl}$;

15 R_{223} is selected from the group consisting of:

-hydrogen;

-alkyl;

-alkenyl;

-aryl;

20 -heteroaryl;

-heterocyclyl;

-alkyl-Y-alkyl;

-alkyl-Y-alkenyl;

-alkyl-Y-aryl; and

25 -alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected

from the group consisting of:

-OH;

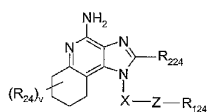
-halogen;

$-\text{N}(\text{R}_{323})_2$;

WO 03/020889

PCT/US02/27393

- 5
- CO-N(R₃₂₃)₂;
 - CO-C₁₋₁₀ alkyl;
 - CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;
 - N₃;
 - aryl;
 - heteroaryl;
 - heterocyclyl;
 - CO-aryl; and
 - CO-heteroaryl;
- 10
- each R₃₂₃ is independently H or C₁₋₁₀ alkyl;
 - each R₄₂₃ is independently alkyl or alkenyl;
 - each Y is independently -O- or -S(O)₀₋₂;
 - v is 0 to 4; and
 - each R₂₃ present is independently selected from the group consisting of C₁₋
- 15
- ₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, hydroxy, halogen and trifluoromethyl;



XXIV

- 20
- wherein: X is -CHR₃₂₄-, -CHR₃₂₄-alkyl-, or -CHR₃₂₄-alkenyl-;
 - Z is -S-, -SO-, or -SO₂-;
 - R₁₂₄ is selected from the group consisting of:
- 25
- alkyl;
 - aryl;
 - heteroaryl;
 - heterocyclyl;
 - alkenyl;
 - R₄₂₄-aryl;
 - R₄₂₄-heteroaryl; and

WO 03/020889

PCT/US02/27393

-R₄₂₄-heterocyclyl;**R₃₂₄** is selected from the group consisting of:

-hydrogen;

-alkyl;

5

-alkenyl;

-aryl;

-heteroaryl;

-heterocyclyl;

-alkyl-Y-alkyl;

10

-alkyl-Y-alkenyl;

-alkyl-Y-aryl; and

-alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected from the group consisting of:

-OH;

15

-halogen;

-N(R₃₂₄)₂;-CO-N(R₃₂₄)₂;-CO-C₁₋₁₀ alkyl;-CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;

20

-N₃;

-aryl;

-heteroaryl;

-heterocyclyl;

-CO-aryl; and

25

-CO-heteroaryl;

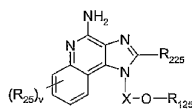
each **R₃₂₄** is independently H or C₁₋₁₀ alkyl;each **R₄₂₄** is independently alkyl or alkenyl;each **Y** is independently -O- or -S(O)₀₋₂;**v** is 0 to 4; and

30

each **R₂₄** present is independently selected from the group consisting of C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, hydroxy, halogen and trifluoromethyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393



XXV

wherein: X is $-\text{CHR}_{525}$ -, $-\text{CHR}_{625}$ -alkyl-, or $-\text{CHR}_{525}$ -alkenyl-;

5

R_{125} is selected from the group consisting of:

$-\text{R}_{425}-\text{NR}_{625}-\text{CR}_{325}-\text{NR}_{525}-\text{Z}-\text{R}_{625}$ -alkyl;

$-\text{R}_{425}-\text{NR}_{625}-\text{CR}_{325}-\text{NR}_{525}-\text{Z}-\text{R}_{625}$ -alkenyl;

$-\text{R}_{425}-\text{NR}_{625}-\text{CR}_{325}-\text{NR}_{525}-\text{Z}-\text{R}_{625}$ -aryl;

$-\text{R}_{425}-\text{NR}_{625}-\text{CR}_{325}-\text{NR}_{525}-\text{Z}-\text{R}_{625}$ -heteroaryl;

10

$-\text{R}_{425}-\text{NR}_{625}-\text{CR}_{325}-\text{NR}_{525}-\text{Z}-\text{R}_{625}$ -heterocyclyl;

$-\text{R}_{425}-\text{NR}_{625}-\text{CR}_{325}-\text{NR}_{525}\text{R}_{725}$;

$-\text{R}_{425}-\text{NR}_{625}-\text{CR}_{325}-\text{NR}_{925}-\text{Z}-\text{R}_{625}$ -alkyl;

$-\text{R}_{425}-\text{NR}_{625}-\text{CR}_{325}-\text{NR}_{925}-\text{Z}-\text{R}_{625}$ -alkenyl;

$-\text{R}_{425}-\text{NR}_{625}-\text{CR}_{325}-\text{NR}_{925}-\text{Z}-\text{R}_{625}$ -aryl;

15

$-\text{R}_{425}-\text{NR}_{625}-\text{CR}_{325}-\text{NR}_{925}-\text{Z}-\text{R}_{625}$ -heteroaryl; and

$-\text{R}_{425}-\text{NR}_{625}-\text{CR}_{325}-\text{NR}_{925}-\text{Z}-\text{R}_{625}$ -heterocyclyl;

R_{225} is selected from the group consisting of:

-hydrogen;

-alkyl;

20

-alkenyl;

-aryl;

-heteroaryl;

-heterocyclyl;

-alkyl-Y-alkyl;

25

-alkyl-Y-alkenyl;

-alkyl-Y-aryl; and

-alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected

from the group consisting of:

-OH;

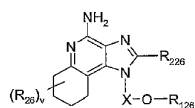
WO 03/020889

PCT/US02/27393

5 - halogen;
 -N(R₃₂₅)₂;
 -CO-N(R₃₂₅)₂;
 -CO-C₁₋₁₀ alkyl;
 -CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;
 -N₃;
 -aryl;
 -heteroaryl;
 -heterocyclyl;
 10 -CO-aryl; and
 -CO-heteroaryl;
 each R₃₂₅ is =O or =S;
 each R₄₂₅ is independently alkyl or alkenyl, which may be interrupted by
 one or more -O- groups;
 15 each R₅₂₅ is independently H or C₁₋₁₀ alkyl;
 R₆₂₅ is a bond, alkyl, or alkenyl, which may be interrupted by one or more
 -O- groups;
 R₇₂₅ is H or C₁₋₁₀ alkyl which may be interrupted by a hetero atom, or R₇₂₅
 can join with R₅₂₅ to form a ring;
 20 R₈₂₅ is H, C₁₋₁₀ alkyl, or arylalkyl; or R₄₂₅ and R₈₂₅ can join together to
 form a ring;
 R₉₂₅ is C₁₋₁₀ alkyl which can join together with R₈₂₅ to form a ring;
 each Y is independently -O- or -S(O)_{0,2}-;
 Z is a bond, -CO-, or -SO₂-;
 25 v is 0 to 4; and
 each R₂₅ present is independently selected from the group consisting of C₁₋₁₀
 alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, hydroxy, halogen and trifluoromethyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393



XXXVI

wherein: **X** is $-\text{CHR}_{526}-$, $-\text{CHR}_{526}\text{-alkyl-}$, or $-\text{CHR}_{526}\text{-alkenyl-}$;

5

R₁₂₆ is selected from the group consisting of:

$-\text{R}_{426}\text{-NR}_{826}\text{-CR}_{326}\text{-NR}_{526}\text{-Z-R}_{626}\text{-alkyl}$;

$-\text{R}_{426}\text{-NR}_{826}\text{-CR}_{326}\text{-NR}_{526}\text{-Z-R}_{626}\text{-alkenyl}$;

$-\text{R}_{426}\text{-NR}_{826}\text{-CR}_{326}\text{-NR}_{526}\text{-Z-R}_{626}\text{-aryl}$;

10

$-\text{R}_{426}\text{-NR}_{826}\text{-CR}_{326}\text{-NR}_{526}\text{-Z-R}_{626}\text{-heteroaryl}$;

$-\text{R}_{426}\text{-NR}_{826}\text{-CR}_{326}\text{-NR}_{526}\text{-Z-R}_{626}\text{-heterocyclyl}$;

$-\text{R}_{426}\text{-NR}_{826}\text{-CR}_{326}\text{-NR}_{526}\text{-R}_{726}$;

$-\text{R}_{426}\text{-NR}_{826}\text{-CR}_{326}\text{-NR}_{926}\text{-Z-R}_{626}\text{-alkyl}$;

$-\text{R}_{426}\text{-NR}_{826}\text{-CR}_{326}\text{-NR}_{926}\text{-Z-R}_{626}\text{-alkenyl}$;

$-\text{R}_{426}\text{-NR}_{826}\text{-CR}_{326}\text{-NR}_{926}\text{-Z-R}_{626}\text{-aryl}$;

15

$-\text{R}_{426}\text{-NR}_{826}\text{-CR}_{326}\text{-NR}_{926}\text{-Z-R}_{626}\text{-heteroaryl}$; and

$-\text{R}_{426}\text{-NR}_{826}\text{-CR}_{326}\text{-NR}_{926}\text{-Z-R}_{626}\text{-heterocyclyl}$;

R₂₂₆ is selected from the group consisting of:

-hydrogen;

-alkyl;

20

-alkenyl;

-aryl;

-heteroaryl;

-heterocyclyl;

-alkyl-Y-alkyl;

25

-alkyl-Y-alkenyl;

-alkyl-Y-aryl; and

-alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected

from the group consisting of:

-OH;

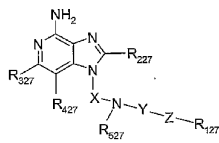
WO 03/020889

PCT/US02/27393

-halogen;
 -N(R₅₂₆)₂;
 -CO-N(R₅₂₆)₂;
 -CO-C₁₋₁₀ alkyl;
 5 -CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;
 -N₃;
 -aryl;
 -heteroaryl;
 -heterocyclyl;
 10 -CO-aryl; and
 -CO-heteroaryl;
 each R₃₂₆ is =O or =S;
 each R₄₂₆ is independently alkyl or alkenyl, which may be interrupted by
 one or more -O- groups;
 15 each R₅₂₆ is independently H or C₁₋₁₀ alkyl;
 R₆₂₆ is a bond, alkyl, or alkenyl, which may be interrupted by one or more
 -O- groups;
 R₇₂₆ is H or C₁₋₁₀ alkyl which may be interrupted by a hetero atom, or R₇₂₆
 can join with R₅₂₆ to form a ring;
 20 R₈₂₆ is H, C₁₋₁₀ alkyl, or arylalkyl; or R₄₂₆ and R₈₂₆ can join together to
 form a ring;
 R₉₂₆ is C₁₋₁₀ alkyl which can join together with R₈₂₆ to form a ring;
 each Y is independently -O- or -S(O)₀₋₂-;
 Z is a bond, -CO-, or -SO₂-;
 25 v is 0 to 4; and
 each R₂₆ present is independently selected from the group consisting of C₁₋₁₀
 alkyl, C₁₋₁₀ alkoxy, hydroxy, halogen, and trifluoromethyl;
 and pharmaceutically acceptable salts of any of the foregoing.
 Additional suitable 1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-4-amines include compounds
 30 defined by Formula XXVII

WO 03/020889

PCT/US02/27393



XXXVII

wherein
 5 X is alkylene or alkenylene;
 Y is -CO-, -CS-, or -SO₂-;
 Z is a bond, -O-, -S-, or -NR₅₂₇-;
 R₁₂₇ is aryl, heteroaryl, heterocyclyl, C₁₋₂₀ alkyl or
 C₂₋₂₀ alkenyl, each of which may be unsubstituted or substituted by one or more
 substituents independently selected from the group consisting of:

- 10 -alkyl;
 -alkenyl;
 -aryl;
 -heteroaryl;
 -heterocyclyl;
 15 -substituted cycloalkyl;
 -O-alkyl;
 -O-(alkyl)₀₋₁-aryl;
 -O-(alkyl)₀₋₁-heteroaryl;
 -O-(alkyl)₀₋₁-heterocyclyl;
 20 -COOH;
 -CO-O-alkyl;
 -CO-alkyl;
 -S(O)₀₋₂-alkyl;
 -S(O)₀₋₂-(alkyl)₀₋₁-aryl;
 25 -S(O)₀₋₂-(alkyl)₀₋₁-heteroaryl;
 -S(O)₀₋₂-(alkyl)₀₋₁-heterocyclyl;
 -(alkyl)₀₋₁-N(R₅₂₇)₂;
 -(alkyl)₀₋₁-NR₅₂₇-CO-O-alkyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393

- (alkyl)_{0,1}-NR₅₂₇-CO-alkyl;
 -(alkyl)_{0,1}-NR₅₂₇-CO-aryl;
 -(alkyl)_{0,1}-NR₅₂₇-CO-heteroaryl;
 -N₅;
 5 -halogen;
 -haloalkyl;
 -haloalkoxy;
 -CO-haloalkyl;
 -CO-haloalkoxy;
 10 -NO₂;
 -CN;
 -OH;
 -SH; and in the case of alkyl, alkenyl, and heterocyclyl, oxo;
 R₂₂₇ is selected from the group consisting of:
 15 -hydrogen;
 -alkyl;
 -alkenyl;
 -alkyl-O-alkyl;
 -alkyl-S-alkyl;
 20 -alkyl-O-aryl;
 -alkyl-S-aryl;
 -alkyl-O- alkenyl;
 -alkyl-S- alkenyl; and
 -alkyl or alkenyl substituted by one or more substituents selected
 25 from the group consisting of:
 -OH;
 -halogen;
 -N(R₅₂₇)₂;
 -CO-N(R₅₂₇)₂;
 30 -CS-N(R₅₂₇)₂;
 -SO₂-N(R₅₂₇)₂;
 -NR₅₂₇-CO-C₁₋₁₀ alkyl;

WO 03/020889

PCT/US02/27393

5
10

- NR₅₂₇-CS-C₁₋₁₀ alkyl;
- NR₅₂₇-SO₂-C₁₋₁₀ alkyl;
- CO-C₁₋₁₀ alkyl;
- CO-O-C₁₋₁₀ alkyl;
- N₃;
- aryl;
- heteroaryl;
- heterocyclyl;
- CO-aryl; and
- CO-heteroaryl;

R₃₂₇ and **R₄₂₇** are independently selected from the group consisting of hydrogen, alkyl, alkenyl, halogen, alkoxy, amino, alkylamino, dialkylamino and alkylthio;

15 each **R₅₂₇** is independently H or C₁₋₁₀alkyl; and pharmaceutically acceptable salts thereof.

20 As used herein, the terms "alkyl", "alkenyl" and the prefix "alk-" are inclusive of both straight chain and branched chain groups and of cyclic groups, i.e. cycloalkyl and cycloalkenyl. Unless otherwise specified, these groups contain from 1 to 20 carbon atoms, with alkenyl groups containing from 2 to 20 carbon atoms. Preferred groups have a total of up to 10 carbon atoms. Cyclic groups can be monocyclic or polycyclic and preferably have from 3 to 10 ring carbon atoms. Exemplary cyclic groups include cyclopropyl, cyclopropylmethyl, cyclopentyl, cyclohexyl and adamantyl.

25 The term "haloalkyl" is inclusive of groups that are substituted by one or more halogen atoms, including perfluorinated groups. This is also true of groups that include the prefix "halo-". Examples of suitable haloalkyl groups are chloromethyl, trifluoromethyl, and the like.

30 The term "aryl" as used herein includes carbocyclic aromatic rings or ring systems. Examples of aryl groups include phenyl, naphthyl, biphenyl, fluorenyl and indenyl. The term "heteroaryl" includes aromatic rings or ring systems that contain at least one ring hetero atom (e.g., O, S, N). Suitable heteroaryl groups include furyl, thienyl, pyridyl, quinolinyl, isoquinolinyl, indolyl, isoindolyl, triazolyl, pyrrolyl, tetrazolyl, imidazolyl, pyrazolyl, oxazolyl, thiazolyl, benzofuranyl, benzothiophenyl, carbazolyl, benzoxazolyl,

WO 03/020889

PCT/US02/27393

pyrimidinyl, benzimidazolyl, quinoxalyl, benzothiazolyl, naphthyridinyl, isoxazolyl, isothiazolyl, purinyl, quinazolyl, and so on.

5 “Heterocyclyl” includes non-aromatic rings or ring systems that contain at least one ring hetero atom (e.g., O, S, N) and includes all of the fully saturated and partially unsaturated derivatives of the above mentioned heteroaryl groups. Exemplary heterocyclic groups include pyrrolidinyl, tetrahydrofuranyl, morpholinyl, thiomorpholinyl, piperidinyl, piperazinyl, thiazolidinyl, imidazolidinyl, isothiazolidinyl, and the like.

Maturation of pDCs

10 The IRM compounds described above have been found to induce the maturation of plasmacytoid dendritic cells *ex vivo*. In general, mature pDCs display properties such as cytokine secretion, the expression of particular cell surface markers, and an enhanced ability to stimulate T-cells.

15 Plasmacytoid dendritic cells that can be matured using the method of the invention can be obtained from any suitable source. For example, the immature pDCs can be obtained by isolating pDCs from tissues such as blood or lymphoid tissues. One method of obtaining pDCs includes isolation of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from blood and then selectively enriching the sample for pDCs. As used herein, “enrich,” “enriching,” or “enriched” refers to any selective increase in the percentage of one cell type in a population over the percentage of the same cell type in a native sample. A cell population may be enriched by removing other cell types from a cell population. Alternatively, a desired cell type may be selectively removed from a cell population, undesired cells washed away, and the desired cells resuspended in an appropriate cell culture medium. The term “enriched” does not imply that a desired cell type makes up 20 any particular percentage of the relevant cell population.

25 The pDCs thus obtained will be in an immature state, generally possessing a high capability for antigen capture and processing, but relatively low T-cell stimulatory capacity. To acquire optimal T-cell stimulating capacity, the pDC must be in a stable, mature state. Mature pDCs can be identified by a number of properties, including their expression of certain cell surface markers such as CD40, CD80, CD86 and CCR7. Mature pDCs also exhibit typical behaviors during a mixed lymphocyte reaction including but not 30

WO 03/020889

PCT/US02/27393

limited to increased production of dendritic cell cytokines and induction of cytokine production by T-cells.

5 The methods of the invention generally include the maturation of pDCs in an isolated cell population by stimulating the pDCs with an IRM in an amount and for a time sufficient to cause the DC to mature. As used herein, "isolated" cell population refers to cells cultured *ex vivo*. The pDCs may be obtained from a subject by any suitable method including, for example, from a blood sample. The blood sample may be treated in some manner to enrich the percentage of pDCs in the isolated cell population, but such treatment is not required. Thus, "isolated" refers to isolation from the subject and does not relate to any standard of purity of pDCs with respect to any other cell types that may be present in the cell population. Tissue culture medium and conditions are readily determinable to those of skill in the art.

10 The specific amount of IRM used and the time of exposure will vary according to a number of factors that will be appreciated by those of skill in the art, including the origin of the pDCs to be matured, the potency and other characteristics of the IRM compound used, and so on. In some embodiments, the IRM may be used at a concentration of about 0.1 μM to about 100 μM . The IRM compound may be solubilized before being added to the pDC culture, preferably in water or a physiological buffer. However, if necessary the compound can be solubilized in a small amount of an organic solvent such as DMSO and then diluted or added directly to the pDC culture.

Use of IRM Matured Dendritic Cells

25 Dendritic cells that have been matured by exposure to certain IRMs have enhanced antigen presenting ability as compared to immature pDCs and can be used in a variety of ways to enhance the immune response of a subject. For example, the mature pDCs can be injected directly into a patient. In this case, it may be desirable that the patient be the source of the pDCs.

30 The pDCs also can be used in a number of immunotherapies. Examples of such therapies include *ex vivo* cell transplantation therapies for treating disorders of the immune system, such as AIDS; the *ex vivo* expansion of T-cells, particularly antigen specific T-cells which can then be used to treat disorders characterized by deterioration of the

WO 03/020889

PCT/US02/27393

immune system; the generation of monoclonal antibodies that recognize pDC-specific markers; the preparation of antigen-activated pDCs according to methods known in the art; and development of vaccines and vaccine adjuvants.

5 Preferred uses of pDCs that have been matured by exposure to one or more IRMs include those that make use of antigen-activated pDC and/or pDC-modified antigens. The antigen-activated pDC, or cellular adjuvants, of the invention are generally prepared by exposing pDC treated with an IRM to an antigen. The antigen may be protein, carbohydrate or nucleic acid in nature and may be derived from any suitable source, including but not limited to neoplastic cells (e.g., tumor cells), prions, and infectious agents (e.g., bacterium, virus, yeast, parasite). Alternatively, the antigen can be derived by
10 recombinant means.

The cellular adjuvant of the invention can be used in the treatment of diseases. For example, cellular adjuvants prepared by exposing pDCs to tumor-derived antigens can be administered to a patient, thereby provoking an anti-tumor immune response in the patient.
15 Similarly, infectious diseases can be treated by administering to the patient cellular adjuvants prepared by exposing the pDC to antigens derived from the infectious agent. The cellular adjuvants also may be used for treatment of non-infectious protein-related diseases including but not limited to Alzheimer's disease and certain forms of heart disease.

20 Plasmacytoid dendritic cells that have been treated by the method of the invention produce cytokines such as IFN- α that favor the generation of Th1 immune responses. The ability to bias the immune response towards Th1 immunity, as opposed to Th2 immunity, can provide a means for treatment of Th2 mediated diseases. Examples of such diseases include asthma; allergic rhinitis; systemic lupus erythematosus; eczema; atopic dermatitis
25 Ommen's syndrome (hypereosinophilia syndrome); certain parasitic infections such as cutaneous and systemic leishmaniasis, toxoplasma infection and trypanosome infection; certain fungal infections, for example candidiasis and histoplasmosis; and certain intracellular bacterial infections such as leprosy and tuberculosis.

In addition, the ability to induce IL-10 from T-cells can bias the immune response
30 towards a Th3-like response. Th3-like immunity results from the generation of IL-10 producing cells that down-regulate immune responses. These T-cells have also been

WO 03/020889

PCT/US02/27393

referred to as regulatory T-cells. The activation of pDC under some circumstances has resulted in the generation of regulatory T-cells which down-regulate effector T-cell function. The generation of such cells may be useful for treatment of disorders mediated solely, or at least in part, by T-cells. Examples of these diseases include, but are not limited to, psoriasis, inflammatory bowel disease, rheumatoid arthritis, diabetes, multiple sclerosis and other diseases associated with chronic T-cell activation.

Generally, the present invention involves treating a cell population of isolated plasmacytoid dendritic cells with an immune response modifier molecule that is an agonist of TLR-6, TLR-7 or TLR-8. Certain embodiments utilize an immune response modifier molecule that is an agonist of TLR-7. Treatment of isolated pDCs in this way induces a broad spectrum of biological activity. The present invention involves methods of treating pDCs to exhibit desired biological activities, methods of detecting desired biological activities, methods of screening cells possessing desired biological activities, cell populations enriched for cells possessing desired biological activities and methods of using enriched cell populations for therapeutic or prophylactic purposes.

In one embodiment, the present invention involves a method of inducing antigen presentation, *ex vivo*, of a particular antigen by plasmacytoid dendritic cells. The method includes exposing an isolated cell population to an antigen and treating the isolated cell population with an IRM. The IRM treatment enhances the ability of the pDCs to stimulate T-cells. One target for antigen presentation by pDCs is naive T-cells. Thus, one may detect the induction of antigen presentation in pDCs by IRM treatment by detecting one or more biological activities of T-cells that result from contact with a pDC that is presenting antigen. Suitable T-cell biological activities include but are not limited to production of IFN- γ and IL-10.

Thus, one method of detecting the induction of antigen presentation by pDCs includes detecting the production of IFN- γ , IL-10, or both by T-cells that have been contacted with pDCs that have been exposed to a particular antigen and treated with an IRM. T-cell production of IFN- γ can be associated with a Th1, or cell-mediated, immune response. IL-10 is one example of a cytokine produced by T-cells in association with a Th2, or humoral, immune response. T-cell production of IL-10 is also associated with a Th3, or regulatory, T-cell response. FIG. 1 shows the results of ELISA detection of IFN- γ production by T-cells in four subjects as a result of contact with pDCs treated with IRM.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

FIG. 2 shows the results of ELISA detection of IL-10 production by T-cells in four subjects as a result of contact with pDCs treated with IRM.

Isolated pDCs may be treated with any of the IRMs described above. Further, the antigen to which the pDCs are exposed may be any antigen against which a Th1 or Th2 immune response may be desired. Examples of suitable antigens include antigens derived from pathogens, antigens derived from neoplastic cells, and recombinant antigens, as well as other disease-related antigens. Thus, pDC presentation of pathogen antigens may provide therapy or prophylaxis against pathogenic diseases. Similarly, pDC presentation of antigens derived from neoplastic cells may provide therapy or prophylaxis against tumor-related diseases.

Treatment of a subject may include *ex vivo* antigen presentation by mature pDCs to naive T-cells, followed by administration into the subject of the activated T-cells, the antigen presenting pDCs, or both.

In another embodiment, the present invention provides a method of obtaining a population of mature plasmacytoid dendritic cells by *in vivo* treatment with an IRM followed by isolation of the matured pDCs from the subject. In certain embodiments, the matured pDCs are isolated from a blood sample taken from the subject. Mature pDCs obtained in this way may be useful for stimulating T-cells *ex vivo* against one or more antigens to which pDCs have been exposed *in vivo*, thereby providing the possibility of a subject-specific, antigen-specific therapy.

In another embodiment, the present invention provides a method of detecting cytokine production by isolated plasmacytoid dendritic cells in response to treatment with an IRM. The method includes treating an isolated population of pDCs with an IRM and detecting the production of one or more cytokines. Cytokines produced by pDCs in response to treatment with IRMs include but are not limited to IL-8, IP-10, IL-6, MIP-1 α and IFN- ω . Cytokine production may be detected by any one of several standard methods including but not limited to flow cytometry, ELISA, Western blot analysis, and detection of intracellular mRNA that encodes for a particular cytokine.

In another embodiment, the present invention provides a method for detecting expression of co-stimulatory markers by pDCs in response to treatment with an IRM. The method includes treating an isolated population of pDCs with an IRM and detecting the expression of one or more co-stimulatory markers. Examples of co-stimulatory markers

WO 03/020889

PCT/US02/27393

that may be detected following pDC treatment with an IRM include but are not limited to CD80, CD86 and CD40. Co-stimulatory marker expression may be detected, for example, by flow cytometry, immunohistochemistry, or detecting intracellular mRNA that encodes a particular co-stimulatory marker.

5 FIG. 3 shows flow cytometry analysis of co-stimulatory marker expression of pDCs treated with IRM compared to pDC expression of co-stimulatory markers when treated with cytokines IL-3 and IFN- α , each of which induces pDC survival.

Co-stimulatory markers are expressed on antigen-presenting cells including pDCs to aid antigen presentation to naive T-cells as well as activated and memory T-cells. Thus, 10 detection of expression of co-stimulatory markers may be desirable for detecting pDCs capable of antigen presentation. Also, expression of CCR7 correlates with pDC production of type I interferons and pDC maturation. In yet another embodiment, the present invention provides a method of enhancing survival of pDCs *in vitro*. The method includes treating a population of isolated pDCs with an IRM and incubating the cells 15 under conditions that promote pDC survival.

FIG. 4 compares pDC survival at 24 hours and 48 hours after treatment with and without IRM. At 48 hours, pDCs treated with IRM exhibited a statistically significant higher rate of survival. In certain embodiments, pDC survival after 48 hours when treated with IRM is greater than about 75%; in other embodiments, 48-hour survival is greater 20 than about 70%; in other embodiments, 48-hour survival after IRM treatment is greater than about 50%; and in other embodiments, 48-hour survival is greater than about 30%.

Enhanced survival of pDCs *in vitro* may be desirable when generating a pDC cell population for therapeutic or prophylactic use. Enhanced *in vitro* survival of pDCs in such cell populations may provide more effective therapy or prophylaxis and may reduce waste 25 associated with expired cell populations.

In yet another embodiment, the present invention provides a method of detecting expression of chemokine receptors by pDCs in response to treatment with an IRM. The method includes treating a population of isolated pDCs with an IRM and then detecting the expression of at least one chemokine receptor. Methods of detecting expression of 30 chemokine receptors include those methods described above useful for detecting expression of co-stimulatory markers and cytokines. One example of a chemokine receptor that is expressed in response to treatment of pDCs with an IRM is CCR7, which

WO 03/020889

PCT/US02/27393

is involved with homing mature pDCs to lymph nodes. FIG. 5 shows flow cytometry analysis of pDC expression of the chemokine receptor CCR7 when treated with IRM versus recombinant versions of pDC survival factors IL-3 and IFN- α .

5 The present invention also provides a method of preparing a population of pDCs that express a relatively high level of chemokine receptor. This method includes inducing chemokine receptor expression by treating a population of isolated pDCs with an IRM. The method also includes enriching the cell population for cells that express chemokine receptors.

10 Cells expressing chemokine receptors may migrate, *in vivo*, to secondary lymphoid tissue, where antigen presentation to T-cells can occur, thereby stimulating Th1 and Th2 immune responses. Antigen-specific pDCs expressing chemokine receptors may provide particularly useful therapeutic or prophylactic agents, either alone or as an adjuvant in a vaccine, for example. Thus the present invention provides a method of treating a disease that includes exposing a population of isolated pDCs to an antigen, treating the pDCs with
15 an IRM, enriching the treated cells for cells that express a chemokine receptor, and administering the enriched cell population to a patient.

Examples

20 The following examples have been selected merely to further illustrate features, advantages, and other details of the invention. It is to be expressly understood, however, that while the examples serve this purpose, the particular materials and amounts used as well as other conditions and details are not to be construed in a matter that would unduly limit the scope of this invention.

25 IRM, 4-amino-2-ethoxymethyl- α,α -dimethyl-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-1-ethanol, M.W. = 314.4, was dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO, sterile cell culture grade, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO) to form a 12 mM solution of that IRM. The IRM solutions were stored in aliquots at -20°C. Unless otherwise specified, IRM was added to cell cultures to a final concentration of 3 μ M.

30 Unless otherwise indicated, all pDC cell cultures were maintained in X-Vivo 20 medium (BioWhittaker, Inc., Walkersville, MD) at 37°C with 5% CO₂.

Antibodies used for positive selection and depletion of pDC include BDCA-2 and BDCA-4 microbeads (Miltenyi Biotec, Inc., Auburn, CA). Biotin-labeled monoclonal

WO 03/020889

PCT/US02/27393

antibodies were used to obtain pDC by negative selection; these include CD3, CD11b, CD11c, CD14, CD19, CD56 (Anncell Corp., Bayport, MN). Antibodies and fluorochrome-labeled reagents for flow cytometry include HLA-DR-PerCP, CD123 (IL-3-R α)-PE, CD80-PE, CD86-PE, CD40-PE, biotin-labeled CCR7, streptavidin-PE, TNF- α -FITC, 5 TNF- α -PE, IL-12p40/70-FITC, IL-12p40/70-PE (BD Pharmingen, San Diego, CA), IFN- α 2-FITC and IFN- α 2-PE (Chromaprobe Inc., Aptos, CA). Non-specific binding to Fc receptors was prevented using IgG (Whole molecule, Pierce Chemical Company, Rockford, IL) or FcR blocking reagent (Miltenyi Biotec, Inc.).

Intracellular flow cytometry was performed using the CytoStain Kit containing GolgiPlug (BD Pharmingen). 10

HSV-1 (MacIntyre) was obtained from American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA). LPS was obtained from Sigma Chemical Company, St. Louis, MO. Recombinant human cytokines IL-3 and rGM-CSF were obtained from R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN and rIFN- α F was obtained from PBL Biomedical Laboratories, 15 New Brunswick, NJ.

Example 1 - PBMC isolation

PMBCs were isolated from whole blood anti-coagulated with EDTA by density gradient centrifugation using Histopaque 1077 (Sigma Chemical Company, St. Louis, 20 MO) as recommended by the manufacturer. The isolated mononuclear cells were washed twice with Hank's Balanced Salts Solution (Celox Laboratories, Inc., St. Paul, MN) and resuspended in complete RPMI (cRPMI; RPMI 1640, 25mM HEPES, 1 mM sodium pyruvate, 0.1 mM non-essential amino acids, 1 mM L-glutamine, 1% penicillin/streptomycin, 5×10^{-5} M 2-mercaptoethanol and 10% heat-inactivated fetal calf 25 serum (FCS, Celox Laboratories, Inc. or Hyclone Laboratories, Inc., Logan, UT)) or X-Vivo 20 medium (BioWhittaker, Inc., Walkersville, MD).

Example 2 - Plasmacytoid DC isolation

Human pDCs were isolated from PBMC by immunomagnetic bead positive 30 selection according to the manufacturer's instructions (Miltenyi Biotec, Inc., Auburn, CA). Briefly, PBMC were incubated with pDC-specific antibodies, BDCA-2 or BDCA-4, and

WO 03/020889

PCT/US02/27393

the labeled cells were collected with a Miltenyi LS column. The positively selected cells were resuspended in X-Vivo 20 medium.

Human pDC were also enriched by negative selection from PBMC by depleting Lin⁺ cells. Briefly, PBMC isolated from 120 mL whole blood were resuspended in 1 mL PBS, 1% BSA, 1 mM EDTA and incubated with biotin-labeled antibodies specific for CD3, CD14, CD19, CD56 and in some cases CD11b and CD11c, at a final concentration of 100 µg/mL for each antibody. After 15 minutes of incubation at 6-12°C, the cells were washed and incubated with either streptavidin microbeads or anti-biotin microbeads for an additional 15 minutes at 6-12°C. After washing, the unlabeled fraction was collected on Miltenyi CS or LS columns and the cells were resuspended in X-Vivo 20. The pDC population, HLA-DR⁺/CD123^{HI}, was routinely 5-10% of the final preparation as compared to 0.1-0.5% of the starting PBMC population.

Example 3 - Intracellular cytokine detection determined by flow cytometry

Cells were incubated at 1×10^6 /mL in X-Vivo 20 medium (BioWhittaker, Inc.) and stimulated with IRM for 1 hour. After stimulation, 1 µL Brefeldin-A (GolgiPlug, BD Pharmingen, San Diego, CA) was added for every mL of cell culture medium. The cells were then incubated overnight at 37°C with 5% CO₂, not exceeding 12 hours. The cells were washed and resuspended in Pharmingen Stain Buffer-BSA (BD Pharmingen) two times. Fc receptors were blocked with ImmunoPure mouse IgG (Whole Molecule, Pierce Chemical Company) (100 mL/10⁶ cells in 100 µL of staining buffer for 15 minutes at 4°C). Cells were then washed with staining buffer and then stained for surface antigens (10 µL antibody in 50 µL staining buffer for 30 minutes at 4°C). Cells were then washed and resuspended in Cytotfix/Cytoperm (BD Pharmingen) to fix and permeabilize the cells. After washing with Perm/Wash solution (BD Pharmingen), the cells were stained for intracellular cytokines with anti-TNF-α or anti-IFN-α fluorochrome-labeled antibodies for 30-45 minutes at 4°C. Finally, the cells were washed and resuspended in staining Buffer and analyzed using a FACScan FLOW cytometer and CellQuest software (BD Biosciences, San Jose, CA).

30

WO 03/020889

PCT/US02/27393

Example 4 - Co-stimulatory Marker Expression determined by flow cytometry

BDCA-2 or BDCA-4 purified cells were treated 24 or 48 hours in X-Vivo 20 medium with 1000 U/mL rIL-3, 1000 U/mL rIFN- α or IRM.

5 Prior to staining, the cells were washed in Pharmingen Stain Buffer-BSA. The cells were then resuspended in Pharmingen Stain Buffer-BSA and fluorochrome-labeled antibodies specific to CD80, CD86, or CD40 were added. After 30 minutes at 4°C, the cells were washed and analyzed by flow cytometry.

Example 5 - Chemokine Receptor Expression determined by flow cytometry

10 BDCA-2 or BDCA-4 cells were purified and treated as described in Example 4, except that the fluorochrome-labeled antibodies were specific to CCR7.

Example 6 - Cytokine and Chemokine analysis by real-time (RT) PCR and ELISA

15 Cytokine and chemokine expression were evaluated by RT-PCR. PBMC and BDCA-2-purified pDC were stimulated in 24-well plates with 3 μ M IRM. Vehicle control cells were treated with DMSO. Cells were incubated for either one or two hours at 37°C. At the indicated times the cells were harvested by gently pipeting the cells into a 1.5 mL Eppendorf tube and centrifuging at 400 x g for 10 min at 4°C. The supernatant was removed from the tube and the cells were lysed with 1 mL of TRIzol (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA). RNA was purified from the samples and treated with DNase I (Invitrogen Corp.) to remove contaminating genomic DNA, after which the samples were re-extracted with TRIzol. Final pellets were suspended in 10 μ L of water. 1 μ L was diluted 1:100, and the RNA was quantified by absorbency (Abs₂₆₀).

25 The RNA was reverse-transcribed using SuperScript First Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen Corp.). Primers for quantitative PCR were generated using Primer Express (Applied Biosystems Group, Foster City, CA). Each primer set was designed to amplify genomic DNA and was tested against a sample of human genomic DNA to verify the amplicon size. The primer sets are shown in Table I. Quantitative PCR was performed on an ABI PRISM™ 7700 Sequence Detector (Applied Biosystems Group). Amplified products were detected using SYBR® Green PCR Master Mix
30 (Applied Biosystems Group). Each primer set was tested in triplicate for each sample.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

PCR was performed for thirty-five cycles for 15 seconds at 95°C and 1 minute at 60°C, preceded by incubation for 2 minutes at 50°C and 10 minutes at 95°C.

The instrument software calculated the number of cycles, designated C_t , required for the accumulated signal to reach a designated threshold value at least 10 standard deviations greater than the baseline. The C_t value is then proportional to the number of starting copies of the target sequence. Relative quantitation of gene expression was performed using the $\Delta\Delta C_t$ method (User Bulletin #2, Applied Biosystems Group). Briefly, the fold change in expression was calculated relative the expression of GAPDH using the following formula:

$$\text{Fold Change} = 2^{-(\Delta\Delta C_t)}$$

where $\Delta\Delta C_t = [C_t \text{ gene of interest (stimulated sample)} - C_t \text{ GAPDH (stimulated sample)}] - [C_t \text{ gene of interest (vehicle control)} - C_t \text{ GAPDH (vehicle control)}]$.

Cytokine and chemokine protein levels were measured from tissue culture supernatants or cell extracts by ELISA. Human TNF, IL-12, IL-10 (standard IL-10 assay and IL-10 Ultrasensitive), IL-6, IL-1RA, MCP-1, and Mip-1 α ELISA kits were obtained from BioSource International, Inc. (Camarillo, CA). Human Mip-3 α and Multi-Species IFN- α ELISA kits were obtained from R&D Systems (Minneapolis, MN) and PBL Biomedical Laboratories (New Brunswick, NJ), respectively. Human IP-10 ELISA kits were obtained from Cell Sciences, Inc. (Norwood, MA). All ELISA results are expressed in pg/mL. The limit of reliable detection for all ELISA assays is less than or equal to 40 pg/mL, except for IL-10 Ultrasensitive assay which is 1 pg/mL. The Multi-Species IFN- α ELISA assay specifically detects all of the human IFN- α subtypes, except IFN- α F (IFN- α 21).

25 Example 8 - T-cell activation assay

Frozen naïve cord blood CD4⁺/CD45RA⁺/CD45RO⁻ T-cells were obtained from AllCells LLC (Berkeley, CA) and thawed according to the manufacturer's recommendation. Briefly, frozen cells were thawed in a 37°C water bath and transferred to 15 mL conical tubes containing 300 μ g DNase I (Stemcell Technologies, Inc., Vancouver, British Columbia). X-Vivo 20 media (BioWhittaker, Inc., Walkersville, MD) was slowly added to the cells bringing the volume up to 15 mL. The cells were washed

WO 03/020889

PCT/US02/27393

two times by centrifugation at 200 x g for 15 minutes in X-Vivo 20 medium. Cells were finally resuspended in X-Vivo 20 medium at 2×10^6 cells/mL.

Plasmacytoid dendritic cells were prepared by positive selection with BDCA-4 microbeads (Miltenyi Biotec, Inc., Auburn, CA). The pDC were co-cultured with naïve cord blood T-cells at an enriched-pDC to T-cell ratio of 1:10 (1×10^5 pDC/mL: 1×10^6 T-cells/mL per well) in X-Vivo 20 medium. At the initiation of culture, the cells were treated with IL-3 [1000 U/mL], IFN- α [1000 U/mL], IRM or vehicle (DMSO). After 72 hr, cell-free supernatants were collected and analyzed for IFN- γ , IL-13 and IL-10 by ELISA.

10

Example 9 - Enhanced Survival

Isolated pDCs were obtained as described in Example 2. The isolated pDCs were incubated in with and without IRM. Cell viability was measured in both cultures by flow cytometry after 24 hours and again after 48 hours.

15

Example 10 - Chemokine Receptor Expression Screening

A population of pDCs can be obtained as described in Example 2. The pDC-containing cell population can be incubated at 1×10^6 /mL in X-Vivo 20 medium (BioWhittaker, Inc.) and stimulated with IRM (1 μ M - 10 μ M) for 1 hour. Chemokine expression can be determined according to the method of either Example 5 or Example 6.

20

Example 11 - Treatment Using pDC Population Enriched for Cells Expressing Chemokine Receptor

Plasmacytoid dendritic cells can be obtained from a patient as described in Example 2. The isolated pDCs can be co-stimulated with antigen (e.g., tetanus toxoid) and IRM (1 μ M - 10 μ M) from about 1 hour to about 24 hours.

25

Stimulated pDCs expressing high levels of chemokine receptor can be screened as described in Example 10. Plasmacytoid dendritic cells expressing high levels of chemokine receptors can be sorted by flow cytometry. The pDCs expressing chemokine receptor can be resuspended in X-Vivo 20 medium.

30

WO 03/020889

PCT/US02/27393

Plasmacytoid dendritic cells expressing the antigen and expressing high levels of chemokine receptor can be reintroduced to the patient intravenously or by subcutaneous immunization.

5 Statistical Methods

Figure 3 shows data that were examined separately for each co-stimulatory marker and time point.

Figure 4 shows an analysis of variance (ANOVA), with percent viable as the response variable and explanatory variables for donor and treatment, performed on the untransformed and arcsin-transformed data separately for 24 and 48 hour time points. Pairwise comparisons of IRM-treated cells to the control group were performed using the Dunnett adjustment to preserve the overall 0.05 level of significance. If there were discrepancies between the 2 methods, the results from the arcsin transformed data were reported.

15

The complete disclosures of the patents, patent documents and publications cited herein are incorporated by reference in their entirety as if each were individually incorporated. In case of conflict, the present specification, including definitions, shall control.

20

Various modifications and alterations to this invention will become apparent to those skilled in the art without departing from the scope and spirit of this invention. Illustrative embodiments and examples are provided as examples only and are not intended to limit the scope of the present invention. The scope of the invention is limited only by the claims set forth as follows.

25

WO 03/020889

PCT/US02/27393

Table 1. Real-time RT-PCR primer sets

Gene	Accession No.	Forward Primer	Reverse Primer
IL-6	M14584	AAGCAGCAAAGAGGCACTGG	GCATCCATCTTTTCAGCCATC
IL-10	M57627	TGAGACAGCTGCACCCACIT	GCTGAAGGCATCTCGGAGATC
IL-12p40	NM_002187	ACAACTTGCAGCTGAAGCCA	AGGTACTCCAGCTGACCTC
IL-1RA	NM_000577	GGTTGGTTCCTCTGCACAGC	GCCTTCGTCAGGCAATATTGGT
TNF- α	M10988	ATCAATCGCCCCGACTAICIC	CACAGGGCAATGATCCCAA
IP-10	NM_001565	TACGCTGTACTTGCATCAGCA	GACAAAATGGCTTGCAGGAAT
MCP-1	NM_002982	AGCAAAGTGTCCCAAAGAAGCTG	CAGATCTCCTTGGCCACAATG
MIP-1 α	NM_002983	AGCTACACCTCCCGGCAGAT	GGCTGCTCGTCTCAAAGTAGTCA
MIP-3 α	NM_004591	GCTGTCTTGGATACACAGACCGT	CACAGCCTTCAITGGCCAG
GAPDH		ACCCACTCTCCACCTTTGA	TGACAAAAGTGGTCTTGAGGG

WO 03/020889

PCT/US02/27393

What is Claimed is:

1. A method of enhancing antigen presentation by dendritic cells *in vitro*, the method comprising:
- (a) exposing an isolated dendritic cell population to an antigen;
 - 5 (b) contacting the isolated dendritic cell with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8; and
 - (c) allowing the dendritic cell to process and present the antigen.
- 10 2. The method of claim 1 wherein the antigen is derived from neoplastic cells, derived from an infectious agent, or is recombinantly derived.
3. The method of claim 1 wherein the immune response modifier molecule is an agonist of Toll-like receptor 7.
- 15 4. The method of claim 1 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines, imidazopyridine amines, 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, 1,2-bridged imidazoquinoline amines, thiazolo- and oxazolo- quinolinamines and pyridinamines, imidazonaphthyridine amines and
- 20 tetrahydroimidazonaphthyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
5. The method of claim 4 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines and 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
- 25 6. The method of claim 1 further comprising detecting the antigen presentation.
7. The method of claim 6 wherein detecting antigen presentation comprises:
- (a) contacting the activated dendritic cells with naive T-cells; and
 - 30 (b) detecting production of one or more cytokines that are produced by T-cells as a result of antigen presentation by dendritic cells.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

8. The method of claim 7 wherein the one or more cytokines comprise IFN- γ or IL-10.
9. The method of claim 1 wherein the dendritic cells are plasmacytoid dendritic cells.
- 5 10. An isolated dendritic cell population produced by the process of:
(a) exposing an isolated dendritic cell population to an antigen;
(b) contacting the isolated dendritic cell with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8; and
10 (c) allowing the dendritic cell to process and express the antigen.
11. The method of claim 10 wherein the immune response modifier molecule is an agonist of Toll-like receptor 7.
- 15 12. The method of claim 10 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines, imidazopyridine amines, 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, 1,2-bridged imidazoquinoline amines, thiazolo- and oxazolo- quinolinamines and pyridinamines, imidazonaphthyridine amines
20 and tetrahydroimidazonaphthyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
13. The method of claim 12 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines and 6,7-fused
25 cycloalkylimidazopyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
14. The cell population of claim 10 wherein the antigen is derived from neoplastic cells, derived from an infectious agent, or is recombinantly derived.
- 30 15. The cell population of claim 10 wherein the dendritic cells are plasmacytoid dendritic cells.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

16. A method of obtaining a population of mature dendritic cells, the method comprising:
- (a) administering an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8 to a subject in an amount effective to mature dendritic cells of the subject; and
- 5 (b) isolating the mature dendritic cells.
17. The method of claim 16 wherein the mature dendritic cells are isolated from a blood sample of the subject.
- 10 18. The method of claim 16 wherein the amount of immune response modifier molecule administered to the subject is at least 0.001 mg/kg.
19. The method of claim 16 wherein the dendritic cells are plasmacytoid dendritic cells.
- 15 20. A cell population obtained by the method of claim 16.
21. The method of claim 16 wherein the immune response modifier molecule is an agonist of Toll-like receptor 7.
- 20 22. The method of claim 16 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines, imidazopyridine amines, 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, 1,2-bridged imidazoquinoline amines, thiazolo- and oxazolo- quinolinamines and pyridinamines, imidazonaphthyridine amines and tetrahydroimidazonaphthyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
- 25 23. The method of claim 22 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines and 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
- 30

WO 03/020889

PCT/US02/27393

24. A method of detecting cytokine production by a plasmacytoid dendritic cell, the method comprising:
- (a) contacting an isolated plasmacytoid dendritic cell with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8 in an amount effective for inducing the plasmacytoid dendritic cell to produce one or more cytokines selected from IL-8, IP-10, IL-6, MIP-1 α , and IFN- ω ; and
 - (b) detecting production of at least one of the cytokines by the dendritic cell.
25. The method of claim 24 wherein the immune response modifier molecule is an agonist of Toll-like receptor 7.
26. The method of claim 24 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines, imidazopyridine amines, 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, 1,2-bridged imidazoquinoline amines, thiazolo- and oxazolo- quinolinamines and pyridinamines, imidazonaphthyridine amines and tetrahydroimidazonaphthyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
27. The method of claim 26 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines and 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
28. The method of claim 24 wherein the amount of immune response modifier molecule is provided at a concentration of at least about 0.001 μ M.
29. The method of claim 24 wherein the step of detecting production of at least one of the cytokines comprises detecting intracellular cytokine by flow cytometry.
30. The method of claim 24 wherein the step of detecting production of at least one of the cytokines comprises detecting extracellular cytokine.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

31. The method of claim 24 wherein the step of detecting production of at least one of the cytokines comprises using an enzyme-linked immunosorbent assay.
32. The method of claim 24 wherein the step of detecting production of at least one of the cytokines comprises detecting mRNA that encodes the cytokine in the plasmacytoid dendritic cell.
33. A method of detecting expression of co-stimulatory markers by plasmacytoid dendritic cells, the method comprising:
- 10 (a) contacting an isolated plasmacytoid dendritic cell with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8 in an amount effective for inducing the plasmacytoid dendritic cell to express one or more co-stimulatory marker; and
- (b) detecting the expression of at least one co-stimulatory marker by the
- 15 plasmacytoid dendritic cell.
34. The method of claim 33 wherein the immune response modifier molecule is an agonist of Toll-like receptor 7.
- 20 35. The method of claim 33 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines, imidazopyridine amines, 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, 1,2-bridged imidazoquinoline amines, thiazolo- and oxazolo- quinolinamines and pyridinamines, imidazonaphthyridine amines and tetrahydroimidazonaphthyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts
- 25 thereof.
36. The method of claim 35 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines and 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
- 30 37. The method of claim 33 wherein the amount of immune response modifier molecule is provided at a concentration of at least 0.001 μM .

WO 03/020889

PCT/US02/27393

38. The method of claim 33 wherein the co-stimulatory marker comprises CD80, CD86, CD40, or HLA-DR.
- 5 39. The method of claim 33 wherein the step of detecting expression of at least one co-stimulatory marker comprises using flow cytometry.
40. The method of claim 33 wherein the step of detecting expression of at least one co-stimulatory marker comprises immunological detection of at least one co-stimulatory
10 marker on the cell surface of a plasmacytoid dendritic cell.
41. The method of claim 33 wherein the step of detecting expression of at least one co-stimulatory marker comprises detecting mRNA that encodes the co-stimulatory marker in the plasmacytoid dendritic cell.
15
42. A method of enhancing survival of isolated plasmacytoid dendritic cells, the method comprising:
- (a) contacting a population of isolated plasmacytoid dendritic cells with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like
20 receptor 7 or Toll-like receptor 8 in an amount effective for enhancing survival of the plasmacytoid dendritic cells; and
- (b) incubating the plasmacytoid dendritic cells under conditions so that at least 30% of the plasmacytoid dendritic cell survive for at least 48 hours.
- 25 43. The method of claim 42 wherein at least 50% of the plasmacytoid dendritic cells survive for at least 48 hours.
44. The method of claim 42 wherein at least 70% of the plasmacytoid dendritic cells survive for at least 48 hours.
30
45. The method of claim 42 wherein at least 75% of the plasmacytoid dendritic cells survive for at least 48 hours.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

46. The method of claim 42 wherein the immune response modifier molecule is an agonist of Toll-like receptor 7.
- 5 47. The method of claim 42 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines, imidazopyridine amines, 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, 1,2-bridged imidazoquinoline amines, thiazolo- and oxazolo- quinolinamines and pyridinamines, imidazonaphthyridine amines and tetrahydroimidazonaphthyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
- 10
48. The method of claim 47 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines and 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
- 15
49. A method of detecting expression of chemokine receptors by plasmacytoid dendritic cells, the method comprising:
- (a) contacting an isolated plasmacytoid dendritic cell with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8 in an amount effective for inducing the plasmacytoid dendritic cell to express one or more chemokine receptors; and
- 20 (b) detecting expression of at least one chemokine receptor.
50. The method of claim 49 wherein the immune response modifier molecule is an agonist of Toll-like receptor 7.
- 25
51. The method of claim 49 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines, imidazopyridine amines, 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, 1,2-bridged imidazoquinoline amines, thiazolo- and oxazolo- quinolinamines and pyridinamines, imidazonaphthyridine amines and tetrahydroimidazonaphthyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
- 30

WO 03/020889

PCT/US02/27393

52. The method of claim 51 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines and 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
53. The method of claim 49 wherein the amount of immune response modifier is provided at a concentration of at least 0.001 μ M.
54. The method of claim 49 wherein the chemokine receptor is CCR7.
55. The method of claim 49 wherein the step of detecting expression of at least one chemokine receptor comprises detecting up-regulation of chemokine receptor expression or down-regulation of chemokine receptor expression.
56. The method of claim 55 wherein the step of detecting expression of at least one chemokine receptor comprises the use of flow cytometry.
57. The method of claim 55 wherein the step of detecting expression of at least one chemokine receptor comprises using an enzyme-linked immunosorbent assay.
58. The method of claim 55 wherein the step of detecting expression of at least one chemokine receptor comprises detecting mRNA that encodes the chemokine receptor in the plasmacytoid dendritic cells.
59. A method of identifying a compound that selectively induces production of a chemokine receptor by plasmacytoid dendritic cells, the method comprising:
- (a) obtaining a population of cells that includes both inflammatory cytokine producing cells and plasmacytoid dendritic cells;
 - (b) contacting the population of cells with a test compound;
 - (c) determining the amount of chemokine receptor present in the population of cells contacted with the test compound;

WO 03/020889

PCT/US02/27393

(d) determining the amount of inflammatory cytokine(s) present in the population of cells contacted with the test compound; and

5 (e) identifying the test compound as a selective inducer of the chemokine receptor if the chemokine receptor is present in the population of cells after contact with the test compound in an amount at least three times greater than the amount of inflammatory cytokine(s) present in the population of cells.

10 60. The method of claim 59 wherein the amount of chemokine receptor is determined by flow cytometry.

61. The method of claim 59 wherein the amount of inflammatory cytokine(s) is determined from culture supernatants using an enzyme-linked immunosorbent assay or a bioassay.

15 62. The method of claim 59 wherein the amounts of chemokine receptor and inflammatory cytokine(s) are determined using one or more methods selected from the group consisting of Northern blotting, Western blotting, and real-time PCR.

20 63. The method of claim 59 wherein the inflammatory cytokine is TNF- α or IL-12.

64. The method of claim 59 wherein the population of cells is contacted with the test compound at a concentration of from about 0.005 μ M to about 5 μ M.

25 65. A method of preparing a cell population enriched for cells that express a chemokine receptor, the method comprising:

(a) contacting an isolated plasmacytoid dendritic cell with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8 in an amount effective for inducing the plasmacytoid dendritic cell to express one or more chemokine receptor; and

30 (b) enriching the cell population for cells that express a chemokine receptor.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

66. The method of claim 65 wherein the immune response modifier molecule is an agonist of Toll-like receptor 7.
67. The method of claim 65 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines, imidazopyridine amines, 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, 1,2-bridged imidazoquinoline amines, thiazolo- and oxazolo- quinolinamines and pyridinamines, imidazonaphthyridine amines and tetrahydroimidazonaphthyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
68. The method of claim 67 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines and 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
69. The method of claim 65 wherein the step of enriching the cell population comprises selectively removing cells that do not express chemokine receptor from the cell population.
70. The method of claim 65 wherein the step of enriching the cell population comprises:
- (a) contacting the cell population with a substrate that selectively bind cells that express a chemokine receptor to a substrate;
 - (b) allowing the substrate to reversibly bind cells that express a chemokine receptor;
 - (c) removing unbound cells; and
 - (d) collecting the bound cells.
71. The method of claim 70 wherein the selective binding comprises adsorption or immunosorption.
72. The method of claim 65 wherein the chemokine receptor is CCR7.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

73. A population of plasmacytoid dendritic cells enriched for cells that express chemokine receptors prepared by the method of claim 65.
74. The cell population of claim 73 wherein the chemokine receptor is CCR7.
- 5
75. A method of treating a disease comprising:
- (a) contacting an isolated plasmacytoid dendritic cell with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8 in an amount effective for inducing the plasmacytoid dendritic cell to express one or more chemokine receptors;
- 10
- (b) contacting the population of plasmacytoid dendritic cells with an antigen associated with the disease;
- (c) enriching the cell population for cells expressing a high level of at least one chemokine receptor; and
- 15
- (d) administering the enriched cell population to a patient.
76. The method of claim 75 wherein the immune response modifier molecule is an agonist of Toll-like receptor 7.
- 20
77. The method of claim 75 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines, imidazopyridine amines, 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, 1,2-bridged imidazoquinoline amines, thiazolo- and oxazolo- quinolinamines and pyridinamines, imidazonaphthyridine amines and tetrahydroimidazonaphthyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
- 25
78. The method of claim 77 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines and 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
- 30
79. The method of claim 75 wherein the disease is a neoplastic disease and the antigen is derived from neoplastic cells.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

80. The method of claim 75 wherein the disease is caused by an infectious agent and the antigen is derived from the infectious agent.
- 5 81. The method of claim 75 wherein the antigen is recombinantly derived.
82. A method of preparing a cellular adjuvant for the treatment of a disease comprising:
- 10 (a) maturing plasmacytoid dendritic cells *in vitro* by treating the dendritic cells with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8; and
- (b) exposing the mature dendritic cells to an antigen associated with said disease.
- 15 83. The method of claim 82 wherein the immune response modifier molecule is an agonist of Toll-like receptor 7.
84. The method of claim 82 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines, imidazopyridine amines, 20 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, 1,2-bridged imidazoquinoline amines, thiazolo- and oxazolo- quinolinamines and pyridinamines, imidazonaphthyridine amines and tetrahydroimidazonaphthyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
- 25 85. The method of claim 84 wherein the immune response modifier molecule is selected from the group consisting of imidazoquinoline amines and 6,7-fused cycloalkylimidazopyridine amines, and pharmaceutically acceptable salts thereof.
86. The method of claim 82 wherein the disease is a neoplastic disease and the antigen 30 is derived from neoplastic cells.

WO 03/020889

PCT/US02/27393

87. The method of claim 82 wherein the disease is caused by an infectious agent and the antigen is derived from the infectious agent.
88. The method of claim 82 wherein the antigen is recombinantly derived.
- 5
89. A method of treating a disease comprising administering a therapeutically effective dose of the cellular adjuvant of claim 82 to a mammal in need of such treatment.
90. A cellular adjuvant prepared by the method of claim 82.
- 10
91. A method of treating a disease comprising administering a therapeutically effective dose of plasmacytoid dendritic cells that have been matured by stimulation with an immune response modifier molecule that is an agonist of Toll-like receptor 6, Toll-like receptor 7 or Toll-like receptor 8 to mammal in need of such treatment.
- 15
92. The method of claim 91 wherein the disease is a neoplastic disease.
93. The method of claim 91 wherein the disease is a Th2-mediated disease.

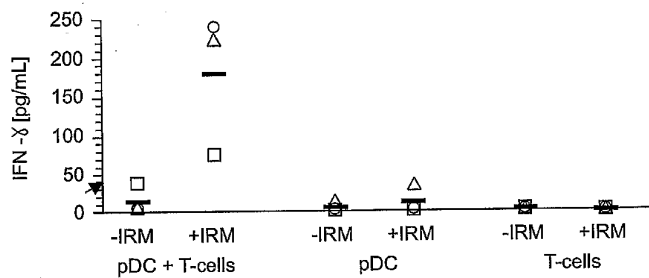


FIG. 1

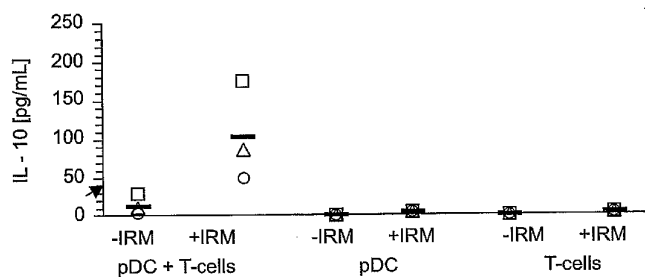
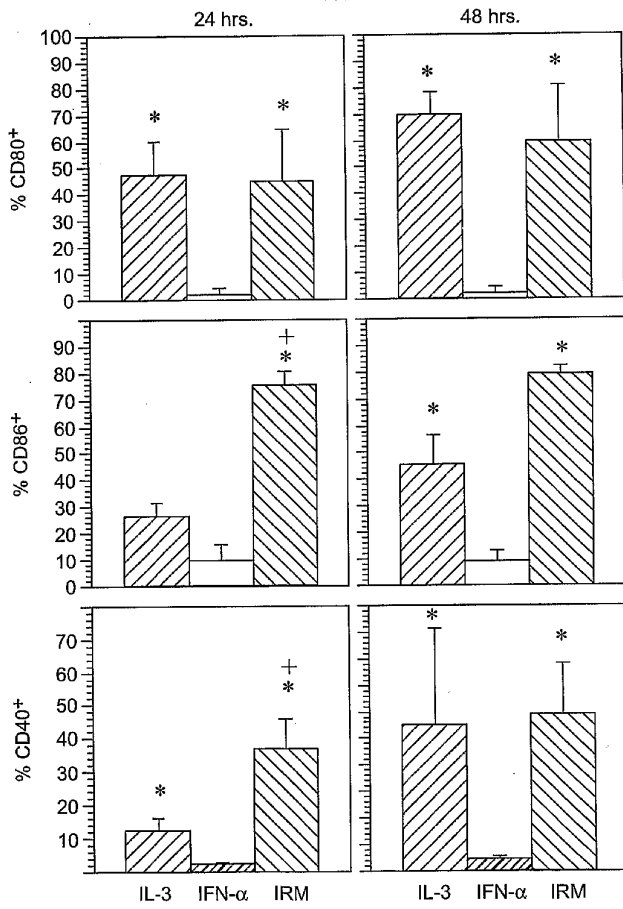


FIG. 2

WO 03/020889

PCT/US02/27393

2/3



* $P \leq 0.05$ compared to IFN- α -treated pDCs
† $P \leq 0.05$ compared to IL-3-treated pDCs

FIG. 3

WO 03/020889

PCT/US02/27393

3/3

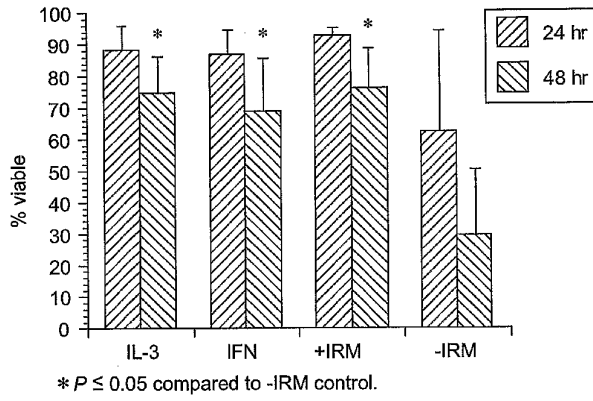


FIG. 4

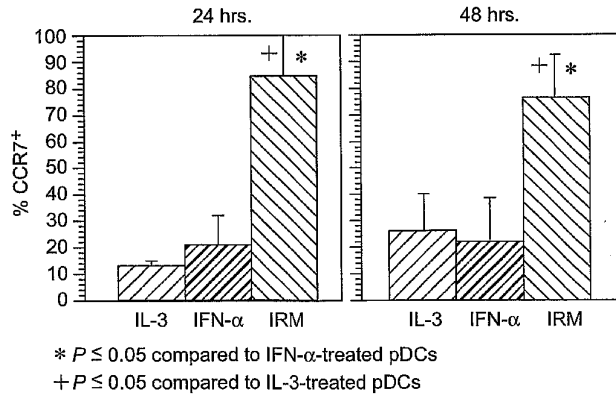


FIG. 5

【国際公開パンフレット(コレクトバージョン)】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization International Bureau



(43) International Publication Date 13 March 2003 (13.03.2003)

PCT

(10) International Publication Number WO 2003/020889 A3

(51) International Patent Classification: A61K 45/00, 47/00, 35/14, A01N 63/00, G01N 33/53, 33/555, 33/567, C12N 5/00, 5/02

TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(21) International Application Number: PCT/US2002/027393

Declarations under Rule 4.17:

(22) International Filing Date: 28 August 2002 (28.08.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 60/316,144 30 August 2001 (30.08.2001) US; 60/370,177 5 April 2002 (05.04.2002) US

as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii)) for the following designations AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW. ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW). Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM). European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR). OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant: 3M INNOVATIVE PROPERTIES COMPANY [US/US]; 3M Center, Post Office Box 33427, Saint Paul, MN 55133-3427 (US).

as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii)) for the following designations AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW. ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW). Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM). European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR). OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Inventors: TOMAL, Mark, A.; Post Office Box 33427, Saint Paul, MN 55133-3427 (US); VASILAKOS, John, P.; Post Office Box 33427, Saint Paul, MN 55133-3427 (US); STOLPA, John, C.; Post Office Box 33427, Saint Paul, MN 55133-3427 (US).

(74) Agents: GRAM, Christopher, D. et al.; Office of Intellectual Property Counsel, Post Office Box 33427, Saint Paul, MN 55133-3427 (US).

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT (utility model), AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ (utility model), DE (utility model), DK, DM, DZ, EC, EE (utility model), ES, FI (utility model), FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK (utility model), SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii)) for all designations; as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii)) for all designations

Published: with international search report

(88) Date of publication of the international search report: 22 January 2004

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK,

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: METHODS OF MATURING PLASMACYTOID DENDRITIC CELLS USING IMMUNE RESPONSE MODIFIER MOLECULES

(57) Abstract: The present invention relates to methods of maturing plasmacytoid dendritic cells using immune response modifier molecules. The present invention also relates to methods of detecting biological activities of matured plasmacytoid dendritic cells and methods of using mature plasmacytoid dendritic cells for therapeutic or prophylactic purposes.

WO 2003/020889 A3

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.		
		PCT/US02/27393		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER				
IPC(7) : A61K 45/00, 47/00, 35/14; A01N 63/00; G01N 33/53, 33/555, 33/567; (C12N 5/00, 5/02)				
US CL : 424/ 278.1, 93.71, 534; 435/ 7.24, 325; 514/885				
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
B. FIELDS SEARCHED				
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)				
U.S. : 424/ 278.1, 93.71, 534; 435/ 7.24, 325; 514/885				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched				
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)				
WEST, MEDLINE, SCISEARCH, BIOSIS, EMBASE, CAPLUS				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
Y	WO 98/17279 A1 (MINNESOTA MINING AND MANUFACTURING COMPANY) 30 April 1998, see entire document.	1-93		
Y	WO 03/47719 A2 (3M INNOVATIVE PROPERTIES COMPANY) 17 August 2000, see entire document.	1-93		
Y	AHONEN, C.L. et al. Dendritic Cell Maturation and Subsequent Enhanced T-Cell Stimulation Induced with the Novel Synthetic Immune Response Modifier R-848. Cell Immunol. October 1999, Vol. 197, No. 1, pages 62-72, see entire document.	1-93		
Y	VASILAKOS, J.P. et al. Adjuvant Activities of Immune Response Modifier R-848: Comparison with CpG ODN. Cell Immunol. 2000, Vol. 204, No.1, pages 64-74, see entire document.	1-93		
Y	BURNS, R.P. et al. The Jmidzoquinolines, Irigimod and R-848, Induced Functional, but Not Phenotypic, Maturation of Human Epidermal Langerhans' Cells. Clin. Immunol. January 2000, Vol. 94, No. 1, pages 13-23, see entire document.	1-93		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.				
* Special categories of cited documents: <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"B" earlier application or patent published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to underscore the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"Z" document member of the same patent family</p> </td> </tr> </table>			<p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"B" earlier application or patent published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to underscore the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"Z" document member of the same patent family</p>
<p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"B" earlier application or patent published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to underscore the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"Z" document member of the same patent family</p>			
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report		
07 June 2003 (07.06.2003)		13 JUN 2003		
Name and mailing address of the ISA/US		Authorized officer		
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703)305-3230		G. R. Ewert Telephone No. 703-308-0196		

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		PCT/US02/27393
C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GRABBE, S. et al. R848 Activates Immature Dendritic Cells In Vitro and Modulates the Sensitization and Effector Phase of Murine Contact Hypersensitivity (CHS) Responses. <i>J. Invest. Dermatol.</i> August 2001, Vol. 117, No. 2, page A447, Abstract No. 346, see entire document.	1-93
Y	GUNZER, M. et al. The immune response modifier R-848 is a Th1-polarizing agent for immature but not precursor murine dendritic cells. <i>Arch. Dermatol. Res.</i> February 2001, Vol. 293, No. 1-2, page A54, Abstract No. P45, see entire document.	1-93
Y	SUZUKI, H. et al. Imiquimod, a Topical Immune Response Modifier, Induces Migration of Langerhans Cells. <i>J. Invest. Dermatology.</i> January 2000, Vol. 114, No. 1, pages 153-141, see entire document.	1-93
Y	MILLER, R.L. et al. Treatment of primary herpes simplex virus infection in guinea pigs by imiquimod. <i>Antiviral Res.</i> November 1999, Vol. 44, No. 1, pages 31-42, see entire document.	1-93

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 25/28	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 31/00	A 6 1 P 31/00	
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/00	A 6 1 P 37/00	
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 37/02	
C 1 2 Q 1/02	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 Q 1/68	C 1 2 Q 1/68	Z
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/53	P

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, N O, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(74) 代理人 100082898

弁理士 西山 雅也

(72) 発明者 トマイ, マーク エー.

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7

(72) 発明者 バシラコス, ジョン ピー.

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7

(72) 発明者 ストルバ, ジョン シー.

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7

F ターム(参考) 4B063 QA01 QA18 QQ08 QQ53 QQ79 QR41 QS15

4B065 AA90 AC20 BD50 CA44 CA46

4C087 AA01 AA02 BB37 NA14 ZA02 ZA89 ZB07 ZB15 ZB26 ZB32

ZC35

专利名称(译)	使用免疫应答修饰分子使浆细胞样树突细胞成熟的方法		
公开(公告)号	JP2005501550A	公开(公告)日	2005-01-20
申请号	JP2003525593	申请日	2002-08-28
[标]申请(专利权)人(译)	明尼苏达州采矿制造公司		
申请(专利权)人(译)	3M创新公司		
[标]发明人	トマイマークエー バシラコスジョンピー ストルパジョンシー		
发明人	トマイ,マーク エー. バシラコス,ジョン ピー. ストルパ,ジョン シー.		
IPC分类号	G01N33/53 A61K35/14 A61K39/00 A61P1/04 A61P3/10 A61P17/06 A61P25/28 A61P29/00 A61P31/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/02 C07K14/705 C07K14/715 C12N5/02 C12N5/0784 C12Q1/02 C12Q1 /68 C12N5/06		
CPC分类号	A61K2039/5154 A61P1/04 A61P3/10 A61P17/06 A61P25/28 A61P29/00 A61P31/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/02 C07K14/705 C07K14/715 C12N5/0639 C12N2501/50 C12N2501/999 C12N2503/00 C12N2503/02		
FI分类号	C12N5/00.ZNA.E A61K35/14.Z A61P1/04 A61P3/10 A61P17/06 A61P25/28 A61P29/00.101 A61P31 /00 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/02 C12Q1/02 C12Q1/68.Z G01N33/53.P		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ08 4B063/QQ53 4B063/QQ79 4B063/QR41 4B063/QS15 4B065 /AA90 4B065/AC20 4B065/BD50 4B065/CA44 4B065/CA46 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BB37 4C087/NA14 4C087/ZA02 4C087/ZA89 4C087/ZB07 4C087/ZB15 4C087/ZB26 4C087/ZB32 4C087 /ZC35		
代理人(译)	青木 笃 石田 敬 西山雅也		
优先权	60/316144 2001-08-30 US 60/370177 2002-04-05 US		
其他公开文献	JP2005501550A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及使用免疫反应调节剂分子使浆细胞样树突细胞成熟的方法。本发明还涉及检测成熟浆细胞样树突细胞的生物活性的方法和使用成熟浆细胞样树突细胞用于治疗或预防目的的方法。

(5) Int. Cl. ⁷		F I		ターマコード (参考)	
C 1 2 N	5/06	C 1 2 N	5/00	Z N A E	4 B 0 6 3
A 6 1 K	35/14	A 6 1 K	35/14	Z	4 B 0 6 5
A 6 1 P	1/04	A 6 1 P	1/04		4 C 0 8 7
A 6 1 P	3/10	A 6 1 P	3/10		
A 6 1 P	17/06	A 6 1 P	17/06		
		審査請求	未請求	予備審査請求	有 (全 143 頁) 最終頁に続

(2) 出願番号	特願2003-525593 (P2003-525593)	(7) 出願人	599056437
(86) (2) 出願日	平成14年8月28日 (2002. 8. 28)		スリーエム インベティブ プロパティ
(85) 翻訳文提出日	平成16年8月1日 (2004. 3. 1)		ズ カンパニー
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/027393		アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 4 4 -
(87) 国際公開番号	W02003/020889		1 0 0 0, セント ポール, スリーエム
(87) 国際公開日	平成15年3月13日 (2003. 3. 13)		センター
(31) 優先権主張番号	60/316, 144	(74) 代理人	100099759
(32) 優先日	平成13年8月30日 (2001. 8. 30)		弁理士 青木 篤
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100077517
(31) 優先権主張番号	60/370, 177		弁理士 石田 敬
(32) 優先日	平成14年4月5日 (2002. 4. 5)	(74) 代理人	100087413
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 古賀 啓次
		(74) 代理人	100129517
			弁理士 栗田 博道

最終頁に続く