

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201992596 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.04.24

(22) Дата подачи заявки
2018.05.04

(51) Int. Cl. A61K 49/14 (2006.01)
A61K 51/08 (2006.01)
A61K 51/10 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К IGF-1R И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 62/502,288; 62/545,945

(32) 2017.05.05; 2017.08.15

(33) US

(86) PCT/US2018/031233

(87) WO 2018/204872 2018.11.08

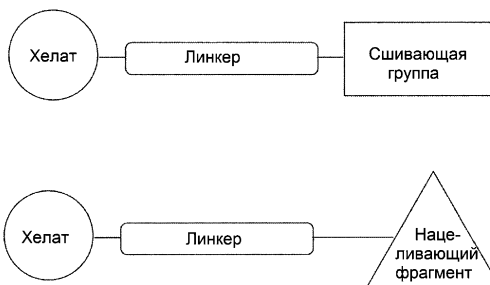
(88) 2018.12.13

(71) Заявитель:
ФБЮЖН ФАРМАСЬЮТИКАЛС
ИНК. (СА)

(72) Изобретатель:
Бурак Эрик Стивен, Форбс Джон
Ричард, Моран Мэтью Дэвид Бёрр,
Симмс Райан Уэйн, Вэллиант Джон
Фицморис (СА)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к конъюгатам, включающим хелатирующий фрагмент или его комплексное соединение с металлом и терапевтический или нацеливающий фрагмент, способам их получения и их применению.



A1

201992596

201992596

A1

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К IGF-1R И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

Родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет и преимущество на основании предварительной заявки на патент США № 62/502,288 под названием «МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К IGF-1R И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ», поданной 5 мая 2017 года, и предварительной заявки на патент США № 62/545,945 под названием «МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К IGF-1R И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ», поданной 15 августа 2017 года. Обе вышеуказанные заявки настоящим включены посредством ссылки во всей их полноте для всех целей.

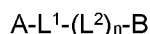
Уровень техники

Рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1R) рассматривается в качестве потенциальной терапевтической мишени при лечении рака. Настоящее изобретение относится к альтернативному способу эффективного использования IGF-1R путем доставки терапевтических радиоизотопов, обеспечивающих улучшенную противоопухолевую эффективность при существенно более низких дозах, чем в случае использования антитела отдельно.

Краткое описание изобретения

Настоящее изобретение относится к моноклональным антителам, нацеленным на рецептор инсулиноподобного фактора роста-1, и их радиоиммуноконъюгатам, которые демонстрируют улучшенную активность и усиливают экскрецию хелатирующего фрагмента или его комплексного соединения с металлом при конъюгировании с терапевтическим фрагментом, нацеливающим фрагментом или сшивающей группой.

Соответственно, в первом аспекте изобретение относится к соединению, имеющему структуру:



Формула I,

где A представляет собой хелатирующий фрагмент или его комплексное соединение с металлом;

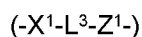
L¹ представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, замещенный C₁-C₆ гетероалкил, замещенный арил или гетероарил;

B представляет собой терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или сшивающую группу,

или его фармацевтически приемлемой соли;

n составляет 1-5;

каждый L² независимо имеет структуру:



Формула II,

где X¹ представляет собой C=O(NR¹), C=S(NR¹), OC=O(NR¹), NR¹C=O(O), NR¹C=O(NR¹), -CH₂PhC=O(NR¹), -CH₂Ph(NH)C=S(NR¹), O, NR¹, и R¹ представляет собой H или необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, или необязательно замещенный C₁-C₆ гетероалкил, замещенный арил или гетероарил; L³ представляет собой необязательно замещенный C₁-C₅₀ алкил или

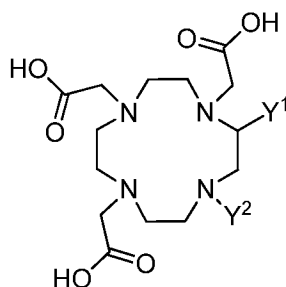
необязательно замещенный C₁-C₅₀ гетероалкил, или C₅-C₂₀ полиэтиленгликоль; Z¹ представляет собой CH₂, C=O, C=S, OC=O, NR¹C=O, NR¹, и R¹ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, пирролидин-2,5-дион.

В некоторых вариантах осуществления хелатирующий фрагмент представляет собой

- 5 DOTA (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусную кислоту), DOTMA (1R,4R,7R,10R)-α,α',α'',α'''-тетраметил-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусную кислоту, DOTAM (1,4,7,10-тетракис(карбамоилметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан), DOTPA (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрапропионовую кислоту), DO3AM-уксусную кислоту (2-(4,7,10-трис(2-амино-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)уксусную кислоту), ангидрид DOTA-
10 GA (2,2',2''-(10-(2,6-диоксотетрагидро-2H-пиран-3-ил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триил)триуксусную кислоту), DOTP (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраметиленфосфоновую кислоту), DOTMP (1,4,6,10-тетраазациклодекан-1,4,7,10-тетраметиленфосфоновую кислоту), DOTA-4AMP (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетракис(ацетамидо-метиленфосфоновую кислоту), CB-TE2A (1,4,8,11-
15 тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан-4,11-диуксусную кислоту), NOTA (1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триуксусную кислоту), NOTP (1,4,7-триазациклононан-1,4,7-три(метиленфосфоновую кислоту), ТЕТРА (1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1,4,8,11-тетрапропионовую кислоту), ТЕТА (1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1,4,8,11-тетрауксусную кислоту), НЕНА (1,4,7,10,13,16-гексаазациклогексадекан-1,4,7,10,13,16-гексауксусную кислоту), РЕРА (1,4,7,10,13-
20 пентаазациклопентадекан-N,N',N'',N''',N''''-пентауксусную кислоту), H₄Ocтаpa (N,N'-бис(6-карбокси-2-пиридилметил)-этилендиамин-N,N'-диуксусную кислоту), H₂Dedpa (1,2-[[6-(карбокси)-пиридин-2-ил]-метиламино]этан), H₆phospa (N,N'-(метиленфосфонат)-N,N'-[6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил]-метил-1,2-диаминоэтан), ТТНА (триэтилететрамин-N,N,N',N'',N''',N''''-гексауксусную кислоту), DO2P (тетраазациклододекадиметанфосфоновую кислоту), HP-DO3A
25 (гидроксипропилтетраазациклододекантриуксусную кислоту), EDTA (этилендиаминтетрауксусную кислоту), дефероксамин, DTPA (диэтилентриаминпентауксусную кислоту), DTPA-BMA (диэтилентриаминпентауксусной кислоты бисметиламид), HOPO (октадентат на основе гидроксипиридинов) или порфирин.

- 30 Специалисту в данной области техники ясно, что использование хелатирующих фрагментов при осуществлении изобретения не ограничивается конкретными конструкциями, раскрытыми в настоящем документе, а напротив, может включать другие известные хелатирующие фрагменты.

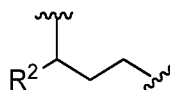
В некоторых вариантах осуществления хелатирующий фрагмент имеет структуру:



- 35 где Y¹ представляет собой -CH₂OCH₂(L²)_n-B, C=O(L²)_n-B или C=S(L²)_n-B, и Y² представляет собой -CH₂CO₂H;

где Y¹ представляет собой H, Y² представляет собой L¹-(L²)_n-B.

В некоторых вариантах осуществления L¹ имеет структуру:



Формула III,

где R² представляет собой необязательно замещенный водород или –CO₂H.

В некоторых вариантах осуществления металл может быть выбран из Bi, Pb, Y, Mn, Cr, Fe, Co, Zn, Ni, Tc, In, Ga, Cu, Re, Sm, лантаноида или актиноида, для применения в качестве визуализирующих или терапевтических агентов. Конкретные примеры радионуклидов, подходящих для образования комплекса с соединением формулы (I), включают ⁴⁷Sc, ⁵⁵Co, ⁶⁰Cu, ⁶¹Cu, ⁶²Cu, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ⁶⁶Ga, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ⁸²Rb, ⁸⁶Y, ⁸⁷Y, ⁹⁰Y, ⁹⁷Ru, ¹⁰⁵Rh, ¹⁰⁹Pd, ¹¹¹In, ^{117m}Sn, ¹⁴⁹Pm, ¹⁴⁹Tb, ¹⁵³Sm, ¹⁷⁷Lu, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁹⁹Au, ²⁰¹Tl, ²⁰³Pb, ²¹²Pb, ²¹²Bi, ²¹³Bi, ²²⁵Ac и ²²⁷Th.

В некоторых вариантах осуществления В представляет собой терапевтический фрагмент или нацеливающий фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления терапевтический фрагмент или нацеливающий фрагмент представляет собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент или другой нацеливающий белок, такой как нанотела, аффитела и консенсусные последовательности из доменов фибронектина III типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1R), например, представляет собой фигитумумаб, циксутумумаб, ганитумаб, AVE1642 (также известное как гуманизированное EM164 и huEM164), BII002, робатумумаб и тепротумумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой AVE1642.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антитело-связывающий фрагмент включает переменный домен легкой цепи, включающий по меньшей мере одну, две или все три определяющие комплементарность области (CDR), выбранные из:

- (a) CDR-L1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1;
- (b) CDR-L2, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; и
- (c) CDR-L3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антитело-связывающий фрагмент включает переменный домен тяжелой цепи, включающий по меньшей мере одну, две или все три CDR, выбранные из:

- (a) CDR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5;
- (b) CDR-H2, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; и
- (c) CDR-H3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7.

В отдельных вариантах осуществления антитело или его антитело-связывающий фрагмент включает переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, включающие по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или все шесть CDR, выбранные из:

- (a) CDR-L1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1;
- (b) CDR-L2, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2;
- (c) CDR-L3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3;
- (d) CDR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5;
- (e) CDR-H2, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; и

(f) CDR-H3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7.

В других вариантах осуществления вариабельный домен тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.

В некоторых вариантах осуществления вариабельный домен легкой цепи включает
5 аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

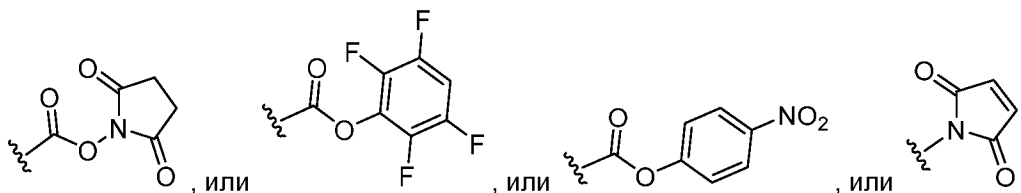
В некоторых вариантах осуществления сшивающая группа представляет собой аминокислотную сшивающую группу, метионинреактивную сшивающую группу, тиолреактивную сшивающую группу или опосредованную сортазой связывающую последовательность.

В некоторых вариантах осуществления аминокислотная, метионинреактивная или
10 тиолреактивная сшивающая группа содержит активированный сложный эфир, такой как сложный эфир гидроксисукцинимид, N-гидроксисульфосукцинимид, сложный эфир 2,3,5,6-тетрафторфенола, сложный эфир 4-нитрофенола, или имидат, ангидрид, тиол, дисульфид, малеимид, азид, алкин, напряженный алкин, напряженный алкен, галоген, сульфонат, галогенацетил, амин, гидразид, диазирин, фосфин, тетразин, изотиоцианат или оксазиридин.

В некоторых вариантах осуществления последовательность распознавания сортазой может
15 состоять из концевой аминокислотной последовательности глицин-глицин-глицин (GGG) и/или LPTXG, где X представляет собой любую аминокислоту.

Специалисту в данной области техники ясно, что использование сшивающих групп при
20 осуществлении изобретения не ограничивается конкретными конструкциями, раскрытыми в настоящем документе, а напротив, может включать другие известные сшивающие группы.

В некоторых вариантах осуществления сшивающая группа выбрана из группы, состоящей из:



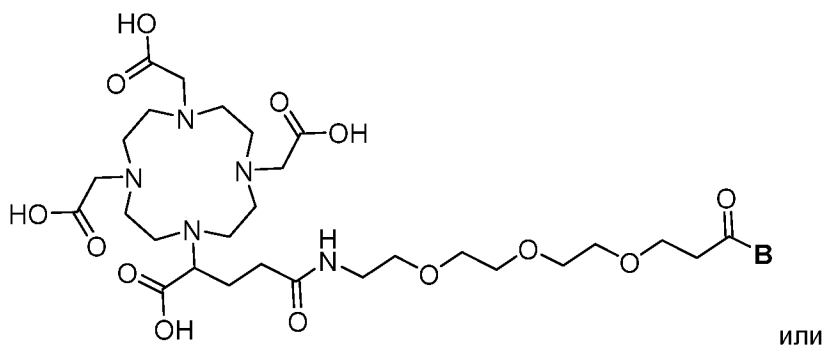
25 В некоторых вариантах осуществления Y^1 представляет собой H.

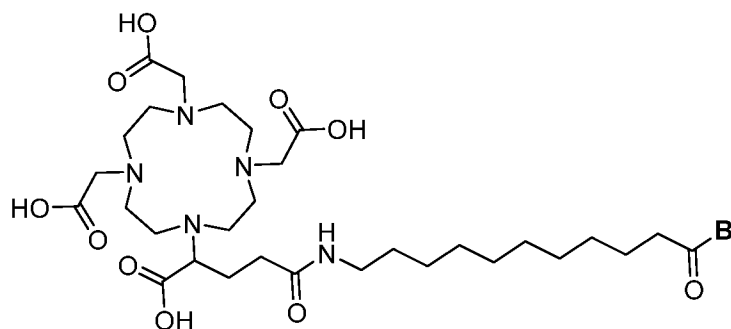
В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой $C=O(NR^1)$, и R^1 представляет собой H.

В некоторых вариантах осуществления Z^1 представляет собой $-CH_2$.

В некоторых вариантах осуществления L^2 имеет значение n, равное 1.

30 В некоторых вариантах осуществления соединение выбрано из группы, состоящей из:





В некоторых вариантах осуществления металл представляет собой радионуклид.

В некоторых вариантах осуществления радионуклид представляет собой ^{111}In .

5 В некоторых вариантах осуществления радионуклид представляет собой ^{68}Ga .

В некоторых вариантах осуществления радионуклид представляет собой ^{86}Y .

В некоторых вариантах осуществления металл представляет собой радионуклид, испускающий бета-излучение.

10 В некоторых вариантах осуществления радионуклиды представляют собой ^{67}Cu , ^{177}Lu или ^{90}Y .

В некоторых вариантах осуществления металл представляет собой радионуклид, испускающий альфа-излучение.

В некоторых вариантах осуществления радионуклид представляет собой ^{225}Ac , ^{212}Pb , ^{227}Th или продукты их распада (дочерние изотопы).

15 Еще один аспект изобретения относится к фармацевтической композиции, включающей любое из вышеуказанных соединений и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

20 Еще один аспект изобретения относится к способу планирования радиационной терапии и/или радиационной терапии, включающему введение нуждающемуся в этом субъекту любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций.

25 Еще один аспект изобретения относится к способу выявления и/или лечения рака, включающему введение нуждающемуся в этом субъекту первой дозы любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций в количестве, эффективном для планирования радиационной терапии, с последующим введением дополнительных доз любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций в терапевтически эффективном количестве.

В некоторых вариантах осуществления соединение или композиция, вводимые в первой дозе, и соединение или композиция, вводимые во второй дозе, или последующих дозах, являются одинаковыми.

30 В некоторых вариантах осуществления соединение или композиция, вводимые в первой дозе, и соединение или композиция, вводимые во второй дозе, или последующих дозах, являются разными.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль или гематологический рак (гемобластоз).

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак молочной железы, немелкоклеточный рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, рак поджелудочной железы, рак головы и шеи, рак предстательной железы, колоректальный рак, саркому, аденокарциному, нейроэндокринный рак, саркому Юинга, множественную миелому или острый миелоидный лейкоз.

В некоторых вариантах осуществления вышеуказанные способы дополнительно включают введение антипролиферативного агента, радиосенсибилизатора или иммуномодулирующего агента.

В некоторых вариантах осуществления любое из вышеуказанных соединений или содержащих их композиций, и антипролиферативный агент или радиосенсибилизатор вводят с интервалом в 28 дней (например, с интервалом в 14, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 день (дней)).

В некоторых вариантах осуществления любое из вышеописанных соединений или содержащих их композиций, и иммуномодулирующий или иммуномодулирующий агент вводят с интервалом в 90 дней (например, с интервалом в 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5, 4, 3, 2 или 1 день (дней)).

Еще один аспект изобретения относится к способу получения радиоконъюгата (например, любого из радиоконъюгатов, описанных в настоящем документе). Способ включает стадии (a) конъюгирования бифункционального хелата с биологической молекулой, (b) очистки конъюгата, полученного на стадии (a), и (c) хелатирования одного или более радионуклидов (например, одного или более радионуклидов Ac-225) с очищенным конъюгатом со стадии (b) при температуре менее 35 °C (например, 20-25 °C) с получением радиоконъюгата (например, радиоконъюгата актиния).

В некоторых вариантах осуществления радиоконъюгат представляет собой радиоиммуноконъюгат (например, любой из радиоиммуноконъюгатов, описанных в настоящем документе).

В некоторых вариантах осуществления pH реакционной смеси на стадии (a) конъюгирования составляет менее 6,4 (например, 6,3, 6,2, 6,1, 6,0, 5,9 или 5,8, или менее).

В некоторых вариантах осуществления pH реакционной смеси на стадии (c) конъюгирования составляет менее 5,5 (например, 5,4, 5,3, 5,2, 5,1 или 5,0, или менее) или более 7,0 (например, 7,1, 7,2, 7,3, 7,4, 7,5 или более).

В некоторых вариантах осуществления температура реакционной смеси на стадии (c) конъюгирования составляет 20-34 °C (например, 21 °C, 22 °C, 23 °C, 24 °C, 25 °C, 26 °C, 27 °C, 28 °C, 29 °C, 30 °C, 31 °C, 32 °C, 33 °C или 34 °C).

Химические термины:

Термин «ацил» в контексте настоящего документа относится к водороду или алкильной группе (например, галогеналкильной группе), как определено в настоящем документе, которая присоединена к исходной молекулярной группе через карбонильную группу, как определено в настоящем документе, например, формулу (т. е., карбоксиальдегидной группе), ацетилу, трифторацетилу, пропионилу, бутаноилу и тому подобному. Иллюстративные незамещенные ацильные группы включают от 1 до 7, от 1 до 11 или от 1 до 21 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления алкильная группа дополнительно замещена 1, 2, 3 или 4 заместителями, как описано в настоящем документе.

Термин «алкил» в контексте настоящего документа включает насыщенные группы как с прямой, так и с разветвленной цепью, содержащие от 1 до 20 атомов углерода (например, от 1 до 10 или от 1 до 6), если не указано иное. Примерами алкильных групп являются метил, этил, н- и изопропил, н-, втор-, изо- и трет-бутил, неопентил и тому подобное, и они могут быть необязательно замещены одним, двумя, тремя или, в случае алкильных групп из двух или более атомов углерода, четырьмя заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из: (1) C₁₋₆ алкокси; (2) C₁₋₆ алкилсульфинила; (3) amino, как определено в настоящем документе (например, замещенной аминогруппы (т. е., -NH₂) или незамещенной аминогруппы (т. е., -N(R^{N1})₂, где R^{N1} представляет собой такой, как определено для аминогруппы); (4) C₆₋₁₀ арил-C₁₋₆ алкокси; (5) азидо; (6) гало; (7) (C₂₋₉ гетероциклил)окси; (8) гидрокси, необязательно замещенной O-защитной группой; (9) нитро; (10) оксо (например, карбоксиальдегида или ацила); (11) C₁₋₇ спироциклила; (12) тиаалкокси; (13) тиола; (14) -CO₂R^{A'}, необязательно замещенной O-защитной группой, где R^{A'} выбран из группы, состоящей из (a) C₁₋₂₀ алкила (например, C₁₋₆ алкила), (b) C₂₋₂₀ алкенила (например, C₂₋₆ алкенила), (c) C₆₋₁₀ арила, (d) водорода, (e) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила, (f) amino-C₁₋₂₀ алкила, (g) полиэтиленгликоля формулы -(CH₂)_{s2}(OCH₂CH₂)_{s1}(CH₂)_{s3}OR', где s1 представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из s2 и s3 независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и R' представляет собой H или C₁₋₂₀ алкил, и (h) аминополиэтиленгликоля формулы -NR^{N1}(CH₂)_{s2}(CH₂CH₂O)_{s1}(CH₂)_{s3}NR^{N1}, где s1 представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из s2 и s3 независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и каждый R^{N1} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C₁₋₆ алкил; (15) -C(O)NR^{B'}R^{C'}, где каждый из R^{B'} и R^{C'} независимо выбран из группы, состоящей из (a) водорода, (b) C₁₋₆ алкила, (c) C₆₋₁₀ арила и (d) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила; (16) -SO₂R^{D'}, где R^{D'} выбран из группы, состоящей из (a) C₁₋₆ алкила, (b) C₆₋₁₀ арила, (c) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила, и (d) гидрокси; (17) -SO₂NR^{E'}R^{F'}, где каждый из R^{E'} и R^{F'} независимо выбран из группы, состоящей из (a) водорода, (b) C₁₋₆ алкила, (c) C₆₋₁₀ арила и (d) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила; (18) -C(O)R^{G'}, где R^{G'} выбран из группы, состоящей из (a) C₁₋₂₀ алкила (например, C₁₋₆ алкила), (b) C₂₋₂₀ алкенила (например, C₂₋₆ алкенила), (c) C₆₋₁₀ арила, (d) водорода, (e) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила, (f) amino-C₁₋₂₀ алкила, (g) полиэтиленгликоля формулы -(CH₂)_{s2}(OCH₂CH₂)_{s1}(CH₂)_{s3}OR', где s1 представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из s2 и s3 независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и R' представляет собой H или C₁₋₂₀ алкил, и (h) аминополиэтиленгликоля формулы -

$NR^{N1}(CH_2)_{s2}(CH_2CH_2O)_{s1}(CH_2)_{s3}NR^{N1}$, где $s1$ представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из $s2$ и $s3$ независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и каждый R^{N1} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C_{1-6} алкил; (19) $-NR^{H'}C(O)R^{I'}$, где $R^{H'}$ выбран из группы, состоящей из (a1) водорода и (b1) C_{1-6} алкила, и $R^{I'}$ выбран из группы, состоящей из (a2) C_{1-20} алкила (например, C_{1-6} алкила), (b2) C_{2-20} алкенила (например, C_{2-6} алкенила), (c2) C_{6-10} арила, (d2) водорода, (e2) C_{1-6} алкил- C_{6-10} арила, (f2) амино- C_{1-20} алкила, (g2) полиэтиленгликоля формулы $-(CH_2)_{s2}(OCH_2CH_2)_{s1}(CH_2)_{s3}OR^{I'}$, где $s1$ представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из $s2$ и $s3$ независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и $R^{I'}$ представляет собой H или C_{1-20} алкил, и (h2) аминополиэтиленгликоля формулы $-NR^{N1}(CH_2)_{s2}(CH_2CH_2O)_{s1}(CH_2)_{s3}NR^{N1}$, где $s1$ представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из $s2$ и $s3$ независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и каждый R^{N1} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C_{1-6} алкил; (20) $-NR^{J'}C(O)OR^{K'}$, где $R^{J'}$ выбран из группы, состоящей из (a1) водорода и (b1) C_{1-6} алкила, и $R^{K'}$ выбран из группы, состоящей из (a2) C_{1-20} алкила (например, C_{1-6} алкила), (b2) C_{2-20} алкенила (например, C_{2-6} алкенила), (c2) C_{6-10} арила, (d2) водорода, (e2) C_{1-6} алкил- C_{6-10} арила, (f2) амино- C_{1-20} алкила, (g2) полиэтиленгликоля формулы $-(CH_2)_{s2}(OCH_2CH_2)_{s1}(CH_2)_{s3}OR^{I'}$, где $s1$ представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из $s2$ и $s3$ независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и $R^{I'}$ представляет собой H или C_{1-20} алкил, и (h2) аминополиэтиленгликоля формулы $-NR^{N1}(CH_2)_{s2}(CH_2CH_2O)_{s1}(CH_2)_{s3}NR^{N1}$, где $s1$ представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из $s2$ и $s3$ независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и каждый R^{N1} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C_{1-6} алкил; и (21) амидина. В некоторых вариантах осуществления каждая из этих групп может быть дополнительно замещена, как описано в настоящем документе. Например, алкиленовая группа C_1 -алкиларила может быть дополнительно замещена оксогруппой с получением соответствующего арилоильного заместителя.

Термин «алкилен» и приставка «алк-» в контексте настоящего документа относятся к насыщенным двухвалентным углеводородным группам, полученным из насыщенного углеводорода с прямой или разветвленной цепью путем удаления двух атомов водорода, например, метилена, этилена, изопропилена и тому подобному. Термин « C_{x-y} алкилен» и приставка « C_{x-y} алкил-» относятся к алкиленовым группам, имеющим от x до y атомов углерода. Иллюстративные значения x представляют собой 1, 2, 3, 4, 5 и 6, а иллюстративные значения y представляют собой 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18 или 20 (например, C_{1-6} , C_{1-10} , C_{2-20} , C_{2-6} , C_{2-10} или C_{2-20} алкилен). В некоторых вариантах осуществления алкилен может быть дополнительно замещен 1, 2, 3 или 4 замещающими группами, как определено в настоящем документе для алкильной группы.

Термин «алкенил» в контексте настоящего документа относится к одновалентным группам с прямой или разветвленной цепью, содержащим, если не указано иное, от 2 до 20 атомов углерода (например, от 2 до 6 или от 2 до 10 атомов углерода), содержащим одну или более

углерод-углеродных двойных связей, примерами которых является этенил, 1-пропенил, 2-пропенил, 2-метил-1-пропенил, 1-бутенил, 2-бутенил и тому подобное. Алкенилы включают как цис-, так и транс-изомеры. Алкенильные группы могут быть необязательно замещены 1, 2, 3 или 4 замещающими группами, которые независимо выбраны из амина, арила, циклоалкила или гетероциклила (например, гетероарила), как определено в настоящем документе, или любой из иллюстративных замещающих групп для алкила, как описано в настоящем документе.

Термин «алкинил» в контексте настоящего документа относится к одновалентным группам с прямой или разветвленной цепью, содержащим от 2 до 20 атомов углерода (например, от 2 до 4, от 2 до 6 или от 2 до 10 атомов углерода), содержащим тройную углерод-углеродную связь, примерами которых являются этинил, 1-пропинил и тому подобное. Алкинильные группы могут быть необязательно замещены 1, 2, 3 или 4 замещающими группами, независимо выбранными из арила, циклоалкила или гетероциклила (например, гетероарила), как определено в настоящем документе, или любой из иллюстративных замещающих групп для алкила, описанных в настоящем документе.

Термин «амино» в контексте настоящего документа относится к $-N(R^{N1})_2$, где каждый R^{N1} независимо представляет собой H, OH, NO_2 , $N(R^{N2})_2$, SO_2OR^{N2} , SO_2R^{N2} , SOR^{N2} , *N*-защитную группу, алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкиларил, циклоалкил, алкилциклоалкил, карбоксиалкил (например, необязательно замещенный *O*-защитной группой, такой как необязательно замещенные ариалалкоксикарбонильные группы или любые описанные в настоящем документе), сульфоалкил, ацил (например, ацетил, трифторацетил, или другие, описанные в настоящем документе), алкоксикарбонилалкил (например, необязательно замещенный *O*-защитной группой, такой как необязательно замещенные ариалалкоксикарбонильные группы или любые описанные в настоящем документе), гетероциклил (например, гетероарил) или алкилгетероциклил (например, алкилгетероарил), где каждая из этих перечисленных групп R^{N1} может быть необязательно замещенной, как определено в настоящем документе для каждой группы; или две R^{N1} объединяются с образованием гетероциклила или *N*-защитной группы, и где каждая R^{N2} независимо представляет собой H, алкил или арил. Аминогруппы согласно изобретению могут представлять собой незамещенную аминогруппу (т. е., $-NH_2$) или замещенную аминогруппу (т. е., $-N(R^{N1})_2$). В предпочтительном варианте осуществления амино представляет собой $-NH_2$ или $-NHR^{N1}$, где R^{N1} независимо представляет собой OH, NO_2 , NH_2 , NR^{N2}_2 , SO_2OR^{N2} , SO_2R^{N2} , SOR^{N2} , алкил, карбоксиалкил, сульфоалкил, ацил (например, ацетил, трифторацетил или другие описанные в настоящем документе), алкоксикарбонилалкил (например, трет-бутоксикарбонилалкил) или арил, и каждая R^{N2} может представлять собой H, C_{1-20} алкил (например, C_{1-6} алкил) или C_{6-10} арил.

Термин «аминокислота» в контексте настоящего документа относится к молекуле, имеющей боковую цепь, аминогруппу и кислотную группу (например, карбоксигруппу $-CO_2H$ или сульфогруппу $-SO_3H$), где аминокислота присоединена к исходной молекулярной группе посредством боковой цепи, аминогруппы или кислотной группы (например, боковой цепи). В некоторых вариантах осуществления аминокислота присоединена к исходной молекулярной группе посредством карбонильной группы, где боковая цепь или аминогруппа присоединены к карбонильной группе. Иллюстративные боковые цепи включают необязательно замещенный алкил, арил, гетероциклил, алкиларил, алкилгетероциклил, аминоалкил, карбамоилалкил и

карбоксиалкил. Иллюстративные аминокислоты включают аланин, аргинин, аспарагин, аспарагиновую кислоту, цистеин, глутаминовую кислоту, глутамин, глицин, гистидин, гидроксинорвалин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, норвалин, орнитин, фенилаланин, пролин, пирролизин, селеноцистеин, серин, треонин, триптофан, тирозин и валин.

- 5 Аминокислотные группы могут быть необязательно замещены одним, двумя, тремя или, в случае аминокислотных групп из двух или более атомов углерода, четырьмя заместителями, независимо
выбранными из группы, состоящей из: (1) C₁₋₆ алкокси; (2) C₁₋₆ алкилсульфинила; (3) amino, как
определено в настоящем документе (например, незамещенной аминогруппы (т. е., -NH₂) или
замещенной аминогруппы (т. е., -N(R^{N1})₂, где R^{N1} представляет собой такой, как определено для
10 аминогруппы); (4) C₆₋₁₀ арил-C₁₋₆ алкокси; (5) азидо; (6) галогена; (7) (C₂₋₉ гетероцикл)окси; (8)
гидрокси; (9) нитро; (10) оксо (например, карбоксиальдегида или ацила); (11) C₁₋₇ спироциклила;
(12) тиоалкокси; (13) тиола; (14) -CO₂R^{A'}, где R^{A'} выбран из группы, состоящей из (a) C₁₋₂₀ алкила
(например, C₁₋₆ алкила), (b) C₂₋₂₀ алкенила (например, C₂₋₆ алкенила), (c) C₆₋₁₀ арила, (d) водорода,
(e) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила, (f) amino-C₁₋₂₀ алкила, (g) полиэтиленгликоля формулы -
15 (CH₂)_{s2}(OCH₂CH₂)_{s1}(CH₂)_{s3}OR', где s1 представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1
до 6 или от 1 до 4), каждый из s2 и s3 независимо представляет собой целое число от 0 до 10
(например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и R' представляет собой H или
C₁₋₂₀ алкил, и (h) аминополиэтиленгликоля формулы -NR^{N1}(CH₂)_{s2}(CH₂CH₂O)_{s1}(CH₂)_{s3}NR^{N1}, где s1
представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из s2 и s3
20 независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4,
от 1 до 6 или от 1 до 10), и каждый R^{N1} независимо представляет собой водород или
необязательно замещенный C₁₋₆ алкил; (15) -C(O)NR^{B'}R^{C'}, где каждый из R^{B'} и R^{C'} независимо
выбран из группы, состоящей из (a) водорода, (b) C₁₋₆ алкила, (c) C₆₋₁₀ арила, и (d) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀
арила; (16) -SO₂R^{D'}, где R^{D'} выбран из группы, состоящей из (a) C₁₋₆ алкила, (b) C₆₋₁₀ арила, (c) C₁₋₆
25 алкил-C₆₋₁₀ арила и (d) гидрокси; (17) -SO₂NR^{E'}R^{F'}, где каждый из R^{E'} и R^{F'} независимо выбран из
группы, состоящей из (a) водорода, (b) C₁₋₆ алкила, (c) C₆₋₁₀ арила и (d) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила; (18) -
C(O)R^{G'}, где R^{G'} выбран из группы, состоящей из (a) C₁₋₂₀ алкила (например, C₁₋₆ алкила), (b) C₂₋₂₀
алкенила (например, C₂₋₆ алкенила), (c) C₆₋₁₀ арила, (d) водорода, (e) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила, (f)
амино-C₁₋₂₀ алкила, (g) полиэтиленгликоля формулы -(CH₂)_{s2}(OCH₂CH₂)_{s1}(CH₂)_{s3}OR', где s1
30 представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из s2 и s3
независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4,
от 1 до 6 или от 1 до 10), и R' представляет собой H или C₁₋₂₀ алкил, и (h) аминополиэтиленгликоля
формулы -NR^{N1}(CH₂)_{s2}(CH₂CH₂O)_{s1}(CH₂)_{s3}NR^{N1}, где s1 представляет собой целое число от 1 до 10
(например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из s2 и s3 независимо представляет собой целое число
35 от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и каждый R^{N1}
независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C₁₋₆ алкил; (19) -
NR^{H'}C(O)R^{I'}, где R^{H'} выбран из группы, состоящей из (a1) водорода и (b1) C₁₋₆ алкила, и R^{I'} выбран
из группы, состоящей из (a2) C₁₋₂₀ алкила (например, C₁₋₆ алкила), (b2) C₂₋₂₀ алкенила (например,
C₂₋₆ алкенила), (c2) C₆₋₁₀ арила, (d2) водорода, (e2) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила, (f2) amino-C₁₋₂₀ алкила,
40 (g2) полиэтиленгликоля формулы -(CH₂)_{s2}(OCH₂CH₂)_{s1}(CH₂)_{s3}OR', где s1 представляет собой целое
число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из s2 и s3 независимо представляет
собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и

R' представляет собой H или C₁₋₂₀ алкил, и (h2) аминополиэтиленгликоля формулы - NR^{N1}(CH₂)_{s2}(CH₂CH₂O)_{s1}(CH₂)_{s3}NR^{N1}, где s1 представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из s2 и s3 независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и каждый R^{N1} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C₁₋₆ алкил; (20) -NR^{J'}C(O)OR^{K'}, где R^{J'} выбран из группы, состоящей из (a1) водорода и (b1) C₁₋₆ алкила, и R^{K'} выбран из группы, состоящей из (a2) C₁₋₂₀ алкила (например, C₁₋₆ алкила), (b2) C₂₋₂₀ алкенила (например, C₂₋₆ алкенила), (c2) C₆₋₁₀ арила, (d2) водорода, (e2) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила, (f2) аминок-C₁₋₂₀ алкила, (g2) полиэтиленгликоля формулы -(CH₂)_{s2}(OCH₂CH₂)_{s1}(CH₂)_{s3}OR', где s1 представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из s2 и s3 независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и R' представляет собой H или C₁₋₂₀ алкила, и (h2) аминополиэтиленгликоля формулы - NR^{N1}(CH₂)_{s2}(CH₂CH₂O)_{s1}(CH₂)_{s3}NR^{N1}, где s1 представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из s2 и s3 независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и каждый R^{N1} независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C₁₋₆ алкил; и (21) амидина. В некоторых вариантах осуществления каждая из этих групп может быть дополнительно замещена, как описано в настоящем документе.

Термин «арил» в контексте настоящего документа относится к моно-, бициклической или полициклической карбоциклической кольцевой системе, имеющей одно или два ароматических кольца, примерами которой являются фенил, нафтил, 1,2-дигидронафтил, 1,2,3,4-тетрагидронафтил, антраценил, фенантренил, флуоренил, инданил, инденил и тому подобные, и которая может быть необязательно замещена 1, 2, 3, 4 или 5 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из: (1) C₁₋₇ ацила (например, карбоксиальдегида); (2) C₁₋₂₀ алкила (например, C₁₋₆ алкила, C₁₋₆ алкокси-C₁₋₆ алкила, C₁₋₆ алкилсульфинил-C₁₋₆ алкила, аминок-C₁₋₆ алкила, азидо-C₁₋₆ алкила, (карбоксиальдегид)-C₁₋₆ алкила, галоген-C₁₋₆ алкила (например, перфторалкила), гидроксид-C₁₋₆ алкила, нитро-C₁₋₆ алкила или C₁₋₆ тиаалкокси-C₁₋₆ алкила); (3) C₁₋₂₀ алкокси (например, C₁₋₆ алкокси, такого как перфторалкокси); (4) C₁₋₆ алкилсульфинила; (5) C₆₋₁₀ арила; (6) аминок; (7) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила; (8) азидо; (9) C₃₋₈ циклоалкила; (10) C₁₋₆ алкил-C₃₋₈ циклоалкила; (11) галогена; (12) C₁₋₁₂ гетероциклила (например, C₁₋₁₂ гетероарила); (13) (C₁₋₁₂ гетероциклил)окси; (14) гидроксид; (15) нитро; (16) C₁₋₂₀ тиаалкокси (например, C₁₋₆ тиаалкокси); (17) -(CH₂)_qCO₂R^{A'}, где q представляет собой целое число от нуля до четырех, и R^{A'} выбран из группы, состоящей из (a) C₁₋₆ алкила, (b) C₆₋₁₀ арила, (c) водорода, и (d) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила; (18) -(CH₂)_qCONR^{B'}R^{C'}, где q представляет собой целое число от нуля до четырех, и где R^{B'} и R^{C'} независимо выбраны из группы, состоящей из (a) водорода, (b) C₁₋₆ алкила, (c) C₆₋₁₀ арила, и (d) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила; (19) -(CH₂)_qSO₂R^{D'}, где q представляет собой целое число от нуля до четырех, и где R^{D'} выбран из группы, состоящей из (a) алкила, (b) C₆₋₁₀ арила и (c) алкил-C₆₋₁₀ арила; (20) -(CH₂)_qSO₂NR^{E'}R^{F'}, где q представляет собой целое число от нуля до четырех, и где каждый из R^{E'} и R^{F'} независимо выбран из группы, состоящей из (a) водорода, (b) C₁₋₆ алкила, (c) C₆₋₁₀ арила и (d) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила; (21) тиола; (22) C₆₋₁₀ арилокси; (23) C₃₋₈ циклоалкокси; (24) C₆₋₁₀ арил-C₁₋₆ алкокси; (25) C₁₋₆ алкил-C₁₋₁₂ гетероциклила (например, C₁₋₆ алкил-C₁₋₁₂ гетероарила); (26) C₂₋₂₀ алкенила; и (27) C₂₋₂₀ алкинила. В некоторых вариантах осуществления каждая из этих групп может

быть дополнительно замещена, как описано в настоящем документе. Например, алкиленовая группа C₁-алкиларила или C₁-алкилгетероциклила может быть дополнительно замещена оксогруппой с получением соответствующей арилоильной и (гетероциклил)оильной замещающей группы.

5 Термин «арилалкил» в контексте настоящего документа относится к арильной группе, как определено в настоящем документе, присоединенной к исходной молекулярной группе через алкиленовую группу, как определено в настоящем документе. Иллюстративные незамещенные арилалкильные группы содержат от 7 до 30 атомов углерода (например, от 7 до 16 или от 7 до 20 атомов углерода, такие как C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арил, C₁₋₁₀ алкил-C₆₋₁₀ арил или C₁₋₂₀ алкил-C₆₋₁₀ арил). В
10 некоторых вариантах осуществления каждый из алкилена и арила может быть дополнительно замещен 1, 2, 3 или 4 замещающими группами, как определено в настоящем документе для соответствующих групп. Другие группы, перед которыми стоит приставка «алкил-», определены таким же образом, где «алкил» относится к C₁₋₆ алкилену, если не указано иное, и присоединенная химическая структура представляет собой такую, как определено в настоящем документе.

15 Термин «карбонил» в контексте настоящего документа относится к группе C(O), которая также может быть представлена как C=O.

Термин «карбокси» в контексте настоящего документа означает -CO₂H.

Термин «циано» в контексте настоящего документа относится к группе -CN.

Термин «циклоалкил» в контексте настоящего документа относится к одновалентной
20 насыщенной или ненасыщенной неароматической циклической углеводородной группе из трех-восьми атомов углерода, если не указано иное, и ее примерами являются циклопропил, циклобутил, цикlopентил, циклогексил, циклогептил, бициклический гептил и тому подобное. Когда циклоалкильная группа включает одну углерод-углеродную двойную связь или одну углерод-углеродную тройную связь, циклоалкильная группа может называться «циклоалкенильной» или
25 «циклоалкинильной» группой, соответственно. Иллюстративные циклоалкенильные и циклоалкинильные группы включают цикlopентенил, циклогексенил, циклогексинил и тому подобное. Циклоалкильные группы согласно настоящему изобретению могут быть необязательно замещены: (1) C₁₋₇ ацилом (например, карбоксиальдегидом); (2) C₁₋₂₀ алкилом (например, C₁₋₆ алкилом, C₁₋₆ алкокси-C₁₋₆ алкилом, C₁₋₆ алкилсульфинил-C₁₋₆ алкилом, amino-C₁₋₆ алкилом, азидо-
30 C₁₋₆ алкилом, (карбоксиальдегид)-C₁₋₆ алкилом, галоген-C₁₋₆ алкилом (например, перфторалкилом), гидроксид-C₁₋₆ алкилом, нитро-C₁₋₆ алкилом или C₁₋₆ тиаалкокси-C₁₋₆ алкилом); (3) C₁₋₂₀ алкокси (например, C₁₋₆ алкокси, например, перфторалкокси); (4) C₁₋₆ алкилсульфинилом; (5) C₆₋₁₀ арилом; (6) amino; (7) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арилом; (8) азидо; (9) C₃₋₈ циклоалкилом; (10) C₁₋₆ алкил-C₃₋₈ циклоалкилом; (11) галогеном; (12) C₁₋₁₂ гетероциклилом (например, C₁₋₁₂ гетероарилом); (13) (C₁₋₁₂ гетероциклил)окси; (14) гидроксид; (15) нитро; (16) C₁₋₂₀ тиаалкокси (например, C₁₋₆ тиаалкокси); (17) -(CH₂)_qCO₂R^A, где q представляет собой целое число от нуля до четырех, и R^A выбран из группы, состоящей из (a) C₁₋₆ алкила, (b) C₆₋₁₀ арила, (c) водорода и (d) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила; (18) -(CH₂)_qCONR^BR^C, где q представляет собой целое число от нуля до четырех и где R^B и R^C независимо выбраны из группы, состоящей из (a) водорода, (b) C₆₋₁₀ алкила, (c) C₆₋₁₀ арила и (d) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила; (19) -(CH₂)_qSO₂R^D, где q представляет собой целое число от нуля до четырех и где R^D выбран из группы, состоящей из (a) C₆₋₁₀ алкила, (b) C₆₋₁₀ арила и (c) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила; (20) -(CH₂)_qSO₂NR^ER^F, где q представляет собой целое число от нуля до четырех, и где

каждый из R^E и R^F независимо выбран из группы, состоящей из (a) водорода, (b) C_{6-10} алкила, (c) C_{6-10} арила и (d) C_{1-6} алкил- C_{6-10} арила; (21) тиола; (22) C_{6-10} арилокси; (23) C_{3-8} циклоалкокси; (24) C_{6-10} арил- C_{1-6} алкокси; (25) C_{1-6} алкил- C_{1-12} гетероциклила (например, C_{1-6} алкил- C_{1-12} гетероарила); (26) оксо; (27) C_{2-20} алкенила; и (28) C_{2-20} алкинила. В некоторых вариантах осуществления каждая из этих групп может быть дополнительно замещена, как описано в настоящем документе.

Например, алкиленовая группа C_1 -алкиларила или C_1 -алкилгетероциклила может быть дополнительно замещена оксогруппой с получением соответствующей арилоильной и (гетероциклил)оильной замещающей группы.

Термин «диастереомер» в контексте настоящего документа означает стереоизомеры, которые не являются зеркальным отражением друг друга и не совпадают при наложении друг на друга.

Термин «энантиомер» в контексте настоящего документа означает каждую отдельную оптически активную форму соединения согласно изобретению, имеющую оптическую чистоту или энантиомерный избыток (определяемые стандартными методами в данной области техники), равные по меньшей мере 80% (т. е., по меньшей мере 90% одного энантиомера и не более 10% другого энантиомера), предпочтительно по меньшей мере 90% и более предпочтительно по меньшей мере 98%.

Термин «галоген» в контексте настоящего документа относится к галогену, выбранному из брома, хлора, иода или фтора.

Термин «гетероалкил» в контексте настоящего документа относится к алкильной группе, как определено в настоящем документе, в которой каждый из одного или двух составляющих атомов углерода замещен азотом, кислородом или серой. В некоторых вариантах осуществления гетероалкильная группа может быть дополнительно замещена 1, 2, 3 или 4 замещающими группами, как описано в настоящем документе для алкильных групп. Термин «гетероалкил» в контексте настоящего документа относится к алкильной группе, как определено в настоящем документе, в которой каждый из одного или двух составляющих атомов углерода замещен азотом, кислородом или серой. В некоторых вариантах осуществления гетероалкенильная и гетероалкинильная группы могут быть дополнительно замещены 1, 2, 3 или 4 замещающими группами, как описано в настоящем документе для алкильных групп.

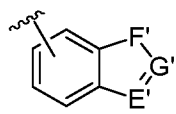
Термин «гетероарил» в контексте настоящего документа относится к той подгруппе гетероциклилов, как определено в настоящем документе, которые являются ароматическими: то есть, они содержат $4n+2$ пи-электронов в моно- или полициклической кольцевой системе. Иллюстративные незамещенные гетероарильные группы имеют от 1 до 12 (например, от 1 до 11, от 1 до 10, от 1 до 9, от 2 до 12, от 2 до 11, от 2 до 10 или от 2 до 9) атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления гетероарил замещен 1, 2, 3 или 4 замещающими группами, как определено для гетероциклильной группы.

Термин «гетероарилалкил» относится к гетероарильной группе, как определено в настоящем документе, присоединенной к исходной молекулярной группе через алкиленовую группу, как определено в настоящем документе. Иллюстративные незамещенные гетероарилалкильные группы содержат от 2 до 32 атомов углерода (например, от 2 до 22, от 2 до 18, от 2 до 17, от 2 до 16, от 3 до 15, от 2 до 14, от 2 до 13 или от 2 до 12 атомов углерода, такие как C_{1-6} алкил- C_{1-12} гетероарил, C_{1-10} алкил- C_{1-12} гетероарил или C_{1-20} алкил- C_{1-12} гетероарил). В

некоторых вариантах осуществления каждый из алкилена и гетероарила может быть дополнительно замещен 1, 2, 3 или 4 замещающими группами, как определено в настоящем документе для соответствующей группы. Гетероарилалкильные группы представляют собой подгруппу гетероциклилалкильных групп.

5 Термин «гетероциклил» в контексте настоящего документа относится к 5-, 6- или 7-членному кольцу, если не указано иное, содержащему один, два, три или четыре гетероатома, независимо выбранных из группы, состоящей из азота, кислорода и серы. 5-членное кольцо имеет от нуля до двух двойных связей, а 6- и 7-членное кольцо имеет от нуля до трех двойных связей. Иллюстративные незамещенные гетероциклильные группы имеют от 1 до 12 (например, от 1 до 10, от 1 до 9, от 2 до 12, от 2 до 11, от 2 до 10 или от 2 до 9) атомов углерода. Термин «гетероциклил» также относится к гетероциклическому соединению, имеющему мостиковую полициклическую структуру, в которой один или более атомов углерода и/или гетероатомов соединяют два несмежных члена моноциклического кольца, например, хинуклидинильной группе. Термин «гетероциклил» включает бициклические, трициклические и тетрациклические группы, в 15 которых любое из указанных выше гетероциклических колец конденсировано с одним, двумя или тремя карбоциклическими кольцами, например, арильным кольцом, циклогексановым кольцом, циклогексеновым кольцом, цикlopentanовым кольцом, цикlopентеновым кольцом, или другим моноциклическим гетероциклическим кольцом, таким как индолил, хинолил, изохинолил, тетрагидрохинолил, бензофурил, бензотиенил и тому подобное. Примеры конденсированных гетероциклилов включают тропаны и 1,2,3,5,8,8a-гексагидроиндолизин. Гетероциклические соединения включают пирролил, пирролинил, пирролидинил, пиразолил, пиразолинил, пиразолидинил, имидазолил, имидазолинил, имидазолидинил, пиридил, пиперидинил, гомопиперидинил, пиразинил, пиперазинил, пиримидинил, пиридазинил, оксазолил, оксазолидинил, изоксазолил, изоксазолидинил, морфолинил, тиоморфолинил, тиазолил, 25 тиазолидинил, изотиазолил, изотиазолидинил, индолил, индазолил, хинолил, изохинолил, хиноксалинил, дигидрохиноксалинил, хиназолинил, циннолинил, фталазинил, бензимидазолил, бензотиазолил, бензоксазил, бензотиадиазолил, фурил, тиенил, тиазолидинил, изотиазолил, триазолил, тетразолил, оксадиазолил (например, 1,2,3-оксадиазолил), пуринил, тиадиазолил (например, 1,2,3-тиадиазолил), тетрагидрофуранил, дигидрофуранил, тетрагидротиенил, дигидротиенил, дигидроиндолил, дигидрохинолил, тетрагидрохинолил, тетрагидроизохинолил, дигидроизохинолил, пиранил, дигидропиранил, дитиазолил, бензофуранил, изобензофуранил, бензотиенил и тому подобное, включая их дигидро- и тетрагидро-формы, в которых одна или более двойных связей восстановлены и замещены атомами водорода. Другие иллюстративные гетероциклилы включают: 2,3,4,5-тетрагидро-2-оксо-оксазолил; 2,3-дигидро-2-оксо-1H-имидазолил; 2,3,4,5-тетрагидро-5-оксо-1H-пиразолил (например, 2,3,4,5-тетрагидро-2-фенил-5-оксо-1H-пиразолил); 2,3,4,5-тетрагидро-2,4-диоксо-1H-имидазолил (например, 2,3,4,5-тетрагидро-2,4-диоксо-5-метил-5-фенил-1H-имидазолил); 2,3-дигидро-2-тиоксо-1,3,4-оксадиазолил (например, 2,3-дигидро-2-тиоксо-5-фенил-1,3,4-оксадиазолил); 4,5-дигидро-5-оксо-1H-триазолил (например, 4,5-дигидро-3-метил-4-амино-5-оксо-1H-триазолил); 1,2,3,4-тетрагидро-2,4-диоксопиридинил (например, 1,2,3,4-тетрагидро-2,4-диоксо-3,3-диэтилпиридинил); 2,6-диоксо-пиперидинил (например, 2,6-диоксо-3-этил-3-фенилпиперидинил); 1,6-дигидро-6-оксопиримидинил; 1,6-дигидро-4-оксопиримидинил (например, 2-(метилтио)-1,6-дигидро-4-оксо-5-метилпиримидин-1-ил); 1,2,3,4-

тетрагидро-2,4-диоксопиримидинил (например, 1,2,3,4-тетрагидро-2,4-диоксо-3-этилпиримидинил); 1,6-дигидро-6-оксо-пиридазинил (например, 1,6-дигидро-6-оксо-3-этилпиридазинил); 1,6-дигидро-6-оксо-1,2,4-триазинил (например, 1,6-дигидро-5-изопропил-6-оксо-1,2,4-триазинил); 2,3-дигидро-2-оксо-1*H*-индолил (например, 3,3-диметил-2,3-дигидро-2-оксо-1*H*-индолил и 2,3-дигидро-2-оксо-3,3'-спиропропан-1*H*-индол-1-ил); 1,3-дигидро-1-оксо-2*H*-изоиндолил; 1,3-дигидро-1,3-диоксо-2*H*-изоиндолил; 1*H*-бензопиразолил (например, 1-(этоксикарбонил)-1*H*-бензопиразолил); 2,3-дигидро-2-оксо-1*H*-бензимидазолил (например, 3-этил-2,3-дигидро-2-оксо-1*H*-бензимидазолил); 2,3-дигидро-2-оксобензоксазолил (например, 5-хлор-2,3-дигидро-2-оксо-бензоксазолил); 2,3-дигидро-2-оксобензоксазолил; 2-оксо-2*H*-бензопиранил; 1,4-бензодиоксанил; 1,3-бензодиоксанил; 2,3-дигидро-3-оксо-4*H*-1,3-бензотиазинил; 3,4-дигидро-4-оксо-3*H*-хиназолинил (например, 2-метил-3,4-дигидро-4-оксо-3*H*-хиназолинил); 1,2,3,4-тетрагидро-2,4-диоксо-3*H*-хиназолил (например, 1-этил-1,2,3,4-тетрагидро-2,4-диоксо-3*H*-хиназолил); 1,2,3,6-тетрагидро-2,6-диоксо-7*H*-пуринил (например, 1,2,3,6-тетрагидро-1,3-диметил-2,6-диоксо-7*H*-пуринил); 1,2,3,6-тетрагидро-2,6-диоксо-1*H*-пуринил (например, 1,2,3,6-тетрагидро-3,7-диметил-2,6-диоксо-1*H*-пуринил); 2-оксобенз[с,д]индолил; 1,1-диоксо-2*H*-нафт[1,8-с,д]изотиазолил; и 1,8-нафтилендикарбоксамидо. Дополнительные гетероциклические соединения включают 3,3а,4,5,6,6а-гексагидропирроло[3,4-б]пиррол-(2*H*)-ил и 2,5-диазабицикло[2.2.1]гептан-2-ил, гомопиперазинил (или диазепанил), тетрагидропиранил, дитиазолил, бензофуранил, бензотиенил, оксепанил, тиепанил, азоканил, оксеканил и тиоканил. Гетероциклические группы также включают группы формулы



, где

E' выбран из группы, состоящей из -N- и -CH-; F' выбран из группы, состоящей из -N=CH-, -NH-CH₂-, -NH-C(O)-, -NH-, -CH=N-, -CH₂-NH-, -C(O)-NH-, -CH=CH-, -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂O-, -OCH₂-, -O- и -S-; и G' выбран из группы, состоящей из -CH- и -N-. Любые из гетероциклических групп, упомянутых в настоящем документе, могут быть необязательно замещены одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из: (1) C₁₋₇ ацила (например, карбоксиальдегида); (2) C₁₋₂₀ алкила (например, C₁₋₆ алкила, C₁₋₆ алкокси-C₁₋₆ алкила, C₁₋₆ алкилсульфинил-C₁₋₆ алкила, амино-C₁₋₆ алкила, азидо-C₁₋₆ алкила, (карбоксиальдегид)-C₁₋₆ алкила, галоген-C₁₋₆ алкила (например, перфторалкила), гидрокси-C₁₋₆ алкила, нитро-C₁₋₆ алкила или C₁₋₆ тиаалкокси-C₁₋₆ алкила); (3) C₁₋₂₀ алкокси (например, C₁₋₆ алкокси, например, перфторалкокси); (4) C₁₋₆ алкилсульфинила; (5) C₆₋₁₀ арила; (6) амино; (7) C₁₋₈ алкил-C₆₋₁₀ арила; (8) азидо; (9) C₃₋₈ циклоалкила; (10) C₁₋₆ алкил-C₃₋₈ циклоалкила; (11) галогена; (12) C₁₋₁₂ гетероциклила (например, C₂₋₁₂ гетероарила); (13) (C₁₋₁₂ гетероциклил)окси; (14) гидрокси; (15) нитро; (16) C₁₋₂₀ тиаалкокси (например, C₁₋₆ тиаалкокси); (17) -(CH₂)_qCO₂R^{A'}, где q представляет собой целое число от нуля до четырех, и R^{A'} выбран из группы, состоящей из (а) C₁₋₆ алкила, (б) C₆₋₁₀ арила, (с) водорода и (д) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила; (18) -(CH₂)_qCONR^{B'}R^{C'}, где q представляет собой целое число от нуля до четырех, и где R^{B'} и R^{C'} независимо выбраны из группы, состоящей из (а) водорода, (б) C₁₋₆ алкила, (с) C₆₋₁₀ арила и (д) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила; (19) -(CH₂)_qSO₂R^{D'}, где q представляет собой целое число от нуля до четырех, и где R^{D'} выбран из группы, состоящей из (а) C₁₋₆ алкила, (б) C₆₋₁₀ арила и (с) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила; (20) -(CH₂)_qSO₂NR^{E'}R^{F'}, где q представляет собой целое число от нуля до четырех, и где каждый из R^{E'} и R^{F'} независимо выбран из группы,

состоящей из (a) водорода, (b) C₁₋₆ алкила, (c) C₆₋₁₀ арила и (d) C₁₋₆ алкил-C₆₋₁₀ арила; (21) тиола; (22) C₆₋₁₀ арилокси; (23) C₃₋₈ циклоалкокси; (24) ариалкокси; (25) C₁₋₆ алкил-C₁₋₁₂ гетероциклила (например, C₁₋₆ алкил-C₁₋₁₂ гетероарила); (26) оксо; (27) (C₁₋₁₂ гетероциклил)имино; (28) C₂₋₂₀ алкенила; и (29) C₂₋₂₀ алкинила. В некоторых вариантах осуществления каждая из этих групп может

5 быть дополнительно замещена, как описано в настоящем документе. Например, алкиленовая группа C₁-алкиларила или C₁-алкилгетероциклила может быть дополнительно замещена оксогруппой с получением соответствующей арилоильной и (гетероциклил)оильной замещающей группы.

Термин «углеводород» в контексте настоящего документа относится к группе, состоящей

10 только из атомов углерода и водорода.

Термин «гидроксил» в контексте настоящего документа относится к группе –ОН. В некоторых вариантах осуществления гидроксильная группа может быть замещена 1, 2, 3 или 4 замещающими группами (например, O-защитными группами), как определено в настоящем документе для алкила.

15 Термин «изомер» в контексте настоящего документа означает любой таутомер, стереоизомер, энантиомер или диастереомер любого соединения согласно изобретению. Известно, что соединения согласно изобретению могут иметь один или более хиральных центров и/или двойных связей и, следовательно, существуют в виде стереоизомеров, таких как изомеры с двойной связью (т. е., геометрические E/Z-изомеры) или диастереомеры (например, энантиомеры

20 (т. е. (+) или (-)), или цис-/транс- изомеры). Согласно изобретению химические структуры, приведенные в настоящем документе, и, следовательно, соединения согласно изобретению, охватывают все соответствующие стереоизомеры, то есть, как стереомерно-чистую форму (например, геометрически чистую, энантиомерно-чистую или диастереомерно-чистую), так и энантиомерные и стереоизомерные смеси, например, рацематы. Энантиомерные и

25 стереоизомерные смеси соединений согласно изобретению обычно могут быть разделены на составляющие их энантиомеры или стереоизомеры с помощью хорошо известных методов, таких как газовая хроматография с использованием хиральной фазы, высокоэффективная жидкостная хроматография с использованием хиральной фазы, кристаллизация соединения в виде хирального солевого комплекса или кристаллизация соединения в хиральном растворителе.

30 Энантиомеры и стереоизомеры также могут быть получены из стереомерно- или энантиомерно-чистых промежуточных соединений, реагентов и катализаторов с помощью хорошо известных методов асимметрического синтеза.

Термин «N-защищенная аминогруппа» в контексте настоящего документа относится к аминогруппе, как определено в настоящем документе, к которой присоединены одна или две N-

35 защитные группы, как определено в настоящем документе.

Термин «N-защитная группа» в контексте настоящего документа относится к группам, предназначенным для защиты аминогруппы от нежелательных реакций во время процедур синтеза. Общепринятые N-защитные группы раскрыты в источнике Greene, «Protective Groups in Organic Synthesis,» 3rd Edition (John Wiley & Sons, New York, 1999), включенном в настоящий

40 документ посредством ссылки. N-защитные группы включают ацильную, акрилоильную или карбамилловую группы, такие как формил, ацетил, пропионил, пивалоил, трет-бутилацетил, 2-хлорацетил, 2-бромацетил, трифторацетил, трихлорацетил, фталил, орто-нитрофеноксиацетил, α-

хлорбутирил, бензоил, 4-хлорбензоил, 4-бромбензоил, 4-нитробензоил, и хиральные вспомогательные вещества, такие как защищенные или незащищенные D-, L- или D, L-аминокислоты, такие как аланин, лейцин, фенилаланин и тому подобные; сульфонилсодержащие группы, такие как бензолсульфонил, пара-толуолсульфонил и тому подобные; карбамат-образующие группы, такие как бензилоксикарбонил, пара-хлорбензилоксикарбонил, пара-метоксибензилоксикарбонил, пара-нитробензилоксикарбонил, 2-нитробензилоксикарбонил, р-бромбензилоксикарбонил, 3,4-диметоксибензилоксикарбонил, 3,5-диметоксибензилоксикарбонил, 2,4-диметоксибензилоксикарбонил, 4-метоксибензилоксикарбонил, 2-нитро-4,5-диметоксибензилоксикарбонил, 3,4,5-триметоксибензилоксикарбонил, 1-(пара-бифенилил)-1-метилэтоксикарбонил, α,α -диметил-3,5-диметоксибензилоксикарбонил, бензгидрилоксикарбонил, трет-бутилоксикарбонил, диизопропилметоксикарбонил, изопропилоксикарбонил, этоксикарбонил, метоксикарбонил, аллилоксикарбонил, 2,2,2-трихлорэтоксикарбонил, феноксикарбонил, 4-нитрофеноксикарбонил, флуоренил-9-метоксикарбонил, циклопентилоксикарбонил, адамантилоксикарбонил, циклогексилоксикарбонил, фенилтиокарбонил и тому подобные, алкиларильные группы, такие как бензил, трифенилметил, бензилоксиметил и тому подобные, и силильные группы, такие как триметилсилил и тому подобные. Предпочтительными N-защитными группами являются формил, ацетил, бензоил, пивалоил, трет-бутилацетил, аланил, фенилсульфонил, бензил, трет-бутилоксикарбонил (Boc) и бензилоксикарбонил (Cbz).

Термин «О-защитная группа» в контексте настоящего документа относится к группам, предназначенным для защиты кислородсодержащей группы (например, фенольной, гидроксильной или карбонильной) от нежелательных реакций во время процедур синтеза. Общепринятые О-защитные группы раскрыты в источнике Greene, «Protective Groups in Organic Synthesis,» 3rd Edition (John Wiley & Sons, New York, 1999), включенном в настоящий документ посредством ссылки. Иллюстративные О-защитные группы включают ацильную, акрилоильную или карбамилловую группы, такие как формил, ацетил, пропионил, пивалоил, трет-бутилацетил, 2-хлорацетил, 2-бромацетил, трифторацетил, трихлорацетил, фталил, орто-нитрофеноксиацетил, α -хлорбутирил, бензоил, 4-хлорбензоил, 4-бромбензоил, *трет*-бутилдиметилсилил, три-изо-пропилсилилоксиметил, 4,4'-диметокситритил, изобутирил, феноксиацетил, 4-изопропилфеноксиацетил, диметилформамидино и 4-нитробензоил; алкилкарбонильные группы, такие как ацил, ацетил, пропионил, пивалоил и тому подобные; необязательно замещенные арилкарбонильные группы, такие как бензоил; силильные группы, такие как триметилсилил (TMS), трет-бутилдиметилсилил (TBDMS), три-изо-пропилсилилоксиметил (TOM), триизопропилсилил (TIPS) и тому подобные; группы, образующие простые эфиры с гидроксилом, такие как метил, метоксиметил, тетрагиропиранил, бензил, пара-метоксибензил, тритил и тому подобные; алкоксикарбонилы, такие как метоксикарбонил, этоксикарбонил, изопропоксикарбонил, н-изопропоксикарбонил, н-бутилоксикарбонил, изобутилоксикарбонил, втор-бутилоксикарбонил, трет-бутилоксикарбонил, 2-этилгексилоксикарбонил, циклогексилоксикарбонил, метилоксикарбонил и тому подобные; алкоксиалкоксикарбонильные группы, такие как метоксиметоксикарбонил, этоксиметоксикарбонил, 2-метоксиэтоксикарбонил, 2-этоксиэтоксикарбонил, 2-бутоксиэтоксикарбонил, 2-метоксиэтоксиметоксикарбонил, аллилоксикарбонил, пропаргилоксикарбонил, 2-бутеноксикарбонил, 3-метил-2-бутеноксикарбонил и тому подобные; галогеналкоксикарбонилы, такие как 2-хлорэтоксикарбонил, 2-

хлорэтоксикарбонил, 2,2,2-трихлорэтоксикарбонил и тому подобные; необязательно замещенные арилалкоксикарбонильные группы, такие как бензилоксикарбонил, пара-метилбензилоксикарбонил, пара-метоксибензилоксикарбонил, пара-нитробензилоксикарбонил, 2,4-динитробензилоксикарбонил, 3,5-диметилбензилоксикарбонил, пара-хлорбензилоксикарбонил, пара-бромбензилоксикарбонил, флуоренилметилоксикарбонил и тому подобные; и необязательно замещенные арилоксикарбонильные группы, такие как феноксикарбонил, пара-нитрофеноксикарбонил, орто-нитрофеноксикарбонил, 2,4-динитрофеноксикарбонил, пара-метилфеноксикарбонил, мета-метилфеноксикарбонил, орто-бромфеноксикарбонил, 3,5-диметилфеноксикарбонил, пара-хлорфеноксикарбонил, 2-хлор-4-нитрофеноксикарбонил и тому подобные; замещенные алкиловые, ариловые и алкилариловые простые эфиры (например, тритил; метилтиометил; метоксиметил; бензилоксиметил; силоксиметил; 2,2,2-трихлорэтоксиметил; тетрагидропиранил; тетрагидрофуранил; этоксиэтил; 1-[2-(триметилсилил)этокси]этил; 2-триметилсилилэтил; трет-бутиловый простой эфир; пара-хлорфенил, пара-метоксифенил, пара-нитрофенил, бензил, пара-метоксибензил и нитробензил); силиловые простые эфиры (например, триметилсилил; триэтилсилил; триизопропилсилил; диметилизопропилсилил; трет-бутилдиметилсилил; трет-бутилдифенилсилил; трибензилсилил; трифенилсилил; и дифенилметилсилил); карбонаты (например, метил, метоксиметил, 9-флуоренилметил; этил; 2,2,2-трихлорэтил; 2-(триметилсилил)этил; винил, аллил, нитрофенил; бензил; метоксибензил; 3,4-диметоксибензил; и нитробензил); защитные группы карбонильной группы (например, ацетальные и кетальные группы, такие как диметилацеталь, 1,3-диоксолан и тому подобные; ацилальные группы; и дитиановые группы, такие как 1,3-дитианы, 1,3-дитиолан и тому подобное); защитные группы карбоновых кислот (например, сложноэфирные группы, такие как метиловый сложный эфир, бензиловый сложный эфир, трет-бутиловый сложный эфир, ортоэфиры и тому подобное; и оксазолиновые группы.

Термин «оксо» в контексте настоящего документа означает =O.

Термин «полиэтиленгликоль» в контексте настоящего документа означает алкокси-цепь, состоящую из одного или более мономерных звеньев, каждое из которых состоит из $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$. Полиэтиленгликоль (ПЭГ) также иногда называют полиэтиленоксидом (ПЭО) или полиоксиэтиленом (ПОЭ), и эти термины могут считаться взаимозаменяемыми для целей

настоящего изобретения. Например, полиэтиленгликоль может иметь структуру -

$(\text{CH}_2)_{s2}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{s1}(\text{CH}_2)_{s3}\text{O}-$, где $s1$ представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), и каждый из $s2$ и $s3$ независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10). Можно также считать, что полиэтиленгликоль включает аминополиэтиленгликоль формулы -

$\text{NR}^{\text{N}1}(\text{CH}_2)_{s2}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{s1}(\text{CH}_2)_{s3}\text{NR}^{\text{N}1}$, где $s1$ представляет собой целое число от 1 до 10 (например, от 1 до 6 или от 1 до 4), каждый из $s2$ и $s3$ независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (например, от 0 до 4, от 0 до 6, от 1 до 4, от 1 до 6 или от 1 до 10), и каждый $\text{R}^{\text{N}1}$ независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C_{1-6} алкил.

Термин «стереоизомер» в контексте настоящего документа относится ко всем возможным различным изомерным, а также конформационным формам, которыми может обладать соединение (например, соединение любой формулы, описанной в настоящем документе), в частности, ко всем возможным стереохимически- и конформационно-изомерным формам, всем

диастереомерам, энантиомерам и/или конформерам основной молекулярной структуры. Некоторые соединения согласно настоящему изобретению могут существовать в разных таутомерных формах, все из которых включены в объем настоящего изобретения.

Термин «сульфонил» в контексте настоящего документа относится к группе $-S(O)_2-$.

5 Термин «тиол» в контексте настоящего документа относится к группе $-SH$.

Определения

В контексте настоящего документа термин «вводимый в комбинации» или «комбинированное введение» означает, что два или более агентов вводятся субъекту в одно и то же время или в пределах интервала, так что может иметь место наложение действия каждого из агентов на пациента. В некоторых вариантах осуществления их вводят с интервалом в 90 дней (например, с интервалом в 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5, 4, 3, 2 или 1 день (дней)), с интервалом в 28 дней (например, с интервалом 14, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 день (дней)), с интервалом в 24 часа (например, 12, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 час (часов)), или с интервалом приблизительно в 60, 30, 15, 10, 5 или 1 минуту. В некоторых вариантах осуществления введения агентов осуществляют с небольшим интервалом, достаточным для достижения комбинаторного (например, синергетического) действия.

В контексте настоящего документа термин «антитело» относится к полипептиду, аминокислотная последовательность которого включает иммуноглобулины и их фрагменты, которые специфически связываются с указанным антигеном, или его фрагментам. Антитела согласно настоящему изобретению могут быть любого типа (например, IgA, IgD, IgE, IgG или IgM) или подтипа (например, IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4). Специалистам в данной области техники ясно, что характеристическая последовательность или часть антитела может включать аминокислоты, содержащиеся в одной или более областях антитела (например, вариабельной области, гипервариабельной области, константной области, тяжелой цепи, легкой цепи и их комбинациях). Кроме того, специалистам в данной области техники ясно, что характеристическая последовательность или часть антитела может включать одну или более полипептидных цепей и может включать элементы последовательности, содержащиеся в одной и той же полипептидной цепи или в разных полипептидных цепях.

В контексте настоящего документа термин «антигенсвязывающий фрагмент» относится к части антитела, которая сохраняет характеристики связывания исходного антитела.

Термины «бифункциональный хелат» или «бифункциональный конъюгат», используемые в настоящем документе взаимозаменяемо, относятся к соединению, содержащему хелатирующую группу или ее комплексное соединение с металлом, линкерную группу и терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или сшивающую группу.

Термин «рак» относится к любому раку, вызванному пролиферацией злокачественных опухолевых клеток, такому как опухоли, новообразования, карциномы, саркомы, лейкозы и лимфомы. «Солидный рак» представляет собой рак, характеризующийся массой патологической ткани, например, саркомы, карциномы и лимфомы. Термины «гематологический рак» или «гемобластоз», используемые в настоящем документе взаимозаменяемо, относятся к раку, присутствующему в жидких средах организма, например, лимфомам и лейкозам.

Термин «хелат» в контексте настоящего документа относится к органическому соединению или его части, которое может быть связано с центральным атомом металла или радиометалла в двух или более точках.

5 Термин «конъюгат» в контексте настоящего документа относится к молекуле, содержащей хелатирующую группу или ее комплексное соединение с металлом, линкерную группу, и необязательно содержащей терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или сшивающую группу.

В контексте настоящего документа термин «соединение» подразумевает включение всех стереоизомеров, геометрических изомеров и таутомеров изображенных структур.

10 Описанные в настоящем документе соединения могут быть асимметричными (например, иметь один или более стереогенных центров). Подразумевается включение всех стереоизомеров, таких как энантиомеры и диастереомеры, если не указано иное. Соединения согласно настоящему изобретению, содержащие асимметрично замещенные атомы углерода, могут быть выделены в оптически активных или рацемических формах. Способы получения оптически активных форм из
15 оптически активных исходных веществ известны в данной области техники и включают, например, разделение рацемических смесей или стереоселективный синтез. Многие геометрические изомеры олефинов, двойных связей C=N и тому подобные также могут иметь место в описанных в настоящем документе соединениях, и все такие стабильные изомеры рассматриваются в настоящем изобретении. Цис- и транс-геометрические изомеры соединений согласно настоящему
20 изобретению описаны и могут быть выделены в виде смеси изомеров или в виде отдельных изомерных форм.

Соединения согласно настоящему изобретению также включают таутомерные формы. Таутомерные формы возникают в результате обмена одинарной связи с соседней двойной связью и сопутствующей миграцией протона. Таутомерные формы включают прототропные таутомеры,
25 которые являются изомерными протонированными состояниями, имеющими одинаковую эмпирическую формулу и общий заряд. Примеры прототропных таутомеров включают пары кетон-енол, пары амид-имидная кислота, пары лактам-лактим, пары амид-имидная кислота, пары енамин-имин и кольцевые формы, где протон может занимать два или более положений гетероциклической системы, такие как 1Н- и 3Н-имидазол, 1Н-, 2Н- и 4Н- 1,2,4-триазол, 1Н- и 2Н-изоиндол и 1Н- и 2Н-пиразол. Таутомерные формы могут находиться в равновесии или быть
30 стерически «заперты» в одной форме путем соответствующего замещения.

В различных местах в настоящем описании заместители соединений согласно настоящему изобретению раскрыты в группах или в диапазонах. В частности, подразумевается, что настоящее изобретение включает все без исключения отдельные подкомбинации членов таких групп и
35 диапазонов. Например, подразумевается, что термин «C₁₋₆ алкил» по отдельности раскрывает метил, этил, C₃ алкил, C₄ алкил, C₅ алкил и C₆ алкил. В настоящем документе подразумевается, что фраза в форме «необязательно замещенный X» (например, необязательно замещенный алкил) эквивалентна «X, где X необязательно замещен» (например, «алкил, где указанный алкил необязательно замещен»). Эта фраза не подразумевает, что признак «X» (например, алкил) сам
40 по себе является необязательным.

В контексте настоящего документа термин «детектирующий агент» относится к молекуле или атому, подходящим для диагностирования заболевания путем определения местоположения

клеток, содержащих антиген. В данной области техники известны различные способы мечення полипептидов детектирующими агентами. Примеры детектирующих агентов включают, не ограничиваясь перечисленным, радиоизотопы и радионуклиды, красители (например, с комплексом биотин-стрептавидин), контрастные вещества, люминесцирующие агенты (например, FITC (флуоресцеин-5-изотиоцианат), родамин, лантаноидные люминофоры, цианин и красители ближнего ИК-диапазона) и магнитные агенты, такие как хелаты гадолиния.

В контексте настоящего документа термин «радионуклид» относится к атому, способному претерпевать радиоактивный распад (например, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{35}S , ^{47}Sc , ^{55}Co , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{89}Zr , ^{86}Y , ^{87}Y , ^{90}Y , ^{97}Ru , ^{99}Tc , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}In , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{149}Pm , ^{149}Tb , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Th , ^{229}Th , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{82}Rb , $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{201}Tl). Термины радиоактивный нуклид, радиоизотоп или радиоактивный изотоп также могут использоваться для описания радионуклида. Радионуклиды могут быть использованы в качестве детектирующих агентов, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления радионуклид может представлять собой радионуклид, испускающий альфа-излучение.

Термин «эффективное количество» агента (например, любого из вышеупомянутых конъюгатов) в контексте настоящего документа представляет собой такое количество, которое достаточно для достижения положительных или желаемых результатов, таких как клинические результаты, и, как таковое, «эффективное количество» зависит от контекста, в котором оно применяется.

Термин «иммуноконъюгат» в контексте настоящего документа относится к конъюгату, включающему нацеливающий фрагмент, такой как антитело, нанотело, аффитело или консенсусная последовательность из домена фибронектина III типа. В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат содержит в среднем по меньшей мере 0,10 конъюгатов на нацеливающий фрагмент (например, в среднем по меньшей мере 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 4, 5 или 8 конъюгатов на нацеливающий фрагмент).

Термин «радиоконъюгат» в контексте настоящего документа относится к любому конъюгату, включающему радиоизотоп или радионуклид, такой как любой из радиоизотопов или радионуклидов, описанных в настоящем документе.

Термин «радиоиммуноконъюгат» в контексте настоящего документа относится к любому иммуноконъюгату, включающему радиоизотоп или радионуклид, такой как любой из радиоизотопов или радионуклидов, описанных в настоящем документе.

Термин «радиоиммунотерапия» в контексте настоящего документа относится к способу применения радиоиммуноконъюгата для достижения терапевтического эффекта. В некоторых вариантах осуществления радиоиммунотерапия может включать введение радиоиммуноконъюгата нуждающемуся в этом субъекту, причем введение радиоиммуноконъюгата вызывает терапевтический эффект у указанного субъекта. В некоторых вариантах осуществления радиоиммунотерапия может включать введение радиоиммуноконъюгата в клетку, причем введение радиоиммуноконъюгата уничтожает указанную клетку. В тех случаях, когда радиоиммунотерапия включает избирательное уничтожение клетки, в некоторых вариантах осуществления указанная клетка представляет собой раковую клетку у субъекта, имеющего рак.

Термин «фармацевтическая композиция» в контексте настоящего документа относится к композиции, содержащей соединение, описанное в настоящем документе, объединенное с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция изготавливается или продается с одобрения государственного регулирующего органа как часть лечебной схемы для лечения заболевания у млекопитающего. Фармацевтические композиции могут быть приготовлены, например, для перорального введения в виде стандартной лекарственной формы (например, таблетки, капсулы, капсуловидной таблетки, желатиновой капсулы или сиропа); для местного применения (например, в виде крема, геля, лосьона или мази); для внутривенного введения (например, в виде стерильного раствора, не содержащего частиц эмбол, в системе растворителей, подходящей для внутривенного применения); или в составе любого другого препарата, описанного в настоящем документе.

Термин «фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество» в контексте настоящего документа относится к любому ингредиенту, отличному от соединений, описанных в настоящем документе (например, носителю, способному суспендировать или растворять активное соединение), при этом нетоксичному и не вызывающему воспаление у пациента. Вспомогательные вещества могут включать, например: антиадгезивы, антиоксиданты, связующие вещества, покрытия, вспомогательные средства для прессования, разрыхлители, красители (краски), смягчающие вещества, эмульгаторы, наполнители (разбавители), пленкообразующие вещества или покрытия, вкусоароматические вещества, отдушки, вещества, способствующие скольжению (усилители текучести), лубриканты, консерванты, печатные краски, радиозащитные агенты, сорбенты, суспендирующие или диспергирующие агенты, подсластители или гидратную воду. Иллюстративные вспомогательные вещества включают, не ограничиваясь перечисленным: аскорбиновую кислоту, гистидин, фосфатный буфер, бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), карбонат кальция, фосфат кальция (двухосновный), стеарат кальция, кроскармеллозу, сшитый поливинилпирролидон, лимонную кислоту, кросповидон, цистеин, этилцеллюлозу, желатин, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксиметилцеллюлозу, лактозу, стеарат магния, мальтит, маннит, метионин, метилцеллюлозу, метилпарабен, микрокристаллическую целлюлозу, полиэтиленгликоль, поливинилпирролидон, повидон, прежелатинизированный крахмал, пропилпарабен, ретинилпальмитат, шеллак, диоксид кремния, натрий-карбоксиметилцеллюлозу, цитрат натрия, крахмал гликолят натрия, сорбит, крахмал (кукурузный), стеариновую кислоту, сахарозу, тальк, диоксид титана, витамин А, витамин Е, витамин С и ксилит.

Термин «фармацевтически приемлемая соль» в контексте настоящего документа относится к таким солям соединений, описанных в настоящем документе, которые в рамках здравого медицинского суждения подходят для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения или аллергической реакции.

Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области техники. Например, фармацевтически приемлемые соли описаны в источнике Berge et al., *J. Pharmaceutical Sciences* 66:1-19, 1977 and in *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (Eds. P.H. Stahl and C.G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008. Соли могут быть получены *in situ* в процессе окончательного выделения и очистки соединений, описанных в настоящем документе, или отдельно путем взаимодействия группы свободного основания с подходящей органической кислотой.

Соединения согласно изобретению могут иметь ионогенные группы, чтобы обеспечить возможность получения в виде фармацевтически приемлемых солей. Эти соли могут представлять собой кислотно-аддитивные соли, полученные с неорганическими или органическими кислотами, или соли, в случае кислых форм соединений согласно изобретению, могут быть получены с неорганическими или органическими основаниями. Часто соединения получают или применяют в виде фармацевтически приемлемых солей, полученных в виде продуктов присоединения фармацевтически приемлемых кислот или оснований. Подходящие фармацевтически приемлемые кислоты и основания хорошо известны в данной области техники и представляют собой, например, соляную, серную, бромистоводородную, уксусную, молочную, лимонную или винную кислоты для образования кислотно-аддитивных солей, и гидроксид калия, гидроксид натрия, гидроксид аммония, кофеин, различные амины для образования основных солей. Способы получения соответствующих солей хорошо известны в данной области техники.

Иллюстративные кислотно-аддитивные соли включают ацетат, адипинат, альгинат, аскорбат, аспартат, бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, фумарат, глюкогептонат, глицерофосфат, гемисульфат, гептонат, гексаноат, гидробромид, гидрохлорид, гидроиодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пикрат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, толуолсульфонат, ундеканат, валерат и другие. Иллюстративные соли щелочных или щелочноземельных металлов включают соли натрия, лития, калия, кальция и магния, а также нетоксичные катионы аммония, четвертичного аммония и амина, включая, не ограничиваясь перечисленным, аммоний, тетраметиламмоний, тетраэтиламмоний, метиламин, диметиламин, триметиламин, триэтиламин и этиламин.

Термин «терапевтический фрагмент» в контексте настоящего документа относится к любой молекуле или любой части молекулы, которая обеспечивает положительный терапевтический результат. В некоторых вариантах осуществления терапевтический фрагмент представляет собой белок или полипептид, например, антитело, его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления терапевтический фрагмент представляет собой малую молекулу.

Термин «нацеливающий фрагмент» в контексте настоящего документа относится к любой молекуле или любой части молекулы, которая связывается с данной мишенью. В некоторых вариантах осуществления нацеливающий фрагмент представляет собой белок или полипептид, такой как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, нанотело, аффитело или консенсусную последовательность из домена фибронектина III типа.

Термин «сшивающая группа» в контексте настоящего документа относится к любой реакционноспособной группе, которая способна соединять две или более молекул ковалентной связью. В некоторых вариантах осуществления сшивающая группа представляет собой аминокреактивную или тиолреактивную сшивающую группу. В некоторых вариантах осуществления аминокреактивная или тиолреактивная сшивающая группа содержит активированный сложный эфир, такой как сложный эфир гидроксисукцинимид, сложный эфир 2,3,5,6-тетрафторфенола, сложный эфир 4-нитрофенола, или имидат, ангидрид, тиол, дисульфид, малеимид, азид, алкин,

напряженный алкин, напряженный алкен, галоген, сульфонат, галогенацетил, амин, гидразид, диазирин, фосфин, тетразин, изотиоцианат. В некоторых вариантах осуществления сшивающая группа может представлять собой глицин-глицин-глицин и/или лейцин-пролин-(любая аминокислота)-треонин-глицин, которые представляют собой последовательности распознавания для связывания нацеливающих агентов с линкером с использованием опосредованной сортазой реакции связывания. Специалисту в данной области техники ясно, что использование сшивающих групп при осуществлении изобретения не ограничивается конкретными конструкциями, раскрытыми в настоящем документе, а напротив, может включать другие известные сшивающие группы.

Термин «полипептид» в контексте настоящего документа относится к цепочке из по меньшей мере двух аминокислот, связанных друг с другом пептидной связью. В некоторых вариантах осуществления полипептид может включать по меньшей мере 3-5 аминокислот, каждая из которых присоединена к другим посредством по меньшей мере одной пептидной связи. Специалистам в данной области техники ясно, что полипептиды могут включать одну или более «неприродных» аминокислот или других соединений, которые, тем не менее, могут быть встроены в полипептидную цепь. В некоторых вариантах осуществления полипептид может быть гликозилирован, например, полипептид может содержать один или более ковалентно связанных сахарных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления один «полипептид» (например, полипептид антитела) может содержать две или более отдельных полипептидных цепей, которые в некоторых случаях могут быть связаны друг с другом, например, одной или несколькими дисульфидными связями или другими способами.

Под «субъектом» подразумевается человек или отличное от человека животное (например, млекопитающее).

Под «по существу идентичностью» или «по существу идентичным» подразумевается полипептидная последовательность, которая имеет такую же полипептидную последовательность, соответственно, как референсная последовательность, или имеет определенный процент аминокислотных остатков, соответственно, которые идентичны остаткам в соответствующем положении в референсной последовательности при оптимальном выравнивании двух последовательностей. Например, аминокислотная последовательность, «по существу идентичная» референсной последовательности, обладает по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью референсной аминокислотной последовательности. Для полипептидов длина сравниваемой последовательностей обычно составляет по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 50, 75, 90, 100, 150, 200, 250, 300 или 350 смежных аминокислот (например, полноразмерную последовательность). Идентичность последовательностей может быть измерена с использованием программного обеспечения для анализа последовательности при настройках по умолчанию (например, пакет программного обеспечения для анализа последовательностей от Genetics Computer Group, Биотехнологический центр Университета Висконсина, 1710 Юниверсити авеню, Мадисон, Висконсин, 53705). Такое программное обеспечение может сопоставить схожие последовательности, назначая степени гомологии различным заменам, делециям и другим модификациям.

В контексте настоящего документа, а также как хорошо известно в данной области техники, «лечить» состояние или «лечение» состояния (например, состояний, описанных в настоящем документе, таких как рак), представляет собой подход для получения положительных или желаемых результатов, таких как клинические результаты. Положительные или желательные результаты могут включать, не ограничиваясь перечисленным, ослабление или улучшение одного или более симптомов или состояний; уменьшение степени заболевания, расстройства или состояния; стабилизированное (т. е. не ухудшающееся) состояние заболевания, расстройства или состояния; предотвращение распространения заболевания, расстройства или состояния; задержку или замедление прогрессирования заболевания, расстройства или состояния; улучшение или облегчение заболевания, расстройства или состояния; и ремиссию (частичную или полную), обнаружимую или необнаружимую. «Облегчение» заболевания, расстройства или состояния означает, что степень и/или нежелательные клинические проявления заболевания, расстройства или состояния уменьшаются, и/или динамика прогрессирования замедляется или удлиняется по сравнению со степенью или динамикой в отсутствие лечения.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 представляет собой схему, изображающую общую структуру конъюгата, содержащего хелат, линкер и сшивающую группу (вверху), и конъюгата, содержащего хелат, линкер и нацеливающий фрагмент (внизу).

Фиг. 2 представляет собой схему, изображающую синтез бифункционального хелата 4-[[11-оксо-11-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)ундецил]карбамоил]-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (соединение В). Синтез соединения В описан в примере 3.

Фиг. 3 представляет собой схему, изображающую синтез бифункционального хелата, 4-[[2-(2-{2-[3-оксо-3-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пропокси]этокси]этоксиэтил]карбамоил]-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (соединение С). Синтез соединения С описан в примере 4.

Фиг. 4 представляет собой график, отражающий процент остаточного содержания трех бифункциональных хелатированных антител (соединение А, соединение В и соединение С), определенную как имп/мин (лизат)/имп/мин (эффлюкс+рециркулированный + лизат). Использованный анализ остаточного содержания подробно описан в примере 6.

Фиг. 5 представляет собой серию графиков, отражающих метаболический профиль экскреции ненацеленных конъюгатов человеческого антитела IgG [¹⁷⁷Lu]-соединение В-HuMIGF-1R и [¹⁷⁷Lu]-соединение С-HuMIGF-1R по сравнению с [¹⁷⁷Lu]-соединение А-HuMIGF-1R, способы и результаты для которого подробно описаны в примере 9.

Фиг. 6. Фармакокинетика общей радиоактивности в крови у голых мышей CD-1. Результаты и методы описаны в примере 9.

Фиг. 7. Терапевтическая эффективность соединений [²²⁵Ac]-HuMIGF-1R (доза 200 нКи). Результаты и методы описаны в примере 10.

Фиг. 8 представляет собой серию графиков, отражающих метаболический профиль экскреции ненацеленных конъюгатов человеческого антитела IgG [¹⁷⁷Lu]-соединение В-HuMIG и

[¹⁷⁷Lu]-соединение C-HuMlgG по сравнению с [¹⁷⁷Lu]-соединение A-HuMlgG, способы и результаты для которого подробно описаны в примере 14.

Подробное описание изобретения

5 Нацеливающие фрагменты с радиоактивной меткой (также известные как радиоиммуноконъюгаты) предназначены для нацеливания на белок или рецептор, который активируется при патологическом состоянии, чтобы доставить радиоактивную полезную нагрузку для поражения и уничтожения представляющих интерес клеток (радиоиммунотерапии). Процесс доставки такой полезной нагрузки в результате радиоактивного распада производит альфа-, бета- или гамма-частицы, или оже-электрон, которые могут оказывать непосредственное воздействие на ДНК (такое как одно- или двухцепочечные разрывы ДНК), или косвенные воздействия, такие как эффекты стороннего наблюдателя или «перекрестного огня».

10 Радиоиммуноконъюгаты обычно содержат биологический нацеливающий фрагмент (например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с IGF-1R), радиоизотоп и связывающую их молекулу. Конъюгаты образуются при присоединении бифункционального хелата к биологической нацеливающей молекуле, так что структурные изменения минимальны при сохранении аффинности к мишени. После присоединения радиоактивной метки образуется конечный радиоиммуноконъюгат.

20 Структура бифункциональных хелатов содержит хелат, линкер и сшивающую группу (фиг. 1). При разработке новых бифункциональных хелатов большинство усилий сосредоточено вокруг хелатирующей части молекулы. Было описано несколько примеров бифункциональных хелатов с различными циклическими и ациклическими структурами, конъюгированных с нацеливающим фрагментом. [Bioconjugate Chem. 2000, 11, 510-519, Bioconjugate Chem.2012, 23, 1029–1039, Mol Imaging Biol (2011) 13:215-221, Bioconjugate Chem.2002,13,110–115]

25 Одним из ключевых факторов в разработке безопасных и эффективных радиоиммуноконъюгатов является максимизация эффективности при минимизации нецелевой токсичности в нормальной ткани. Хотя это утверждение является одним из основных принципов разработки новых лекарственных средств, его применение в области радиоиммунотерапии представляет новые трудности. Для того, чтобы иметь терапевтическую эффективность, радиоиммуноконъюгатам не требуется блокировать рецептор, в отличие от терапевтических антител, или высвободить цитотоксическую полезную нагрузку внутриклеточно, в отличие от конъюгата антитело-лекарственное средство. Однако эмиссия (испускание) токсичной частицы является событием, которое происходит в результате распада первого порядка (радиоактивного) и может происходить случайным образом в любом месте организма после введения. Как только происходит испускание, может произойти повреждение окружающих клеток в пределах амплитуды эмиссии, что может привести к потенциальной нецелевой токсичности. Поэтому ограничение воздействия этих эмиссий на нормальные ткани является ключевым фактором в разработке новых лекарственных средств.

40 Одним из потенциальных способов уменьшения нецелевого воздействия является более эффективное удаление радиоактивного вещества из организма (например, из нормальной ткани организма). Наиболее очевидным механизмом является увеличение скорости выведения биологического нацеливающего агента. Этот подход также, вероятно, требует определения

способов сокращения периода полувыведения биологического нацеливающего агента, что представляет собой тему, недостаточно хорошо описанную для биологических нацеливающих агентов. Независимо от механизма, увеличение клиренса лекарственного средства также отрицательно повлияет на фармакодинамику/эффективность по той причине, что более быстрое удаление лекарственного средства из организма приведет к снижению эффективной концентрации в месте действия, что, в свою очередь, потребует более высокой суммарной дозы и не приведет к достижению желаемых результатов снижения общей дозы радиоактивности для нормальной ткани.

Другие усилия были направлены на ускорение метаболизма той части молекулы, которая содержит радиоактивный фрагмент. С этой целью были предприняты определенные усилия по увеличению скорости отщепления радиоактивного вещества от биологических нацеливающих агентов с использованием так называемых «отщепляемых линкеров». Однако отщепляемые линкеры приняли другое значение применительно к радиоиммуноконъюгатам. Comelissen, et al. описал отщепляемые линкеры как те, с помощью которых бифункциональный конъюгат присоединяется к биологическому нацеливающему агенту через восстановленный цистеин, тогда как другие авторы описывали применение ферментативно-расщепляемых систем, которые требуют совместного введения радиоиммуноконъюгата с расщепляющим агентом/ферментом для высвобождения. [Mol Cancer Ther; 12(11) November 2013, Methods in Molecular Biology, 2009, 539, 191-211, Bioconjugate chemistry, Volume 14, Issue 5, p.927-33 (2003)]. Эти методы либо изменяют природу биологического нацеливающего фрагмента, в случае цистеиновой связи, либо непрактичны с точки зрения разработки лекарственных средств (ферментативно-расщепляемые системы), поскольку в случае цитируемых источников требуется введение 2 агентов.

Основное внимание в вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, сосредоточено на более эффективной элиминации радиоактивного вещества из организма после катаболизма и/или метаболизма радиоиммуноконъюгата путем внесения модификаций в линкерную область бифункционального хелата.

Этот подход является новым, поскольку, по-видимому, существует мало информации, описывающей воздействие линкера *in vivo*, особенно применительно к радиоиммуноконъюгатам. Одна из предполагаемых причин заключается в том, что после катаболизма/метаболизма радиоиммуноконъюгата можно ожидать, что конъюгат с радиоактивной меткой будет претерпевать быструю системную элиминацию. Предположение было дополнено экспериментально при введении бифункционального хелата по отдельности; он выводился из кровотока быстрее, чем радиоиммуноконъюгат с тем же бифункциональным хелатом. На основании этих данных можно ожидать, что после катаболизма/метаболизма радиоиммуноконъюгата метаболит, содержащий бифункциональный хелат, также будет быстро элиминирован.

Однако быстрое выведение метаболитов, содержащих радиоактивно меченый конъюгат, необязательно происходит *in vivo*. Основываясь на результатах, описанных ниже, линкерная область бифункциональных хелатов может непосредственно влиять на элиминацию радиоактивного вещества из организма после катаболизма радиоиммуноконъюгата, не оказывая при этом отрицательного воздействия на общие свойства радиоиммуноконъюгата *in vitro* или фармакокинетику и фармакодинамику *in vivo*. Ниже представлены данные, демонстрирующие, что отдельные коммерчески доступные бифункциональные хелаты обеспечивают более медленную

скорость и меньшую степень элиминации общей радиоактивности из организма по сравнению с вариантами осуществления, описанными в настоящем документе.

Профили экскреции в вариантах осуществления, описанных в примерах, представляют собой неожиданные результаты. Как сообщалось ранее, Quadri and Vriesendorp [Q. J. Nucl. Med. 1998, 42, 250-261], простые модификации линкерной области бифункционального хелата, независимо от их гидрофобности, не влияли на экскрецию радиоактивного вещества с мочой. Результаты, представленные ниже, ясно показывают, что как гидрофобные, так и гидрофильные линкеры могут влиять на характер экскреции. Кроме того, приведенные ниже примеры демонстрируют, что гепатобилиарный клиренс также играет роль в экскреции.

Следовательно, с помощью описанных в настоящем документе вариантов осуществления были установлены бифункциональные хелаты, которые, будучи присоединенными к биологическим нацеливающим фрагментам или терапевтическим агентам, обеспечивают снижение общей радиоактивности в организме путем увеличения степени экскреции продуктов катаболизма/метаболизма при сохранении фармакокинетики интактной молекулы по сравнению с аналогичными бифункциональными хелатами, известными из открытых источников информации. Было определено, что это снижение общей радиоактивности в организме обусловлено клиренсом побочных продуктов катаболизма/метаболизма, и не влияет на другие свойства *in vitro* и *in vivo*, такие как степень специфичности (связывание *in vitro*), удержание клетками и накопление в опухоли *in vivo*. В целом в этих вариантах осуществления достигаются желаемые свойства радиоиммуноконъюгатов за счет снижения содержания радиоактивной нагрузки на организм при сохранении целевой активности.

Терапевтические фрагменты и нацеливающие фрагменты

Терапевтические или нацеливающие фрагменты включают любую молекулу или любую часть молекулы, которая обеспечивает положительный терапевтический результат. В некоторых вариантах осуществления терапевтический фрагмент представляет собой белок или полипептид, например, антитело, его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления терапевтический фрагмент представляет собой малую молекулу. Нацеливающие фрагменты включают любую молекулу или любую часть молекулы, которая связывается с данной мишенью. В некоторых вариантах осуществления нацеливающий фрагмент представляет собой белок или полипептид, такой как антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, нанотела, аффитела и консенсусные последовательности из доменов фибронектина III типа (например, центринов или аднектинов).

Полипептиды

Полипептиды включают, например, любой из множества гематологических агентов (включая, например, эритропоэтин, факторы свертывания крови и т. д.), интерферонов, колониестимулирующих факторов, антител, ферментов и гормонов. Подразумевается, что настоящее изобретение не ограничивает отдельно взятый полипептид каким-либо конкретным образом, и представляющим интерес полипептидом в настоящих способах может быть любой полипептид.

Описанный в настоящем документе референсный полипептид может включать мишень-связывающий домен, который связывается с представляющей интерес мишенью (например, связывается с антигеном). Например, полипептид, такой как антитело, может связываться с трансмембранным полипептидом (например, рецептором) или лигандом (например, фактором роста). Иллюстративные молекулярные мишени (например, антигены) для полипептидов, описанных в настоящем документе (например, антител), включают белки CD, такие как CD2, CD3, CD4, CD8, CD11, CD19, CD20, CD22, CD25, CD33, CD34, CD40, CD52; члены семейства рецептора ErbB, такие как рецептор EGF (EGFR, HER1, ErbB1), HER2 (ErbB2), HER3 (ErbB3) или рецептор HER4 (ErbB4); рецепторы макрофагов, такие как CRlg; факторы некроза опухоли, такие как TNF α или TRAIL/Apo-2; молекулы клеточной адгезии, такие как LFA-1, Mac1, p150,95, VLA-4, ICAM-1, VCAM и интегрин $\alpha\beta 3$, включая его α - или β -субъединицы (например, анти-CD11a, анти-CD18 или анти-CD11b антитела); факторы роста и рецепторы, такие как EGF, FGFR (например, FGFR3) и VEGF; IgE; цитокины, такие как ИЛ-1; рецепторы цитокинов, такие как рецептор ИЛ-2; антигены групп крови; рецептор flk2/flt3; рецептор ожирения (OB); рецептор mpl; CTLA-4; C-реактивный белок; нейтропилины; эфрины и рецепторы; нетрины и рецепторы; белок slit и рецепторы; хемокины и рецепторы хемокинов, такие как CCL5, CCR4, CCR5; бета-амилоид; факторы комплемента, такие как фактор комплемента D; липопроотеины, такие как окисленные липопроотеины низкой плотности (ЛПНП) (окЛПНП); лимфотоксины, такие как лимфотоксин-альфа (LT α). Другие молекулярные мишени включают Tweak, B7RP-1, пропротеин конвертазу субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9), склеростин, c-kit, Tie-2, c-fms и анти-M1.

Антитела

Антитело IgG состоит из двух одинаковых легких полипептидных цепей и двух одинаковых тяжелых полипептидных цепей, связанных вместе дисульфидными связями. Последовательность первого домена, расположенного на аминоконце каждой цепи, является вариабельной, обеспечивая специфичность связывания антитела, характеризующую каждое отдельное антитело. Они известны как вариабельные области тяжелой (VH) и легкой (VL) цепи. Другие домены каждой цепи относительно инвариантны по аминокислотной последовательности и известны как константные области тяжелой (CH) и легкой (CL) цепи. В случае антитела IgG легкая цепь включает одну вариабельную область (VL) и одну константную область (CL). Тяжелая цепь IgG включает вариабельную область (VH), первую константную область (CH1), шарнирную область, вторую константную область (CH2) и третью константную область (CH3). В антителах IgE и IgM тяжелая цепь включает дополнительную константную область (CH4).

Антитела, описанные в настоящем документе, могут включать, например, моноклональные антитела, поликлональные антитела, полиспецифические антитела, человеческие антитела,

гуманизированные антитела, антитела верблюдовых, химерные антитела, одноцепочечные Fv (scFv), связанные дисульфидными связями Fvs (sdFv) и антиидиотипические (анти-Id) антитела, и антигенсвязывающие фрагменты любых из вышеперечисленных. Антитела могут быть любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подкласса.

Термин «антигенсвязывающий фрагмент» антитела в контексте настоящего документа относится к одному или более фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином «антигенсвязывающий фрагмент» антитела, включают Fab-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, Fd-фрагмент, Fv-фрагмент, scFv-фрагмент, dAb-фрагмент (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546), и выделенную определяющую комплементарность область (CDR). Эти фрагменты антител могут быть получены с использованием общепринятых методик, известных специалистам в данной области техники, и фрагменты могут быть подвергнуты скринингу на пригодность таким же образом, как и интактные антитела.

Антитела или фрагменты, описанные в настоящем документе, могут быть получены любым способом синтеза антител, известным в данной области техники (см., например, Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Brinkman et al., 1995, J. Immunol. Methods 182:41-50; WO 92/22324; WO 98/46645). Химерные антитела могут быть получены с использованием методов, описанных, например, в Morrison, 1985, Science 229:1202, а гуманизированные антитела – с использованием методов, описанных, например, в патенте США № 6,180,370.

Дополнительные антитела, описанные в настоящем документе, представляют собой биспецифические антитела и поливалентные антитела, как описано, например, в Segal et al., J. Immunol. Methods 248:1-6 (2001); и Tutt et al., J. Immunol. 147: 60 (1991).

Антитела к инсулиноподобному фактору роста 1 (IGF-1R)

Рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 представляет собой трансмембранный белок, присутствующий на поверхности клеток человека, активируемый инсулиноподобным фактором роста 1 (IGF-1) и 2 (IGF-2). Радиоиммуноконъюгаты согласно изобретению могут включать рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1R). Хотя он не является типичным онкогеном, IGF-1R способствует инициированию и прогрессированию рака, играя ключевую роль в митогенной трансформации и поддержании трансформированного фенотипа. IGF-1R был связан с развитием множества распространенных видов рака, включая рак молочной железы, легкого (например, немелкоклеточный рак легкого), печени, предстательной железы, поджелудочной железы, яичника, толстой кишки, меланому, аденокарциному и различные типы сарком. Передача сигналов IGF-1R стимулирует пролиферацию и метаболизм опухолевых клеток, поддерживает ангиогенез и обеспечивает защиту от апоптоза. Он влияет на метастатические факторы (например, передачу сигналов о HIF-1-зависимой гипоксии), свободный рост клеток, а также рост и выживаемость опухолевых метастазов после экстравазации. Было установлено, что IGF-1R также участвует в развитии, поддержании и обогащении устойчивых к терапии популяций раковых стволовых клеток.

Несмотря на обилие данных, свидетельствующих о роли IGF-1R при раке, терапевтические средства, нацеленные на IGF-1R, до сих пор не продемонстрировали существенного влияния на заболевание. Было высказано множество предположений о причине этой недостаточной эффективности, включая неспособность идентифицировать подходящие биомаркеры для идентификации пациентов, сложность и взаимозависимость сигнального пути IGF-1/IR, и развитие других компенсаторных механизмов гормона роста [Beckwith and Yee, *Mol Endocrinol*, November 2015, 29(11):1549–1557]. Радиоиммунотерапия, однако, может обеспечить перспективный механизм лечения раковых заболеваний, характеризующихся сверхэкспрессией рецептора IGF-1, путем использования способности IGF-1R подвергаться вызванной антителами интернализации и лизосомальной деградации для доставки нацеленных радиоизотопов внутрь раковых клеток. Интернализация и лизосомальная деградация радиоиммуноконъюгата, нацеленного на IGF-1R, продлевает время пребывания доставленного радиоизотопа внутри раковых клеток, тем самым максимизируя вероятность эмиссии, уничтожающей клетки. В случае актиния-225, который дает 4 альфа-частицы на цепочку распада, гибель клеток может быть достигнута всего лишь одним атомом радионуклида, доставляемым на клетку [Sgouros, et al. *J Nucl Med*. 2010, 51:311-2]. Уничтожение клеток из-за прямого воздействия на ДНК и разрушения альфа-частицей может происходить в клетке-мишени или в радиусе 2 или 3 не рассматриваемых в качестве мишеней клеток для данного альфа-распада. Помимо того, что они обладают очень высокой потенциальной противоопухолевой активностью, радиоиммуноконъюгаты, нацеленные на IGF-1R, не могут вызывать устойчивость к механизму действия, поскольку они, в отличие от терапевтического антитела, не зависят от блокирования связывания лиганда с рецептором для ингибирования онкологического процесса.

Несколько антител к IGF-1R было разработано и исследовано для лечения различных видов рака, включая фигитумумаб, циксутумумаб, ганитумаб, AVE1642 (также известное как гуманизированное EM164 и huEM164), BIIIB002, робатумумаб и тепротумумаб. После связывания с IGF-1R эти антитела интернализуются в клетку и подвергаются деградации лизосомальными ферментами. Комбинация сверхэкспрессии на опухолевых клетках и интернализации позволяет доставлять детектирующие агенты непосредственно в место опухоли, ограничивая при этом воздействие токсичных агентов на нормальные ткани.

CDR вариабельной области легкой цепи AVE1642 имеют следующие последовательности:

SEQ ID NO: 1 (CDR-L1) RSSQSIVHSNVNTYLE

SEQ ID NO: 2 (CDR-L2) KVSNRFS

SEQ ID NO: 3 (CDR-L3) FQGSHVPPT.

Вариабельная область легкой цепи AVE1642 имеет следующую последовательность:

SEQ ID NO: 4

DVVMQTPLSLPVSLGDPASISCRSSQSIVHSNVNTYLEWYLQKPGQSPRLLIYKVSNRFS
SGVPDRFSGSGAGTDFTLRISRVEAEDLGIYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK.

CDR вариабельной области тяжелой цепи AVE1642 имеют следующие последовательности:

SEQ ID NO: 5 (CDR-H1) SYWMH

SEQ ID NO: 6 (CDR-H2) GEINPSNGRTNY NQKFQG

SEQ ID NO: 7 (CDR-H3) GRPDYYGSSSKWY FDV.

Варибельная область тяжелой цепи AVE1642 имеет следующую последовательность:

SEQ ID NO: 8

QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQLEWIGEINPSNGRTNY

5 NQKFQGKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYFARGRPDYYGSSSKWYFDVWGQGTTV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG.

Нанотела

Нанотела представляют собой фрагменты антител, состоящие из одного мономерного
10 вариабельного домена антитела. Нанотела могут также называться однодоменными антителами.
Как и антитела, нанотела избирательно связываются с определенным антигеном. Нанотела могут
представлять собой вариабельные домены тяжелой цепи или домены легкой цепи. Нанотела
могут встречаться в природе или быть продуктом биологической инженерии. Нанотела могут быть
15 биологически сконструированы с помощью сайт-направленного мутагенеза или скрининга
мутагенных факторов (например, фагового дисплея, дрожжевого дисплея, бактериального
дисплея, мРНК-дисплея, рибосомного дисплея).

Аффитела

Аффитела представляют собой полипептиды или белки, сконструированные для
20 связывания с определенным антигеном. Таким образом, можно считать, что аффитела имитируют
определенные функции антител. Аффитела могут представлять собой сконструированные
варианты В-домена в иммуноглобулинсвязывающей области стафилококкового белка А.
Аффитела могут представлять собой сконструированные варианты Z-домена – В-домена,
имеющего более низкую аффинность к Fab-области. Аффитела могут быть биологически
25 сконструированы с помощью сайт-направленного мутагенеза или скрининга мутагенных факторов
(например, фагового дисплея, дрожжевого дисплея, бактериального дисплея, мРНК-дисплея,
рибосомного дисплея).

Были получены молекулы аффител, характеризующиеся специфическим связыванием с
различными белками (например, инсулином, фибриногеном, трансферрином, фактором некроза
30 опухоли- α , ИЛ-8, gp120, CD28, человеческим сывороточным альбумином, IgA, IgE, IgM, HER2 и
EGFR), демонстрирующие аффинности (K_d) в диапазоне от микромолярных до пикомолярных.

Домены фибронектина III типа

Домен фибронектина III типа является эволюционно консервативным белковым доменом,
35 присутствующим во множестве внеклеточных белков. Домен фибронектина III типа был
использован в качестве молекулярного каркаса для получения молекул, способных избирательно
связывать определенный антиген. Варианты доменов фибронектина III типа (FN3), которые были
сконструированы для избирательного связывания, также могут называться монотелами. Домены
FN3 могут быть биологически сконструированы с помощью сайт-направленного мутагенеза или
40 скрининга мутагенных факторов (например, CIs-дисплея, фагового дисплея, дрожжевого дисплея,
бактериального дисплея, мРНК-дисплея, рибосомного дисплея).

Модифицированные полипептиды

Полипептиды согласно изобретению могут иметь модифицированную аминокислотную последовательность. Модифицированные полипептиды могут быть по существу идентичны соответствующему референсному полипептиду (например, аминокислотная последовательность модифицированного полипептида может обладать по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью аминокислотной последовательности референсного полипептида). В отдельных вариантах осуществления модификация не нарушает желаемую биологическую активность (например, связывание с IGF-1R) в существенной степени. Модификация может понизить (например, по меньшей мере на 5%, 10%, 20%, 25%, 35%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 90% или 95%), может не оказать влияния, или может повысить (например, по меньшей мере на 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, 200%, 500% или 1000%) биологическую активность исходного полипептида. Модифицированный полипептид может обладать характеристикой полипептида или оптимизированной характеристикой полипептида, такой как стабильность *in vivo*, биодоступность, токсичность, иммунологическая активность, иммунологическая идентичность и свойства конъюгации.

Модификации включают осуществляемые естественными путями, такими как посттрансляционный процессинг, или методами химической модификации, известными в данной области техники. Модификации могут иметь место в любом месте полипептида, включая полипептидный остов, боковые цепи аминокислот и амино- или карбоксиконец. Один и тот же тип модификации может иметь место в одинаковой или различной степени в нескольких сайтах данного полипептида, и полипептид может содержать более одного типа модификации. Полипептиды могут быть разветвленными в результате убиквитинирования, и они могут быть циклическими, с разветвлением или без него. Циклические, разветвленные и разветвленные циклические полипептиды могут быть результатом посттрансляционных природных процессов или могут быть получены синтетическим путем. Другие модификации включают пегилирование, ацетилирование, ацилирование, добавление ацетамидометильной (Acm) группы, АДФ-рибозилирование, алкилирование, амидирование, биотинилирование, карбамоилирование, карбоксиэтилирование, этерификацию, ковалентное присоединение к флавину, ковалентное присоединение к гемному фрагменту, ковалентное присоединение нуклеотида или производного нуклеотида, ковалентное присоединение лекарственного средства, ковалентное присоединение маркера (например, флуоресцентного или радиоактивного), ковалентное присоединение липида или производного липида, ковалентное присоединение фосфатидилинозитола, сшивание, циклизацию, образование дисульфидной связи, деметилирование, образование ковалентных сшивок, образование цистина, образование пироглутамата, формилирование, гамма-карбоксилирование, гликозилирование, образование ГФИ-якорей, гидроксилирование, иодирование, метилирование, миристоилирование, окисление, протеолитический процессинг, фосфорилирование, пренилирование, рацемизацию, селеноилирование, сульфатирование, опосредованное транспортной РНК добавление аминокислот к белкам, такое как аргинилирование и убиквитинирование.

Модифицированный полипептид может также включать вставку, делецию или замену аминокислоты, консервативную либо неконсервативную (например, D-аминокислоты, дезаминокислоты) в полипептидной последовательности (например, когда такие изменения по

существу не изменяют биологическую активность полипептида). В частности, добавление одного или более остатков цистеина к амино- или карбоксиконцу любого из полипептидов согласно изобретению может способствовать конъюгации этих полипептидов, например, путем дисульфидного связывания. Например, полипептид может быть модифицирован путем включения

одного остатка цистеина на аминоконце или одного остатка цистеина на карбоксиконце. Аминокислотные замены могут быть консервативными (то есть, при которых один остаток заменяется другим того же основного типа или группы) или неконсервативными (то есть, при которых остаток заменяется аминокислотой другого типа). Кроме того, встречающаяся в природе аминокислота может быть заменена не встречающейся в природе аминокислотой (то есть, консервативная замена не встречающейся в природе аминокислотой или неконсервативная замена не встречающейся в природе аминокислотой).

Полипептиды, полученные синтетическим путем, могут включать замены аминокислот, не кодируемых ДНК естественным образом (например, не встречающихся в природе или неприродных аминокислот). Примеры не встречающихся в природе аминокислот включают D-аминокислоты, N-защищенные аминокислоты, аминокислоту, имеющую ацетиламинометильную группу, присоединенную к атому серы цистеина, пегилированную аминокислоту, омега-аминокислоты формулы $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, где n составляет 2-6, нейтральные неполярные аминокислоты, такие как саркозин, трет-бутилаланин, трет-бутилглицин, N-метилизолейцин и норлейцин. Фенилглицин может заменить Trp, Tug или Phe; цитруллин и метионинсульфоксид являются нейтральными неполярными, цистеиновая кислота является кислотой, а орнитин является основным. Пролин может быть заменен гидроксипролином и сохранять свойства, придающие конформацию.

Аналоги могут быть получены с помощью заместительного мутагенеза и сохраняют биологическую активность исходного полипептида. Примеры замен, определяемых как «консервативные замены», приведены в таблице 1. Если такие замены приводят к нежелательному изменению, то вводятся замены другого типа, обозначенные как «иллюстративные замены» в таблице 1, или как дополнительно описано в настоящем документе со ссылкой на классы аминокислот, и полученные продукты подвергаются скринингу.

Таблица 1: аминокислотные замены

Исходный остаток	Иллюстративная замена	Консервативная замена
Ala (A)	Val, Leu, Ile	Val
Arg (R)	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn (N)	Gln, His, Lys, Arg	Gln
Asp (D)	Glu	Glu
Cys (C)	Ser	Ser
Gln (Q)	Asn	Asn
Glu (E)	Asp	Asp
Gly (G)	Pro	Pro
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe, норлейцин	Leu

Исходный остаток	Иллюстративная замена	Консервативная замена
Leu (L)	Норлейцин, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys (K)	Arg, Gln, Asn	Arg
Met (M)	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala	Leu
Pro (P)	Gly	Gly
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr	Tyr
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val (V)	Ile, Leu, Met, Phe, Ala, норлейцин	Leu

Существенные модификации функции или иммунологической идентичности осуществляются путем выбора замен, которые существенно различаются по своему воздействию на сохранение (а) структуры полипептидного остова в области замены, например, в виде листовой или спиральной конформации, (b) заряда или гидрофобности молекулы в целевом сайте или (с) размера боковой цепи.

Сшивающие группы

Сшивающая группа представляет собой реакционноспособную группу, способную соединять две или более молекул ковалентной связью. Сшивающие группы могут применяться для присоединения линкера и хелатирующего фрагмента к терапевтическому или нацеливающему фрагменту. Сшивающие группы также могут применяться для присоединения линкера и хелатирующего фрагмента к мишени *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления сшивающая группа представляет собой аминореактивную, метионинреактивную или тиолреактивную сшивающую группу, или обеспечивает опосредованное сортазой связывание. В некоторых вариантах осуществления аминореактивная или тиолреактивная сшивающая группа содержит активированный сложный эфир, такой как сложный эфир гидроксисукцинимид, сложный эфир 2,3,5,6-тетрафторфенола, сложный эфир 4-нитрофенола, или имидат, ангидрид, тиол, дисульфид, малеимид, азид, алкин, напряженный алкин, напряженный алкен, галоген, сульфонат, галогенацетил, амин, гидразид, диазирин, фосфин, тетразин, изотиоцианат или оксазиридин. В некоторых вариантах осуществления последовательность распознавания сортазой может состоять из концевой аминокислотной последовательности глицин-глицин-глицин (GGG) и/или LPTXG, где X представляет собой любую аминокислоту. Специалисту в данной области техники ясно, что использование сшивающих групп при осуществлении изобретения не ограничивается конкретными конструкциями, раскрытыми в настоящем документе, а напротив, может включать другие известные сшивающие группы.

Детектирующие агенты

Детектирующий агент представляет собой молекулу или атом, вводимый в виде конъюгата с полипептидом, например, антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, и подходящий для диагностирования заболевания путем определения местоположения клеток, содержащих

антиген, планирования радиационной терапии или лечения заболевания. Подходящие детектирующие агенты включают, не ограничиваясь перечисленным, радиоизотопы, красители (например, с комплексом биотин-стрептавидин), контрастные вещества, флуоресцирующие соединения или молекулы, люминесцирующие агенты и усиливающие контраст агенты (например, парамагнитные ионы) для магнитно-резонансной томографии (МРТ). Чтобы нагрузить полипептидный компонент детектирующим агентом, может потребоваться его взаимодействие с реагентом, имеющим линкер, к которому присоединен детектирующий агент или несколько детектирующих агентов.

10 *Радиоизотопы и радионуклиды*

Радиоизотопы и радионуклиды, известные в данной области техники как подходящие для применения в качестве детектирующих агентов, включают, не ограничиваясь перечисленным, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{35}S , ^{47}Sc , ^{55}Co , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{89}Zr , ^{86}Y , ^{87}Y , ^{90}Y , ^{97}Ru , ^{99}Tc , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}In , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{149}Pm , ^{149}Tb , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Th , ^{229}Th , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{82}Rb , $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{201}Tl .

15 *Хелатирующие фрагменты*

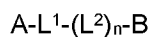
Хелатирующие фрагменты, известные в данной области техники как подходящие для применения в качестве детектирующих агентов, включают, не ограничиваясь перечисленным, DOTA (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусную кислоту), DOTMA (1R,4R,7R,10R)- $\alpha,\alpha',\alpha'',\alpha'''$ -тетраметил-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусную кислоту, DOTAM (1,4,7,10-тетракис(карбамоилметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан), DOTPA (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрапропионовую кислоту), DO3AM-уксусную кислоту (2-(4,7,10-трис(2-амино-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)уксусную кислоту), ангидрид DOTA-GA (2,2',2''-(10-(2,6-диоксотетрагидро-2Н-пиран-3-ил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триил)триуксусную кислоту), DOTP (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраметиленфосфоновую кислоту), DOTMP (1,4,6,10-тетраазациклодекан-1,4,7,10-тетраметиленфосфоновую кислоту), DOTA-4AMP (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетракис(ацетамидо-метиленфосфоновую кислоту), CB-TE2A (1,4,8,11-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан-4,11-диуксусную кислоту), NOTA (1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триуксусную кислоту), NOTP (1,4,7-триазациклононан-1,4,7-три(метиленфосфоновую кислоту), ТЕТРА (1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1,4,8,11-тетрапропионовую кислоту), ТЕТА (1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1,4,8,11-тетрауксусную кислоту), НЕНА (1,4,7,10,13,16-гексаазациклогексадекан-1,4,7,10,13,16-гексауксусную кислоту), РЕРА (1,4,7,10,13-пентаазациклопентадекан-N,N',N'',N''',N''''-пентауксусную кислоту), H₄Octapa (N,N'-бис(6-карбокси-2-пиридилметил)-этилендиамин-N,N'-диуксусную кислоту), H₂Dedpa (1,2-[[6-(карбокси)-пиридин-2-ил]-метиламино]этан), H₆phospa (N,N'-(метиленфосфонат)-N,N'-[6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил]-метил-1,2-диаминоэтан), ТТНА (триэтилететрамин-N,N,N',N'',N''',N''''-гексауксусную кислоту), DO2P (тетраазациклододекадиметанфосфоновую кислоту), HP-DO3A (гидроксипропилтетраазациклододекантриуксусную кислоту), EDTA (этилендиаминтетрауксусную кислоту), дефероксамин, ДТРА (диэтилентриаминпентауксусную кислоту), ДТРА-ВМА (диэтилентриаминпентауксусной кислоты бисметиламид), НОРО (октадентат на основе гидроксипиридинов) или порфирины. Хелатирующие группы могут применяться в комбинациях с

хелатами металлов с такими металлами, как марганец, железо и гадолиний, и изотопы (например, изотопы в общем энергетическом диапазоне от 60 до 4000 кэВ), такие как ^{47}Sc , ^{55}Co , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{82}Rb , ^{86}Y , ^{87}Y , ^{90}Y , ^{97}Ru , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}In , $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{149}Tb , ^{149}Pm , ^{153}Sm , ^{177}Lu , ^{188}Re , ^{188}Re , ^{199}Au , ^{201}Tl , ^{203}Pb , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{225}Ac и ^{227}Th .

5

Линкеры

Линкеры согласно изобретению могут иметь структуру Формулы I:



Формула I,

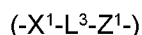
10 где А представляет собой хелатирующий фрагмент или его комплексное соединение с металлом; L^1 представляет собой необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил, замещенный $\text{C}_1\text{-C}_6$ гетероалкил, замещенный арил или гетероарил;

В представляет собой терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или сшивающую группу,

15 или ее фармацевтически приемлемой соли;

n составляет 1-5;

каждый L^2 независимо имеет структуру:



Формула II,

20

где X^1 представляет собой $\text{C=O(NR}^1\text{)}$, $\text{C=S(NR}^1\text{)}$, $\text{OC=O(NR}^1\text{)}$, $\text{NR}^1\text{C=O(O)}$, $\text{NR}^1\text{C=O(NR}^1\text{)}$, $-\text{CH}_2\text{PhC=O(NR}^1\text{)}$, $-\text{CH}_2\text{Ph(NH)C=S(NR}^1\text{)}$, O, NR^1 , и R^1 представляет собой H или необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил, или необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_6$ гетероалкил, замещенный арил или гетероарил;

25 L^3 представляет собой необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_{50}$ алкил или необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_{50}$ гетероалкил, или $\text{C}_5\text{-C}_{20}$ полиэтиленгликоль;

Z^1 представляет собой CH_2 , C=O , C=S , OC=O , $\text{NR}^1\text{C=O}$, NR^1 , и R^1 представляет собой водород или необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил, пирролидин-2,5-дион.

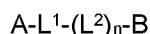
30 Конъюгаты согласно изобретению содержат три отдельных модуля, которые вместе приводят к повышенной эффективности указанных конъюгатов по сравнению с известными в данной области техники.

1. Хелатирующий фрагмент или его комплексное соединение с металлом:

Модуль А включен для включения детектирующего агента (например, хелатирующего фрагмента или его комплексного соединения с металлом). Комплексное соединение с металлом может 35 включать радионуклид для визуализации.

2. Линкеры:

Линкеры согласно изобретению имеют структуру Формулы I:



40

Формула I,

где А представляет собой хелатирующий фрагмент или его комплексное соединение с металлом;

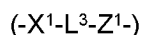
L¹ представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, замещенный C₁-C₆ гетероалкил, замещенный арил или гетероарил;

В представляет собой терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или сшивающую группу,

5 или ее фармацевтически приемлемой соли;

n составляет 1-5;

каждый L² независимо имеет структуру:



Формула II,

10 где X¹ представляет собой C=O(NR¹), C=S(NR¹), OC=O(NR¹), NR¹C=O(O), NR¹C=O(NR¹), -CH₂PhC=O(NR¹), -CH₂Ph(NH)C=S(NR¹), O, NR¹, и R¹ представляет собой H или необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, или необязательно замещенный C₁-C₆ гетероалкил, замещенный арил или гетероарил;

15 L³ представляет собой необязательно замещенный C₁-C₅₀ алкил или необязательно замещенный C₁-C₅₀ гетероалкил, или C₅-C₂₀ полиэтиленгликоль;

Z¹ представляет собой CH₂, C=O, C=S, OC=O, NR¹C=O, NR¹, и R¹ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, пирролидин-2,5-дион.

3. Терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или сшивающая группа:

Модуль В представляет собой терапевтический фрагмент (например, антитела, 20 антигенсвязывающие фрагменты), нацеливающий фрагмент (например, нанотела, аффитела, консенсусные последовательности из доменов фибронектина III типа) или сшивающую группу (например, аминокреактивную, тиолреактивную сшивающую группу, или обеспечивающую опосредованное сортазой связывание).

25 Введение и дозировка

Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим терапевтически эффективное количество соединения согласно изобретению. Композиция может быть приготовлена для применения в различных системах доставки лекарственных средств. Один или более физиологически приемлемых наполнителей или носителей также могут быть включены 30 в композицию для получения надлежащего препарата. Подходящие препараты для применения в настоящем изобретении описаны в *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed., 1985. Краткий обзор способов доставки лекарственных средств приведен в, например, Langer (*Science* 249:1527-1533, 1990).

35 Фармацевтические композиции предназначены для парентерального, интраназального, местного, перорального или локального введения, например трансдермальным путем, для профилактического и/или терапевтического лечения. Фармацевтические композиции могут быть введены парентерально (например, с помощью внутривенной, внутримышечной или подкожной инъекции) или путем приема внутрь, или путем местного применения или внутрисуставной инъекции в области, пораженные сосудистым или раковым заболеванием. Дополнительные 40 способы введения включают внутрисосудистое, внутриартериальное, внутриопухолевое, внутрибрюшинное, внутрижелудочковое, эпидуральное, а также назальное, глазное, интрасклеральное, внутриглазное, ректальное, местное введение или ингаляционное введение

аэрозоля. Введение с замедленным высвобождением также включено в изобретение и осуществляется такими средствами, как инъекции депо-препаратов или эродируемые имплантаты или компоненты. Таким образом, изобретение относится к композициям для парентерального введения, которые включают, помимо прочего, вышеупомянутые агенты, растворенные или

5 суспендированные в приемлемом носителе, предпочтительно в водном носителе, например, воде, забуференной воде, физиологическом растворе или PBS (натрий-фосфатном буфере). Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, необходимые для имитации физиологических условий, такие как, среди прочих, агенты, регулирующие pH, и буферные агенты, агенты, регулирующие тоничность, смачивающие агенты

10 или детергенты. Изобретение также относится к композициям для пероральной доставки, которые могут содержать инертные ингредиенты, такие как связующие вещества или наполнители, для приготовления стандартной лекарственной формы, такой как таблетка или капсула. Кроме того, данное изобретение относится к композициям для местного применения, которые могут содержать инертные ингредиенты, такие как растворители или эмульгаторы, для приготовления крема, мази,

15 геля, пасты или глазных капель.

Эти композиции могут быть стерилизованы обычными методами стерилизации или могут быть подвергнуты стерилизующей фильтрации. Полученные водные растворы могут быть упакованы для использования в исходном виде или лиофилизированы, причем лиофилизированный препарат объединяют со стерильным водным носителем перед введением.

20 pH препаратов обычно составляет от 3 до 11, более предпочтительно от 5 до 9 или от 6 до 8, и наиболее предпочтительно от 6 до 7, например, от 6 до 6,5. Полученные композиции в твердой форме могут быть упакованы в несколько однодозовых емкостей, каждая из которых содержит фиксированное количество вышеупомянутого агента или агентов, таких как содержащиеся в запечатанной упаковке таблеток или капсул. Композиция в твердой форме также может быть

25 упакована в контейнер для адаптируемого количества, например, в сжимаемую тубу, предназначенную для применяемого местно крема или мази.

Композиции, содержащие эффективное количество, могут быть введены для планирования радиационной терапии, диагностики или терапевтического лечения. При введении для целей планирования радиационной терапии или диагностики конъюгат вводят субъекту в диагностически

30 эффективной дозе и/или в количестве, эффективном для определения терапевтически эффективной дозы. При терапевтических применениях композиции вводят субъекту (например, человеку), уже страдающему от состояния (например, рака), в количестве, достаточном для излечения или по меньшей мере частичного купирования симптомов расстройства и его осложнений. Количество, достаточное для достижения этой цели, определено как «терапевтически

35 эффективное количество», представляющее собой количество соединения, достаточное для существенного улучшения по меньшей мере одного симптома, связанного с заболеванием или медицинским состоянием. Например, при лечении рака агент или соединение, которое уменьшает, предотвращает, задерживает, подавляет или купирует любой симптом заболевания или состояния, будет терапевтически эффективным. Терапевтически эффективное количество агента

40 или соединения не требуется для излечения заболевания или состояния, но будет обеспечивать лечение заболевания или состояния таким образом, чтобы начало заболевания или состояния было задержано, затруднено или предотвращено, или симптомы заболевания или состояния

улучшались, или продолжительность заболевания или состояния изменилась, или, например, оно было менее серьезным, или у индивидуума ускорилось выздоровление. Конъюгаты согласно изобретению могут применяться для лечения рака путем введения субъекту первой дозы любого из вышеуказанных конъюгатов или композиций в количестве, эффективном для планирования радиационной терапии, с последующим введением второй дозы любого из вышеуказанных конъюгатов или композиций в терапевтически эффективном количестве.

Количества, эффективные для этих применений, могут зависеть от тяжести заболевания или состояния, а также от массы тела и общего состояния субъекта. Терапевтически эффективное количество композиций согласно изобретению, используемое в способах согласно данному изобретению у млекопитающих (например, людей), может быть определено специалистом в данной области техники с учетом индивидуальных различий в возрасте, массе тела и состоянии млекопитающего. Поскольку отдельные конъюгаты согласно изобретению проявляют повышенную способность нацеливаться на раковые клетки и удерживаться в них в остаточном количестве, дозировка соединений согласно изобретению может быть ниже (например, меньше или равна приблизительно 90%, 75%, 50%, 40%, 30%, 20%, 15%, 12%, 10%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% или 0,1% от) эквивалентной дозы неконъюгированного агента, необходимой для достижения терапевтического эффекта. Агенты согласно изобретению вводят субъекту (например, млекопитающему, такому как человек) в эффективном количестве, которое представляет собой количество, дающее желаемый результат у субъекта, проходящего лечение. Терапевтически эффективные количества также могут быть определены опытным путем специалистами в данной области техники.

Может быть осуществлено разовое или многократное введение композиций согласно изобретению, включающих эффективное количество, в соответствии с величиной дозы и схемой, выбранных лечащим врачом. Доза и схема введения могут быть определены и скорректированы в зависимости от тяжести заболевания или состояния у субъекта, которое может контролироваться на протяжении всего курса лечения в соответствии с методами, обычно применяемыми врачами или описанными в настоящем документе.

Конъюгаты согласно настоящему изобретению могут применяться в комбинации с традиционными методами лечения или терапии, или могут применяться отдельно от традиционных методов лечения или терапии.

Когда соединения по данному изобретению вводят в комбинированной терапии с другими агентами, они могут быть введены индивидууму последовательно или одновременно. В качестве альтернативы, фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут состоять из комбинации соединения согласно настоящему изобретению в сочетании с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, как описано в настоящем документе, и другого терапевтического или профилактического агента, известного в данной области техники.

Термины «антипролиферативный» или «антипролиферативный агент», используемые в настоящем документе взаимозаменяемо, означают любой противораковый агент, включая антипролиферативные агенты, перечисленные в таблице 2, любой из которых может применяться в комбинации с конъюгатом согласно изобретению для лечения медицинских состояний, перечисленных в настоящем документе. Антипролиферативные агенты также включают

органические производные платины, производные нафтохинона и бензохинона, хризофановую кислоту и ее антрахиноновые производные.

Термины «иммунорегуляторный агент» или «иммуномодулирующий агент», используемые в настоящем документе взаимозаменяемо, означают любой иммуномодулятор, включая
5 перечисленные в таблице 2, любой из которых может применяться в комбинации с конъюгатом согласно изобретению для лечения медицинских состояний, перечисленных в настоящем документе.

В контексте настоящего документа термин «радиосенсибилизатор» включает любой агент, повышающий чувствительность раковых клеток к радиационной терапии. Радиосенсибилизаторы
10 могут включать, не ограничиваясь перечисленным, 5-фторурацил, аналоги платины (например, цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин), гемцитабин, антагонисты EGFR (например, цетуксимаб, гефитиниб), ингибиторы фарнезилтрансферазы, ингибиторы COX-2, антагонисты bFGF и антагонисты VEGF.

Таблица 2		
Алкилирующие агенты	бусульфан дакарбазин ифосфамид гексаметилмеламин тиотепа дакарбазин ломустин циклофосфамид	хлорамбуцил прокарбазин альтерамин эстрамустина фосфат мехлорэтамин стрептозоцин темозоломид семусти
Агенты на основе платины	спироплатин тетраплатин ормаплатин ипроплатин пикоплатин оксалиплатин карбоплатин	лобаплатин (Aeterna) сатраплатин (Johnson Matthey) BBR-3464 (Hoffmann-La Roche) мириплатин AP-5280 (Access) цисплатин
Антиметаболиты	азациитидин флоксуридин 2-хлордезоксиаденозин 6-меркаптопурин 6-тиогуанин цитарабин 2-фтордезоксцитидин метотрексат томудекс флударабин ралтитрексед	триметрексат дезоксикоформицин пентостатин гидроксимочевина децитабин (SuperGen) клофарабин (Bioenvision) ирофульвен (MGI Pharma) DMDC (2'-дезоксид-2'-метилиденцитидин) (Hoffmann-La Roche) этинилцитидин (Taiho) гемцитабин капецитабин

Таблица 2		
Ингибиторы топоизомеразы	амсакрин эпирубицин этопозид тенипозид или митоксантрон 7-этил-10-гидроксикамπτотецин дексразоксанет (ToroTarget) пиксантрон (Novuspharma) аналог ребеккамицина (Exelixis) BBR-3576 (Novuspharma) рубитекан (SuperGen) иринотекан (CPT-11) топотекан	экзатекана мезилат (Daiichi) хинамед (ChemGenex) гиматекан (Sigma-Tau) дифломотекан (Beaufour-Ipsen) TAS-103 (Taiho) эльсамитруцин (Spectrum) эдотекарин козитекан белотекан гидроксикамπτотецин (SN-38)
Противоопухолевые антибиотики	валрубицин терарубицин идарубицин рубидазон пликамицин порфиروмицин митоксантрон (новантрон) амонафид	азонафид антрапиразол оксантразол лозоксантрон сабарубицин эпирубицин митоксантрон доксорубицин
Антимитотические агенты	колхицин винбластин виндезин доластатин 10 (NCI) ризоксин (Fujisawa) мивобулин (Warner-Lambert) цемадотин (BASF) RPR 109881A (Aventis) TXD 258 (Aventis) эпотилон В (эпотилон В) T 900607 (Tularik) T 138067 (Tularik) криптофицин 52 (Eli Lilly) винфлунин (Fabre) ауристатин PE (Teikoku Hormone) BMS 247550 (BMS) BMS 184476 (BMS) BMS 188797 (BMS) таксопрексин (Protarga) SB 408075 (GlaxoSmithKline) винорелбин трихостатин А	E7010 (Abbott) PG-TXL (Cell Therapeutics) IDN 5109 (Bayer) A 105972 (Abbott) A 204197 (Abbott) LU 223651 (BASF) D 24851 (ASTAMedica) ER-86526 (Eisai) комбретастатин-А4 (BMSC) изогомогалихондрин-В (PharmaMar) ZD 6126 (AstraZeneca) AZ10992 (Asahi) IDN-5109 (Indena) AVLB (Prescient NeuroPharma) азаэпотилон В (BMS) BNP-7787 (BioNumerik) пролекарство CA-4 (OXiGENE) доластатин-10 (NIH) CA-4 (OXiGENE) доцетаксел винкристин паклитаксел
Ингибиторы ароматазы	аминоглутетимид атаместан (BioMedicines) летрозол анастрозол	YM-511 (Yamanouchi) форместан эксеместан
Ингибиторы тимидилатсинтазы	пеметрексед (Eli Lilly) ZD-9331 (BTG)	нолатрексед (Eximias) CoFactor™ (BioKeys)

Таблица 2		
Антагонисты ДНК	трабектедин (PharmaMar) глюфосфамид (Baxter International) альбумин + ^{32}P (Isotope Solutions) тимектацин (NewBiotics)	эдотреотид (Novartis) мафосфамид (Baxter International) апазиквон (Spectrum Pharmaceuticals) 6-О-бензилгуанин (Paligent)
Ингибиторы фарнезилтрансферазы	арглабин (NuOncology Labs) лонафарниб (Schering-Plough) BAY-43-9006 (Bayer)	типифарниб (Johnson & Johnson) периллиловый спирт (DOR BioPharma)
Ингибиторы протонной помпы	CBT-1 (CBA Pharma) тариквидар (Xenova) MS-209 (Schering AG)	зосуквидара тригидрохлорид (Eli Lilly) бирикодара дицитрат (Vertex)
Ингибиторы гистонацетилтрансферазы	тацединалин (Pfizer) SAHA (Aton Pharma) MS-275 (Schering AG)	пивалоилоксиметил бутират (Titan) депсипептид (Fujisawa)
Ингибиторы металлопротеиназ	неовастат (Aeterna Laboratories) маримастат (British Biotech)	CMT-3 (CollaGenex) BMS-275291 (Celltech)
Ингибиторы рибонуклеозидредуктазы	мальтолат галлия (Titan) триапин (Vion)	тезацитабин (Aventis) дидокс (Molecules for Health)
Агонисты/антагонисты $\text{TNF-}\alpha$	вирулизин (Lorus Therapeutics) CDC-394 (Celgene)	ревимид (Celgene)
Антагонист рецептора эндотелина А	атрасентан (Abbott) ZD-4054 (AstraZeneca)	YM-598 (Yamanouchi)
Агонисты рецепторов ретиноевой кислоты	фенретинид (Johnson & Johnson) LGD-1550 (Ligand)	алитретиноин (Ligand)

Таблица 2		
Иммуномодуляторы	интерферон онкофар (Antigenics) GMK (Progenics) вакцина против аденокарциномы (Biomira) CTP-37 (AVI BioPharma) IRX-2 (Immuno-Rx) PEP-005 (Peplin Biotech) вакцины синхровакс (CTL Immuno) вакцина против меланомы (CTL Immuno) вакцина p21 RAS (GemVax) MAGE-A3 (GSK) ниволумаб (BMS) абатацепт (BMS) пембролизумаб (Merck)	дексосомная терапия (Anosys) пентрикс (Australian Cancer Technology) ISF-154 (Tragen) вакцина против рака (Intercell) норелин (Biostar) BLP-25 (Biomira) MGv (Progenics) бета-алетин (Dovetail) терапия ХЛЛ (Vasogen) ипилимумаб (BMS), CM-10 (cCam Biotherapeutics) атезолизумаб (Genentech)
Гормональные и антигормональные агенты	эстрогены конъюгированные эстрогены этинилэстрадиол хлортианизен иденестрол гидроксипрогестерона капроат медроксипрогестерон тестостерон тестостерона пропионат; флюоксиместерон метилтестостерон диэтилстилбестрол мегестрол бикалутамид флутамид нилутамид	дексаметазон преднизон метилпреднизон преднизолон аминоклутетимид лейпролид октреотид митотан P-04 (Novogen) 2-метоксиэстрадиол (EntreMed) арзоксифен (Eli Lilly) тамоксифен торемофин гозерелин лейпрорелин бикалутамид
Агенты для фотодинамической терапии	талапорфин (Light Sciences) тералюкс (Theratechnologies) гадолиния мотексафин (Pharmacocyclics)	Pd-бактериофеофорбид (Yeda) лютеция мотексафин гиперацин

Таблица 2		
Ингибиторы киназы	иматиниб (Novartis) лефлуномид (Sugen/Pharmacia) ZD1839 (AstraZeneca) эрлотиниб (Oncogene Science) канертиниб (Pfizer) скваламин (Genaera) SU5416 (Pharmacia) SU6668 (Pharmacia) ZD4190 (AstraZeneca) ZD6474 (AstraZeneca) ваталаниб (Novartis) PKI166 (Novartis) GW2016 (GlaxoSmithKline) EKB-509 (Wyeth) трастузумаб (Genentech) OSI-774 (Tarceva™) CI-1033 (Pfizer) SU11248 (Pharmacia) RH3 (York Medical) генистеин радицинол Met-MAb (Roche)	EKB-569 (Wyeth) кагалид F (PharmaMar) CEP-701 (Cephalon) CEP-751 (Cephalon) MLN518 (Millenium) PKC412 (Novartis) феноксодиол (Novogen) C225 (ImClone) rhu-Mab (Genentech) MDX-H210 (Medarex) 2C4 (Genentech) MDX-447 (Medarex) ABX-EGF (Abgenix) IMC-1C11 (ImClone) Тирфостины гефитиниб (Iressa) PTK787 (Novartis) EMD 72000 (Merck) эмодин радицинол вемурафениб (ингибитор фермента B-Raf, Daiichi Sankyo)

Таблица 2

SR-27897 (ингибитор ССК А, Sanofi-Synthelabo) токладезин (агонист циклического АМФ, Ribapharm) альвоцидиб (ингибитор CDK, Aventis) CV-247 (ингибитор COX-2, Ivy Medical) P54 (ингибитор COX-2, Phytopharm) CapCell™ (стимулятор CYP450, Bavarian Nordic) GCS-100 (антагонист gal3, GlycoGenesys) иммуноген G17DT (ингибитор гастрина, Aphton) эфапроксирал (оксигенатор, Allos Therapeutics) PI-88 (ингибитор гепараназы, Progen) тесмилифен (антагонист гистамина, YM BioSciences) гистамин (агонист H2-гистаминовых рецепторов, Maxim) тиазофурин (ингибитор ИМФДГ, Ribapharm) циленгитид (антагонист интегрин, Merck KGaA) SR-31747 (антагонист ИЛ-1, Sanofi-Synthelabo) CCI-779 (ингибитор киназы mTOR, Wyeth) эксизулинд (ингибитор ФДЭ-5, Cell Pathways) CP-461 (ингибитор ФДЭ-5, Cell Pathways) AG-2037 (ингибитор GART, Pfizer) WX-UK1 (ингибитор активатора плазминогена, Wilex) PBI-1402 (стимулятор PMN, ProMetic LifeSciences) бортезомиб (ингибитор протеасом, Millennium) SRL-172 (стимулятор Т-клеток, SR Pharma) TLK-286 (ингибитор глутатион-S-трансферазы, Telik) PT-100 (агонист фактора роста, Point Therapeutics) мидостаурин (ингибитор PKC, Novartis) бриостатин-1 (стимулятор PKC, GPC Biotech) CDA-II (промотор апоптоза, Everlife) SDX-101 (промотор апоптоза, Salmedix) ритуксимаб (антитело к CD20, Genentech) кармустин митоксантрон блеомицин абстинтин хризофановая кислота оксиды цезия ингибиторы BRAF, ингибиторы PD-L1 ингибиторы MEK бевацизумаб ингибиторы ангиогенеза дабрафениб	цефлатонин (промотор апоптоза, ChemGenex) BCX-1777 (ингибитор PNP, BioCryst) ранпирназа (стимулятор рибонуклеазы, Alfacell) галарубицин (ингибитор синтеза РНК, Dong-A) тирапазамин (восстановитель, SRI International) N-ацетилцистеин (восстановитель, Zambon) R-флурбипрофен (ингибитор NF-κB, Encore) 3CPA (ингибитор NF-κB, Active Biotech) сеокальцитол (агонист рецептора витамина D, Leo) 131-I-TM-601 (антагонист ДНК, TransMolecular) эфлорнитин (ингибитор ODC, ILEX Oncology) минодроновая кислота (ингибитор остеокластов, Yamanouchi) индисулам (стимулятор p53, Eisai) аплидин (ингибитор PPT, PharmaMar) гемтузумаб (антитело к CD33, Wyeth Ayerst) PG2 (усилитель гематопоза, Pharmagenesis) Immunol™ (ополоскиватель для полости рта на основе триклозана, Endo) триацетилюридин (пролекарство уридина, Wellstat) SN-4071 (средство против саркомы, Signature BioScience) TransMID-107™ (иммунотоксин, KS Biomedix) PCK-3145 (промотор апоптоза, Procyon) доранидазол (промотор апоптоза, Pola) CHS-828 (цитотоксический агент, Leo) транс-ретиноевая кислота (дифференцирующий агент, NIH) MX6 (промотор апоптоза, MAXIA) апомин (промотор апоптоза, ILEX Oncology) уроцидин (промотор апоптоза, Bioniche) Ro-31-7453 (промотор апоптоза, La Roche) бросталлицин (промотор апоптоза, Pharmacia) β-лапачон гелонин кафестол кахвеол кофейная кислота тирфостин AG ингибиторы PD-1 ингибиторы CTLA-4 сорафениб
--	---

Следующие примеры предназначены для иллюстрации синтеза ряда иллюстративных конъюгатов и применения этих конъюгатов для лечения рака. Соответственно, следующие примеры предназначены для иллюстрации, но не для ограничения изобретения. Дополнительные соединения, не показанные в примерах, могут быть синтезированы с использованием
5 общепринятых способов в сочетании со способами, описанными в настоящем документе.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Общие материалы и методы

Использованные антитела представляли собой HuMlgG (Aldrich, I4506) и HuMIGF-1R (AVE1642). Лютеций-177 был получен от Perkin Elmer в виде хлорида лютеция в 0,05 н. растворе соляной кислоты.

Аналитическую ВЭЖХ-МС (высокоэффективную жидкостную хроматографию с масс-спектрометрическим детектированием) проводили с использованием системы ВЭЖХ-МС Waters Acquity, состоящей из бинарного насоса Waters Acquity, диспетчера образцов Waters Acquity (образцы охлаждались до 10 °C), диспетчера колонок Water Acquity (температура колонки 30 °C),
15 фотодиодно-матричного детектора Waters Acquity (контроль при 254 нм и 214 нм), tandemного квадрупольного масс-детектора (TQD) Waters Acquity с электроспрей-ионизацией и колонки Waters Acquity BEH C18, 2,1×50 (1,7 мкм). Препаративную ВЭЖХ проводили с использованием системы ВЭЖХ Waters, состоящей из бинарного насоса для ВЭЖХ Waters 1525, детектора в УФ/видимом
20 диапазоне Waters 2489 (контроль при 254 нм и 214 нм) и колонки Waters XBridge Prep phenyl или C18 19×100 мм (5 мкм).

Метод элюирования в ВЭЖХ 1: колонка Waters Acquity BEH C18 2,1 × 50 мм (1,7 мкм); подвижная фаза А: H₂O (0,1 об.% TFA (трифторуксусной кислоты)); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1 об.% TFA); скорость потока = 0,3 мл/мин; изначально = 90% А, 3-3,5 мин = 0% А,
25 4 мин = 90% А, 5 мин = 90% А.

Метод элюирования в ВЭЖХ 2: колонка Waters XBridge Prep Phenyl 19 × 100 мм (5 мкм); подвижная фаза А: H₂O (0,1 об.% TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1 об.% TFA); скорость потока: 10 мл/мин; изначально = 80% А, 13 мин = 0% А.

Метод элюирования в ВЭЖХ 3: колонка Waters Acquity BEH C18 2,1 × 50 мм (1,7 мкм); подвижная фаза А: H₂O (0,1 об.% TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1 об.% TFA); скорость
30 потока = 0,3 мл/мин; изначально = 90% А, 8 мин = 0% А, 10 мин = 0% А, 11 мин = 90% А, 12 мин = 90% А.

Метод элюирования в ВЭЖХ 4: колонка Waters XBridge Prep C18 OBD 19 × 100 мм (5 мкм); подвижная фаза А: H₂O (0,1 об.% TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1 об.% TFA); скорость
35 потока: 10 мл/мин; изначально = 80% А, 3 мин = 80% А, 13 мин = 20% А, 18 мин = 0% А.

Метод элюирования в ВЭЖХ 5: колонка Waters XBridge Prep C18 OBD 19 × 100 мм (5 мкм); подвижная фаза А: H₂O (0,1 об.% TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1 об.% TFA); скорость потока: 10 мл/мин; изначально = 90% А, 3 мин = 90% А, 13 мин = 0% А, 20 мин = 0% А.

Метод элюирования в ВЭЖХ 6: колонка Waters XBridge Prep C18 OBD 19 × 100 мм (5 мкм); подвижная фаза А: H₂O (0,1 об.% TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1 об.% TFA); скорость
40 потока: 10 мл/мин; изначально = 75% А, 13 мин = 0% А, 15 мин = 0% А.

Метод элюирования в ВЭЖХ 7: колонка Waters XBridge Prep C18 OBD 19 × 100 мм (5 мкм); подвижная фаза А: H₂O (0,1 об.% TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1 об.% TFA); скорость потока: 10 мл/мин; изначально = 80% А, 12 мин = 0% А, 15 мин = 0% А.

5 Метод элюирования в ВЭЖХ 8: колонка Waters XBridge Prep C18 OBD 19 × 100 мм (5 мкм); подвижная фаза А: H₂O (0,1 об.% TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1 об.% TFA); скорость потока: 10 мл/мин; изначально = 90% А, 12 мин = 0% А, 15 мин = 0% А.

Аналитическую эксклюзионную хроматографию (SEC) проводили с использованием системы Waters, состоящей из бинарного насоса для ВЭЖХ Waters 1525, детектора в УФ/видимом диапазоне Waters 2489 (контроль при 280 нм), детектора радиационного излучения Bioscan Flow Count (FC-3300) и колонки TOSOH TSKgel G3000SWxl, 7,8×300 мм. При проведении изократического метода SEC использовали скорость потока = 1 мл/мин с подвижной фазой, представляющей собой 0,1 М фосфата, 0,6 М NaCl, 0,025% азиды натрия, pH = 7.

15 МАЛДИ-МС (матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация с масс-спектрометрией) (в режиме регистрации положительных ионов) проводили с использованием спектрометра для МАЛДИ Bruker Ultraflexxtreme.

Радиотонкослойную хроматографию (радиоТСХ), проведенную с помощью сканера для визуализации Bioscan AR-2000, осуществляли на планшетах с бумагой для хроматографии из стеклянного микроволокна iTLC-SG (Agilent Technologies, SGI0001) с использованием цитратного буфера (0,1 М, pH 5,5).

20

Пример 2. Синтез [¹⁷⁷Lu]-соединение A-HuMIGF-1R (коммерческий стандарт)

Бифункциональный хелатирующий агент 2,2',2''-(10-(2,6-диоксотетрагидро-2H-пиран-3-ил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триил)триуксусная кислота (ангидрид DOTA-GA, соединение А) был получен от CheMatech.

25 Соединение А (3,0 мкмоль) растворяли в натрий-ацетатном буфере (0,228 мл, pH 6,5). Аликвоту раствора соединения А (8 мкл, 106 нмоль) добавляли к раствору, содержащему антитело HuMIGF-1R (6,7 нмоль, AVE1642) в бикарбонатном буфере (pH 8,5). Через 1 час при температуре окружающей среды полученный иммуноконъюгат очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50. Иммуноконъюгат (соединение А)-HuMIGF-1R элюировали из колонки ацетатным буфером (pH 6,5). Время удерживания в SEC: 8,2 мин; МАЛДИ-МС (в режиме регистрации положительных ионов): (соединение А)-HuMIGF-1R: найдено m/z 151759; HuMIGF-1R: найдено m/z 149835.

35 В качестве типичной реакции Lu-177 (1,1 мКи, 14 мкл) добавляли к раствору (соединение А)-HuMIGF-1R (100 мкг в ацетатном буфере (pH 6,5) и аскорбиновой кислоте (1 мкл, 0,1 М в ацетатном буфере (pH 6,5)). Реакцию присоединения радиоактивной метки проводили при инкубировании при 37 °С в течение 30 минут. Неочищенный продукт, [¹⁷⁷Lu]-соединение А-HuMIGF-1R, очищали через очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50, при элюировании ацетатным буфером (pH 6,5, 1 мМ аскорбиновой кислоты). Время удерживания в SEC: 8,1 мин; радиохимическая чистота в радиоТСХ: 99%; радиохимический выход: 74%; удельная радиоактивность: 8,2 мКи/мг.

40

Пример 3. Синтез 4-[[11-оксо-11-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)ундецил]карбамоил]-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (соединение В)

Бифункциональный хелат, 4-[[11-оксо-11-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)ундецил]карбамоил]-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановую кислоту

5 (соединение В), синтезировали в соответствии со схемой, представленной на **фиг. 2**. К раствору 5-(трет-бутокси)-5-оксо-4-(4,7,10-трис(2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)пентановой кислоты (DOTA-GA-(tBu)₄, 50 мг, 0,07 ммоль) в ACN (ацетонитриле) (2,0 мл) добавляли DSC (50 мг, 0,21 ммоль), а затем пиридин (0,20 мл, 2,48 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. К реакционной смеси добавляли 11-аминоундекановую кислоту (70 мг, 0,36 ммоль), а затем раствор PBS (фосфатно-солевой буфер) (1,0 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали в течение 72 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтровали через шприцевой фильтр и очищали непосредственно препаративной ВЭЖХ, используя метод 6, с получением промежуточного соединения 2-А (71 мг, 74,8%).

15 К раствору промежуточного соединения 2-А (40 мг, 0,03 ммоль), TFP (90 мг, 0,54 ммоль) и EDC (40 мг, 0,27 ммоль) в ACN (1,0 мл) добавляли пиридин (0,05 мл, 50 мг, 0,62 ммоль) при комнатной температуре. Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Реакционную смесь очищали непосредственно препаративной ВЭЖХ, используя метод 7, с получением промежуточного соединения 2-В (33 мг, 82,5%) в виде воска после концентрирования с использованием прибора для быстрого выпаривания Biotage V10.

20 Промежуточное соединение 2-В (33 мг, 0,022 ммоль) растворяли в ДХМ (дихлорметане)/TFA (1,0 мл/2,0 мл) и оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 24 часов. Реакционную смесь концентрировали потоком воздуха и очищали непосредственно препаративной ВЭЖХ, используя метод 8, с получением после концентрирования соединения В (14 мг, 50,0%) в виде бесцветного воска. Аликвоту анализировали с помощью ВЭЖХ-МС с использованием метода элюирования 3; время удерживания: 4,15 минуты; МС (положительная ЭСИ): найдено m/z 808,1 [M+H]⁺; C₃₆H₅₄F₄N₅O₁₁ (рассч. 808,8).

25 ¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-*d*₆) δ 7,99 – 7,88 (m, 1H), 7,82 (t, *J* = 5,5 Гц, 1H), 3,78 (широкая s, 4H), 3,43 (широкая s, 12H), 3,08 (широкая s, 4H), 3,00 (m, 3H), 2,93 (широкая s, 3H), 2,77 (t, *J* = 7,2 Гц, 2H), 2,30 (широкая s, 2H), 1,88 (широкая s, 2H), 1,66 (p, *J* = 7,3 Гц, 2H), 1,36 (m, 4H), 1,32 – 1,20 (m, 9H).

Пример 4. Синтез [¹⁷⁷Lu]-соединение В-HuMIGF-1R

Соединение В (0,7 мкмоль) растворяли в натрий-ацетатном буфере (69 мкл, pH 6,5).

35 Аликвоту раствора соединения В (4 мкл, 40 нмоль) добавляли к раствору, содержащему антитело HuMIGF-1R (6,7 нмоль) в бикарбонатном буфере (pH 8,5). Через 1 час при температуре окружающей среды полученный иммуноконъюгат очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50. Иммуноконъюгат соединения В-HuMIGF-1R элюировали из колонки ацетатным буфером (pH 6,5). МАЛДИ-TOF (времяпролетная масс-спектрометрия)-МС (в режиме регистрации положительных ионов): соединение В-HuMIGF-1R: найдено m/z 152988 [M+H]⁺; HuMIGF-1R: найдено m/z 149835 [M+H]⁺.

В качестве типичной реакции Lu-177 (1,15 мКи, 14 мкл) добавляли к раствору соединения В-HuMIGF-1R (75 мкг в ацетатном буфере (pH 6,5)) и аскорбиновой кислоты (1 мкл, 0,1 М в ацетатном буфере (pH 6,5)). Реакцию присоединения радиоактивной метки проводили при инкубировании при 37 °С в течение 30 минут. Неочищенный продукт, [¹⁷⁷Lu]-соединение С-HuMIGF-1R, очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50, при элюировании ацетатным буфером (pH 6,5, 1 мМ аскорбиновой кислоты). Радиохимическая чистота в радиоТСХ: 99%; радиохимический выход: 75%; удельная радиоактивность: 11,9 мКи/мг.

Пример 5. Синтез 4-[[2-(2-{2-[3-оксо-3-(2,3,5,6-

тетрафторфенокси)пропокси]этокси]этоксиэтил]карбамоил}-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (соединение С)

Бифункциональный хелат, 4-[[2-(2-{2-[3-оксо-3-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пропокси]этокси]этоксиэтил]карбамоил}-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановую кислоту (соединение С), синтезировали в соответствии со схемой, представленной на **фиг. 3**. К раствору 5-(трет-бутокси)-5-оксо-4-(4,7,10-трис(2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)пентановой кислоты (DOTA-GA(tBu)₄, 100 мг, 0,143 ммоль) в ACN (8,0 мл) добавляли DSC (73 мг, 0,285 ммоль) и пиридин (0,80 мл, 9,89 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 90 минут при комнатной температуре. Этот раствор добавляли к полураствору аминокислоты (63 мг, 0,285 ммоль в 1,2 мл ДМФА (N,N-диметилформамида)) в круглодонной колбе объемом 100 мл. Через 4 часа при температуре окружающей среды выделяли продукт реакции, проводя концентрирование досуха в потоке воздуха. Неочищенное вещество очищали ВЭЖХ с использованием метода элюирования 2 (сырой продукт растворяли в 6 мл 20% ACN/H₂O). Фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали в вакууме, а затем выпаривали совместно с ACN (3 × 2 мл). Промежуточное соединение 1-А было получено с выходом 82%.

В пробирку, содержащую промежуточное соединение 1-А (82 мг, 60 мкмоль), добавляли ACN (2 мл), NEt₃ (50 мкл, 360 мкмоль, 6 экв.), HBTU (23 мг, 60 мкмоль, 1 экв.) и раствор TFP (50 мг, 300 мкмоль, 5 экв., растворенные в 250 мкл ACN). Полученный прозрачный раствор перемешивали при температуре окружающей среды в течение 3 часов. Продукт реакции выделяли путем концентрирования раствора досуха в потоке воздуха и затем разбавляли ACN/H₂O (1:1, всего 3 мл) и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ, используя метод элюирования 4. Фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали в вакууме, а затем выпаривали совместно с ACN (3 × 2 мл). Промежуточное соединение 1-В было получено в виде прозрачного остатка (67 мг, выход 74%).

В пробирку, содержащую промежуточное соединение 1-В (67 мг, 64 мкмоль), добавляли ДХМ (2 мл) и TFA (2 мл), и перемешивали полученный раствор при температуре окружающей среды в течение 16 часов. Добавляли дополнительное количество TFA (2 мл) и перемешивали реакционную смесь при температуре окружающей среды в течение 6 часов. Реакционную смесь концентрировали досуха в потоке воздуха, после чего неочищенный продукт, наконец, растворяли в ACN/H₂O (1 мл 10% ACN/H₂O). Затем неочищенный реакционный раствор очищали с помощью препаративной ВЭЖХ, используя метод элюирования 5. Фракции, содержащие продукт, объединяли, замораживали и лиофилизировали. Соединение С было получено в виде белого

твёрдого вещества (36 мг, выход 63%). Аликвоту анализировали с помощью ВЭЖХ-МС с использованием метода элюирования 3; время удерживания: 3,11 минуты; МС (положительная ЭСИ): найдено m/z 828,4 $[M+H]^+$; $C_{34}H_{50}F_4N_5O_{14}$ (рассч. 828,3).

1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 600 МГц) δ 7,97-7,91 (м, 2H), 3,77 (t, 2H, $J = 6,0$ Гц), 3,58-3,55 (м, 2H), 3,53-3,48 (м, 8H), 3,44-3,38 (м, 10H), 3,23-3,08 (м, 11H), 3,02 (t, 2H, $J = 6,0$ Гц), 2,93 (широкая s, 4H), 2,30 (широкая s, 2H), 1,87 (широкая s, 2H).

Пример 6. Синтез $[^{177}Lu]$ -соединение C-HuMIGF-1R

Соединение С (17,5 мкмоль) растворяли в натрий-ацетатном буфере (1,32 мл, pH 6,5).

Аликвоту раствора соединения С (8 мкл, 91 нмоль) добавляли к раствору, содержащему антитело HuMIGF-1R (13,4 нмоль) в бикарбонатном буфере (pH 8,5). Через 1 час при температуре окружающей среды полученный иммуноконъюгат очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50. Иммуноконъюгат соединения С-HuMIGF-1R элюировали из колонки ацетатным буфером (pH 6,5). МАЛДИ-TOF-МС (в режиме регистрации положительных ионов): соединение С-HuMIGF-1R: найдено m/z 152166 $[M+H]^+$; HuMIGF-1R: найдено m/z 149724 $[M+H]^+$.

В качестве типичной реакции Lu-177 (1,6 мКи, 16 мкл) добавляли к раствору соединения С-HuMIGF-1R (150 мкг в ацетатном буфере (pH 6,5) и аскорбиновой кислоте (1 мкл, 0,1 М в ацетатном буфере (pH 6,5)). Реакцию присоединения радиоактивной метки проводили при инкубировании при температуре окружающей среды в течение 20 минут. $[^{177}Lu]$ -соединение С-HuMIGF-1R очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50, при элюировании ацетатным буфером (pH 6,5, 1 мМ аскорбиновой кислоты). Радиохимическая чистота в радиоТСХ: 99%; радиохимический выход: 91%; удельная радиоактивность: 15,6 мКи/мг.

Пример 7. Эксперименты по связыванию при насыщении

В экспериментах по связыванию при насыщении измеряют специфическое связывание в равновесном состоянии радиоконъюгата при различных концентрациях, чтобы определить K_d (концентрацию лиганда, которая связывает половину сайтов рецептора в равновесном состоянии) и B_{max} (максимальное количество сайтов связывания). В этом типе анализа связывания измеряют как общее, так и неспецифическое связывание, где специфическое связывание с рецептором рассчитывают, вычитая разницу. Неспецифическое связывание обычно оценивают путем измерения связывания радиоконъюгата в присутствии фиксированной концентрации HumIGF-1R, которая связывается практически со всеми рецепторами. Поскольку все рецепторы заняты HumIGF-1R, радиоконъюгат связывается только неспецифически. Значения K_d и B_{max} рассчитывают с помощью нелинейного регрессионного анализа и компьютерной аппроксимации кривой.

Целью этого анализа было убедиться, что эти новые радиоконъюгаты сохраняют характеристики связывания, согласующиеся с нативным антителом, в клеточной линии A431, экспрессирующей IGF-1R. За двадцать четыре часа до начала эксперимента высевали $1,5 \times 10^5$ клеток A431 в 48-луночные микропланшеты в 500 мкл среды с добавками питательных веществ. Радиоконъюгат разбавляли связывающим буфером (PBS +0,5% BSA) до диапазона концентраций от 0,08 до 40 нМ; конечная концентрация при проведении анализа составила от 0,04 до 20 нМ. В начале анализа среду аспирировали, отбрасывали и в каждую лунку добавляли 500 мкл

бессывороточной DMEM (среды Игла в модификации Дульбекко). Планшеты инкубировали при 37 °C в течение 1 часа. После инкубации среду аспирировали из каждой лунки и отбрасывали. Клетки промывали и в заданные лунки добавляли 100 мкл связывающего буфера (полное связывание) или 4 мкМ холодового антитела (неспецифическое связывание). Планшеты инкубировали при 4 °C в течение 1 часа при легком встряхивании. После стадии блокирования в каждую лунку добавляли 100 мкл радиокоњуата. Затем планшеты инкубировали при 4 °C в течение 2 часов. После инкубации содержимое каждой лунки аспирировали и отбрасывали. Клетки дважды промывали PBS и затем лизировали 1% Triton-X-100. Лизаты переносили в пробирки для подсчета радиоактивности и проводили измерение со стандартами радиокоњуатов на счетчике гамма-излучения Wizard 1470 для определения величины радиоактивности (в импульсах в минуту (имп/мин)) для каждого лизата. Оставшийся лизат из каждой лунки (25 мкл) переносили в 96-луночный планшет и определяли содержание белка в каждом лизате с использованием стандартного количественного анализа белка. Результаты определения общего, неспецифического и специфического связывания лиганда, массу связанного коњуата в каждом лизате рассчитывали путем перевода имп/мин лизата в фмоль с использованием специфической активности стандартов коњуата и затем нормирования связанного количества в фмоль к содержанию белка в каждом лизате (в миллиграммах). Специфическое связывание определяли путем вычитания неспецифического связывания из общего связывания. Значения общего, специфического и неспецифического связывания (фмоль/мг) наносили на график (ось Y) в виде функции от концентрации коњуата (нМ, ось X), как показано в **таблице 1**. K_d и B_{max} были получены путем аппроксимации кривой данных специфического связывания согласно гиперболической модели связывания с одним сайтом (GraphPad Prism Software, версия 7).

Результаты показали, что изменения в линкере не повлекли изменение аффинности связывания. Кроме того, эти изменения не изменили связывание и специфичность к мишени.

Таблица 1

Конструкция	Аффинность связывания (K_d)
[¹⁷⁷ Lu]-соединение A-HuMIGF-1R	2,9 нМ
[¹⁷⁷ Lu]-соединение B-HuMIGF-1R	2,0 нМ
[¹⁷⁷ Lu]-соединение C-HuMIGF-1R	2.2 нМ

Пример 8. Эксперименты по остаточному содержанию

Анализ остаточного содержания был разработан для определения степени удержания в клетках производных радиоактивно меченого антитела с линкером. Данный анализ основан на присущей рецептору IGF-1 способности интернализироваться при связывании с лигандом и способности отслеживать соединения с радиоактивной меткой. В этом типе эксперимента по связыванию постоянное количество радиокоњуата инкубируют с экспрессирующей IGF-1R клеточной линией в течение фиксированного периода времени. После инкубации клетки очищают мягким кислотным буфером для удаления любого внешнего или мембранно-связанного радиокоњуата. Повторно вносят свежую среду, и клетки снова инкубируют в течение заданного

количества времени. Именно в этот период клеточные процессы разлагают радиокоњугат и тем самым происходит эффлюкс радиоактивных фрагментов обратно в культуральную среду или удержание радиоактивных фрагментов в клетке. Остаточное содержание определяется путем расчета количества интернализированного радиоактивного вещества в процентах от общей активности, связанной с клетками, после промывки кислотой.

Клетки A431 высевали в 24-луночные планшеты в концентрации $2,5 \times 10^5$ клеток/лунку в полной среде (DMEM). После инкубации в течение ночи среду, в которой содержались клетки, заменяли на бессывороточную среду DMEM и инкубировали в течение 1 часа при 37 °C. Среду сливали и однократно промывали планшеты стерильным PBS. Радиокоњугат разбавляли в бессывороточной среде DMEM до концентрации 2 нМ. В каждую лунку загружали 500 мкл радиоконюгата и инкубировали в течение 4 часов при 37 °C. После инкубации планшеты немедленно помещали на лед и отбрасывали среду в предварительно помеченные (не связанный) пробирки для подсчета гамма-излучения. Клетки однократно промывали стерильным PBS, осторожно встряхивали и сливали в (не связанный) пробирки для подсчета гамма-излучения. Во все лунки добавляли мягкий кислотный промывочный буфер (pH 4,6, 500 мкл). Планшеты инкубировали при 4 °C в течение 15 минут и собирали буфер в предварительно помеченные пробирки для подсчета гамма-излучения (мембранно-связанный). Во все лунки добавляли 1 мл подогретой бессывороточной среды и инкубировали планшеты при 37 °C в течение 0 и 24 часов. После предусмотренной инкубации планшеты помещали на лед и обрабатывали следующим образом. Среду сливали и собирали в меченые (эффлюкс) пробирки для измерения гамма-излучения. Затем планшеты однократно промывали 1 мл холодного PBS и собирали в пробирки для эффлюкса. Во все лунки добавляли кислотный промывочный буфер (pH 2,5, 500 мкл) и инкубировали планшеты в течение 5 минут на льду. Затем кислотную промывочную фракцию собирали в меченые (рециркулированный) пробирки для измерения гамма-излучения. Клетки лизировали 300 мкл 1% Triton X-100 в течение 30 минут при комнатной температуре. 250 мкл клеточного лизата переносили в пробирки для подсчета гамма-излучения и производили подсчет в течение 10 минут. 25 мкл фракции клеточного лизата переносили в 96-луночный планшет для количественного определения белка (анализ белка Pierce BCA). Процент остаточного содержания (фиг. 4) определяли как имп/мин (лизат)/имп/мин (эффлюкс+рециркулированный+лизат).

Эксперименты по остаточному содержанию *in vitro* продемонстрировали, что конъюгирование с различными линкерами обеспечивало радиоконюгаты, которые были практически идентичны с точки зрения клеточной интернализации и удержания, что свидетельствует о том, что эти свойства моноклонального антитела не были изменены при конъюгации. Кроме того, эти данные свидетельствуют о том, что радиоиммуноконюгаты с большой вероятностью подвергаются аналогичному катаболическому разложению после интернализации в опухолевые клетки *in vivo* независимо от присоединенной линкерной структуры.

Пример 9. Результаты исследований фармакокинетики и метаболизма соединений NuMIGF-1R

Группам из 4 или 5 мышей (нормальные CD-1 или бестимусные голые CD-1) внутривенно вводили приблизительно 15 мкКи исследуемого соединения с радиоактивной меткой. Иммуноконюгаты с различными линкерами были синтезированы и радиоактивно мечены

лютецием-177. Для исследований фармакокинетики животных умерщвляли в определенные моменты времени и анализировали кровь и опухоль (если применимо) на общую радиоактивность. Для исследований метаболизма животных помещали в метаболические клетки (4-5 на клетку) для сбора мочи и кала каждые 24 часа на срок до 7 дней. Содержание радиоактивных веществ в образцах мочи и кала количественно определяли и пересчитывали на общее количество мочи или кала на основе массы тела. Профили экскреции для мочи, кала или общей экскреции (моча + кал) получали путем построения зависимости суммарного % введенной дозы (% ID) от времени.

Профиль метаболической экскреции [^{177}Lu]-соединение В-HuMIGF-1R и [^{177}Lu]-соединение С-HuMIGF-1R сравнивали с [^{177}Lu]-соединение А-HuMIGF-1R. Было обнаружено, что, хотя тип линкера влиял на путь, скорость и степень экскреции соединения (фиг. 5), он не влиял на общую фармакокинетику общей радиоактивности, связанной с радиоиммуноконъюгатом (фиг. 6). [^{177}Lu]-соединение А-HuMIGF-1R выводилось медленно, и всего лишь 13% введенной дозы (ID) было элиминировано в течение 7 дней посредством низкоинтенсивной экскреции с мочой. Напротив, экскреция [^{177}Lu]-соединение В-HuMIGF-1R привела к увеличению на 210%, а экскреция [^{177}Lu]-соединение С-HuMIGF-1R была на 310% выше. Этот порядок ранжирования степени экскреции был аналогичным для нескольких антител, протестированных с соединением С, обеспечивающим наибольшую степень экскреции. Кроме того, соединения В и С характеризуются совершенно разными путями экскреции: [^{177}Lu]-соединение В-HuMIGF-1R элиминировалось преимущественно через кал, а элиминация [^{177}Lu]-соединение С-HuMIGF-1R распределилась примерно поровну между мочой и калом. Этот характер экскреции также был схожим для нескольких протестированных биологических нацеливающих векторов.

Пример 10. Радиотерапевтическая эффективность

Терапевтическую эффективность [^{225}Ac]-соединение А-HuMIGF-1R, [^{225}Ac]-соединение В-HuMIGF-1R и [^{225}Ac]-соединение С-HuMIGF-1R сравнивали с HuMIGF-1R по отдельности и контролем носителем. Пути синтеза радиоактивно меченых актинием-225 (Ac-225) соединений были аналогичны таковым для соответствующих аналогов с Lu-177. Исследования терапевтической эффективности проводили с использованием сверхэкспрессирующей IGF-1R клеточной линии рака толстой кишки Colo-205 (ATCC #CCL-222). Ксенотрансплантаты опухолей приживляли самкам бестимусных голых мышей Balb/c возрастом 5-7 недель (Charles River Laboratories). Два (2) миллиона клеток, смешанных с PBS и Matrigel (Becton Dickinson) в объемном соотношении 50:50, подкожно вводили в нижний правый квадрант над бедром каждого животного. Опухолям давали расти в течение 7-10 дней до начального объема, равного приблизительно 200 мм³. Группам животных с опухолями (n = 4-8) внутривенно через боковую хвостовую вену вводили 200 мкл тестируемого препарата. Исследуемые препараты с меченым Ac-225 соединением вводили при дозе активности 20-400 нанокиюри (нКи) в виде смеси с 20 мМ цитрата натрия, pH 5,5, 0,82% NaCl и 0,01% Твин 80. В качестве контроля неконъюгированное антитело (HuMIGF-1R) без радиоактивной метки вводили при эквивалентной массе белка, соответствующей самой высокой дозе радиоактивности исследуемых радиоиммуноконъюгатов с актинием-225. Измерения опухолей проводили 2-3 раза в неделю с помощью штангенциркуля с нониусом в двух измерениях. Длину опухоли определяли как самое большое измерение, ширину измеряли перпендикулярно длине опухоли. Попутно животных взвешивали. Общее физическое состояние и общее поведение

оценивались ежедневно. Типичное исследование длилось 28 дней. Объем опухоли (мм^3) рассчитывали как эллипсоид по измерениям штангенциркуля. Рост опухоли выражали как относительный объем опухоли (RTV), который представляет собой объем опухоли, измеренный в день X, деленный на объем опухоли, измеренный в день введения дозы.

5 Терапевтическая эффективность $[^{225}\text{Ac}]$ -соединение А-HuMIGF-1R, $[^{225}\text{Ac}]$ -соединение В-HuMIGF-1R и $[^{225}\text{Ac}]$ -соединение С-HuMIGF-1R была практически одинаковой для всех соединений; при этом все радиоиммуноконъюгаты, содержащие актиний-225, демонстрируют более высокую эффективность, чем нерадиоактивный контроль HuMIGF-1R.

10 **Пример 11. Синтез $[^{177}\text{Lu}]$ -соединение А-человеческое-IgG**

Соединение А (1,34 мкмоль) растворяли в натрий-ацетатном буфере (20 мкл, pH 6,5) и добавляли к раствору, содержащему антитело человеческое-IgG (6,7 нмоль) в бикарбонатном буфере (pH 8,5). Через 45 минут при температуре окружающей среды полученный иммуноконъюгат очищали с помощью колонки ВЭЖХ SEC (1 мл/мин, элюировали ацетатным
15 буфером (pH 6,5, 1 mM аскорбиновой кислоты). Конъюгат антитела соединения А-человеческое-IgG. МАЛДИ-TOF-МС (в режиме регистрации положительных ионов): соединение А-человеческое-IgG: найдено m/z 150360 $[\text{M}+\text{H}]^+$; человеческое-IgG: найдено m/z 148339 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

В качестве типичной реакции Lu-177 (1,1 мКи, 5 мкл) добавляли к раствору соединения А-человеческое-IgG (90 мкг в ацетатном буфере (pH 6,5) и аскорбиновой кислоте (1 мкл, 0,1 М в
20 ацетатном буфере (pH 6,5)). Реакцию присоединения радиоактивной метки проводили при инкубировании при 37 °C в течение 90 минут. Неочищенный продукт, $[^{177}\text{Lu}]$ -соединение А-человеческое-IgG, очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50, при элюировании ацетатным буфером (pH 6,5, 1 mM аскорбиновой кислоты). Радиохимическая чистота в радиоТСХ: 98%; радиохимический выход: 45%; удельная радиоактивность: 15,1 мКи/мг.

25

Пример 12. Синтез $[^{177}\text{Lu}]$ -соединение В-человеческое-IgG

Соединение В (1,17 мкмоль) растворяли в натрий-ацетатном буфере (0,117 мл, pH 6,5). Аликвоту раствора соединения В (2 мкл, 10 нмоль) добавляли к раствору, содержащему антитело человеческое-IgG (6,7 нмоль) в бикарбонатном буфере (pH 8,5). Используемый препарат
30 человеческого IgG состоял из очищенной смеси всех изотипов IgG (IgG1-4). Через 1 час при температуре окружающей среды продукт конъюгата антитела очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50. Соединение А-человеческое-IgG элюировали из колонки ацетатным буфером (pH 6,5). МАЛДИ-TOF-МС (в режиме регистрации положительных ионов): соединение В-человеческое-IgG: найдено m/z 149949 $[\text{M}+\text{H}]^+$; человеческое-IgG: найдено m/z
35 148540 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

В качестве типичной реакции Lu-177 (1,1 мКи, 5 мкл) добавляли к раствору соединения В-человеческое-IgG (100 мкг в ацетатном буфере (pH 6,5) и аскорбиновой кислоте (1 мкл, 0,1 М в
40 ацетатном буфере (pH 6,5)). Реакцию присоединения радиоактивной метки проводили при инкубировании при 37 °C в течение 30 минут. Неочищенный продукт, ^{177}Lu -соединение В-человеческое-IgG, очищали с помощью колонки ВЭЖХ SEC (1 мл/мин, элюировали ацетатным буфером (pH 6,5, 1 mM аскорбиновой кислоты) и концентрировали ультрафильтрацией (Vivaspin,

10 кДа). Радиохимическая чистота в радиоТСХ: 98%; радиохимический выход: 51%; удельная радиоактивность: 9,68 мКи/мг.

Пример 13. Синтез [¹⁷⁷Lu]-соединение С-человеческое-IgG

5 Соединение С (0,96 мкмоль) растворяли в натрий-ацетатном буфере (95 мкл, pH 6,5). Аликвоту раствора соединения С (2 мкл, 20 нмоль) добавляли к раствору, содержащему антитело человеческого-IgG (6,7 нмоль) в бикарбонатном буфере (pH 8,5). Через 1 час при температуре окружающей среды полученный продукт иммуноконъюгата очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50. Соединение С-человеческое-IgG элюировали из колонки ацетатным буфером (pH 6,5). МАЛДИ-ТОФ-МС (в режиме регистрации положительных ионов):
10 соединение С-человеческое-IgG: найдено m/z 150095 [M+H]⁺; человеческое-IgG: найдено m/z 148540 [M+H]⁺.

В качестве типичной реакции Lu-177 (1,1 мКи, 5 мкл) добавляли к раствору соединение С-человеческое-IgG (100 мкг в ацетатном буфере (pH 6,5) и аскорбиновой кислоте (1 мкл, 0,1 М в ацетатном буфере (pH 6,5)). Реакцию присоединения радиоактивной метки проводили при
15 инкубировании при 37 °С в течение 30 минут. Неочищенный продукт, [¹⁷⁷Lu]-соединение С-человеческое-IgG, очищали с помощью колонки ВЭЖХ SEC (1 мл/мин, элюировали ацетатным буфером (pH 6,5, 1 mM аскорбиновой кислоты) и концентрировали ультрафильтрацией (Vivaspin, 10 кДа). Радиохимическая чистота в радиоТСХ: 98%; радиохимический выход: 37%; удельная
20 радиоактивность: 9,99 мКи/мг.

Пример 14. Результаты исследований фармакокинетики и метаболизма соединений на основе HuMlgG

Ненацеленные человеческие IgG-антитела использовали для исследований
25 метаболической экскреции, чтобы продемонстрировать, что изменения в профилях экскреции радиоактивного вещества, вызванные конъюгацией с линкерным соединением В и соединением С, представляют собой общий процесс, демонстрирующий, что эти данные не ограничиваются антителом HuMIGF-1R. Исследования фармакокинетики и метаболизма проводили с использованием [¹⁷⁷Lu]-соединение А-HuMlgG, [¹⁷⁷Lu]-соединение В-HuMlgG и [¹⁷⁷Lu]-соединение
30 С-HuMlgG, как описано для соединений на основе антитела HuMIGF-1R, описанных ранее.

Профиль метаболической экскреции радиоиммуноконъюгатов ненацеленного человеческого IgG [¹⁷⁷Lu]-соединение В-HuMlgG и [¹⁷⁷Lu]-соединение С-HuMlgG сравнивали с [¹⁷⁷Lu]-соединение А-HuMlgG. Как описано для радиоиммуноконъюгатов на основе HuMIGF-1R, было обнаружено, что, хотя тип линкера влиял на путь, скорость и степень экскреции соединения
35 (фиг. 8), он не влиял на общую фармакокинетику общей радиоактивности, связанной с радиоиммуноконъюгатом. Для соединений на основе HuMlgG наблюдался такой же порядок ранжирования степени экскреции, что и для соединений на основе HuMIGF-1R; то есть, радиоиммуноконъюгат, содержащий соединение С, обеспечивал наибольшую степень экскреции. [¹⁷⁷Lu]-соединение А-HuMlgG выводилось медленно, и всего лишь 13% введенной дозы (ID) было
40 элиминировано в течение 7 дней посредством низкоинтенсивной экскреции с мочой. Напротив, экскреция [¹⁷⁷Lu]-соединение В-HuMIGF-1R давала увеличение на 196%, а экскреция [¹⁷⁷Lu]-соединение С-HuMIGF-1R была на 216% выше. Кроме того, соединения В и С характеризуются

совершенно разными путями экскреции. [^{177}Lu]-соединение В-HuMlgG элиминировалось преимущественно через кал, тогда как элиминация [^{177}Lu]-соединения С-HuMlgG распределялась примерно поровну между мочой и калом. Этот метаболический профиль был в основном эквивалентен соединениям на основе HuMIGF-1R, что показывает, что улучшенный профиль экскреции соединения В или соединения С при конъюгировании с антителами является общим и воспроизводимым эффектом.

Пример 15: Синтез [^{225}Ac]-соединение А-человеческое-IgG

Соединение А (1,34 мкмоль) растворяли в натрий-ацетатном буфере (20 мкл, pH 6,5) и добавляли к раствору, содержащему антитело человеческое-IgG (6,7 нмоль) в бикарбонатном буфере (pH 8,5). Через 45 минут при температуре окружающей среды продукт конъюгата антитела очищали с помощью колонки ВЭЖХ SEC (1 мл/мин, элюировали ацетатным буфером (pH 6,5, 1 mM аскорбиновой кислоты). МАЛДИ-TOF-МС (в режиме регистрации положительных ионов): соединение А-человеческое-IgG: найдено m/z 150360 $[\text{M}+\text{H}]^+$; человеческое-IgG: найдено m/z 148339 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

В качестве типичной реакции Ac-225 (1,1 мКи, 5 мкл) добавляли к раствору соединение А-человеческое-IgG (100 мкг в ацетатном буфере (pH 6,5) и аскорбиновой кислоте (1 мкл, 0,1 М в ацетатном буфере (pH 6,5)). Реакцию присоединения радиоактивной метки проводили при инкубировании при температуре окружающей среды (например, 20-25 °C) в течение 90 минут. Неочищенный продукт, [^{225}Ac]-соединение А-человеческое-IgG, очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50, при элюировании ацетатным буфером (pH 6,5, 1 mM аскорбиновой кислоты).

Пример 16. Синтез [^{225}Ac]-соединение В-человеческое-IgG

Соединение В (1,17 мкмоль) растворяли в натрий-ацетатном буфере (0,117 мл, pH 6,5). Аликвоту раствора соединения В (2 мкл, 10 нмоль) добавляли к раствору, содержащему антитело человеческое-IgG (6,7 нмоль) в бикарбонатном буфере (pH 8,5). Через 1 час при температуре окружающей среды продукт конъюгата антитела очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50. Конъюгат антитела соединения А-человеческое-IgG элюировали из колонки ацетатным буфером (pH 6,5). МАЛДИ-TOF-МС (в режиме регистрации положительных ионов): соединение В-человеческое-IgG: найдено m/z IgG $[\text{M}+\text{H}]^+$; человеческое-IgG: найдено m/z 148540 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

В качестве типичной реакции Ac-225 (1,1 мКи, 5 мкл) добавляли к раствору соединение В-человеческое-IgG (100 мкг в ацетатном буфере (pH 6,5) и аскорбиновой кислоте (1 мкл, 0,1 М в ацетатном буфере (pH 6,5)). Реакцию присоединения радиоактивной метки проводили при инкубировании при температуре окружающей среды (например, 20-25 °C) в течение 30 минут. Неочищенный продукт, [^{225}Ac]-соединение В-человеческое-IgG, очищали с помощью колонки ВЭЖХ SEC (1 мл/мин, элюировали ацетатным буфером (pH 6,5, 1 mM аскорбиновой кислоты) и концентрировали ультрафильтрацией (Vivaspin, 10 кДа).

Пример 17. Синтез [^{225}Ac]-соединение С-человеческое-IgG

Соединение С (0,96 мкмоль) растворяли в натрий-ацетатном буфере (95 мкл, pH 6,5). Аликвоту раствора соединения С (2 мкл, 20 нмоль) добавляли к раствору, содержащему антитело человеческое-IgG (6,7 нмоль) в бикарбонатном буфере (pH 8,5). Через 1 час при температуре окружающей среды продукт конъюгата антитела очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50. Конъюгат антитела соединения С-человеческое-IgG элюировали из колонки ацетатным буфером (pH 6,5). МАЛДИ-TOF-МС (в режиме регистрации положительных ионов): соединение С-человеческое-IgG: найдено m/z 150095 $[M+H]^+$; человеческое-IgG: найдено m/z 148540 $[M+H]^+$.

В качестве типичной реакции Ас-225 (1,1 мКи, 5 мкл) добавляли к раствору соединения С-человеческое-IgG (100 мкг в ацетатном буфере (pH 6,5) и аскорбиновой кислоте (1 мкл, 0,1 М в ацетатном буфере (pH 6,5)). Реакцию присоединения радиоактивной метки проводили при инкубировании при температуре окружающей среды (например, 20-25 °C) в течение 30 минут. Неочищенный продукт, $[^{225}\text{Ac}]$ -соединение С-человеческое-IgG, очищали с помощью колонки ВЭЖХ SEC (1 мл/мин, элюировали ацетатным буфером (pH 6,5, 1 мМ аскорбиновой кислоты) и концентрировали ультрафильтрацией (Vivaspin, 10 кДа).

Пример 18. Синтез $[^{225}\text{Ac}]$ -соединение А-HuMIGF-1R

Соединение А (3,0 мкмоль) растворяли в натрий-ацетатном буфере (0,228 мл, pH 6,5). Аликвоту раствора соединения А (8 мкл, 106 нмоль) добавляли к раствору, содержащему антитело HuMIGF-1R (6,7 нмоль, AVE1642) в бикарбонатном буфере (pH 8,5). Через 1 час при температуре окружающей среды полученный иммуноконъюгат очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50. Иммуноконъюгат (соединение А)-HuMIGF-1R элюировали из колонки ацетатным буфером (pH 6,5). Время удерживания в SEC: 8,2 мин; МАЛДИ-МС (в режиме регистрации положительных ионов): (соединение А)-HuMIGF-1R: найдено m/z 151759; HuMIGF-1R: найдено m/z 149835.

В качестве типичной реакции Ас-225 (1,1 мКи, 14 мкл) добавляли к раствору (соединение А)-HuMIGF-1R (100 мкг в ацетатном буфере (pH 6,5) и аскорбиновой кислоте (1 мкл, 0,1 М в ацетатном буфере (pH 6,5)). Реакцию присоединения радиоактивной метки проводили при инкубировании при температуре окружающей среды (например, 20-25 °C) в течение 30 минут. Неочищенный продукт, $[^{225}\text{Ac}]$ -соединение А-HuMIGF-1R, очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50, при элюировании ацетатным буфером (pH 6,5, 1 мМ аскорбиновой кислоты).

Пример 19. Синтез $[^{225}\text{Ac}]$ -соединение В-HuMIGF-1R

Соединение В (0,7 мкмоль) растворяли в натрий-ацетатном буфере (69 мкл, pH 6,5). Аликвоту раствора соединения В (4 мкл, 40 нмоль) добавляли к раствору, содержащему антитело HuMIGF-1R (6,7 нмоль) в бикарбонатном буфере (pH 8,5). Через 1 час при температуре окружающей среды полученный иммуноконъюгат очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50. Иммуноконъюгат соединения В-HuMIGF-1R элюировали из колонки ацетатным буфером (pH 6,5). МАЛДИ-TOF-МС (в режиме регистрации положительных ионов): соединение В-HuMIGF-1R: найдено m/z 152988 $[M+H]^+$; HuMIGF-1R: найдено m/z 149835 $[M+H]^+$.

В качестве типичной реакции Ас-225 (1,15 мКи, 14 мкл) добавляли к раствору соединения В-HuMIGF-1R (75 мкг в ацетатном буфере (pH 6,5) и аскорбиновой кислоте (1 мкл, 0,1 М в ацетатном буфере (pH 6,5)). Реакцию присоединения радиоактивной метки проводили при инкубировании при температуре окружающей среды (например, 20-25 °C) в течение 30 минут.

- 5 Неочищенный продукт, [²²⁵Ac]-соединение С-HuMIGF-1R, очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50, при элюировании ацетатным буфером (pH 6,5, 1 мМ аскорбиновой кислоты).

Пример 20. Синтез [²²⁵Ac]-соединение С-HuMIGF-1R

- 10 Соединение С (17,5 мкмоль) растворяли в натрий-ацетатном буфере (1,32 мл, pH 6,5). Аликвоту раствора соединения С (8 мкл, 91 нмоль) добавляли к раствору, содержащему антитело HuMIGF-1R (13,4 нмоль) в бикарбонатном буфере (pH 8,5). Через 1 час при температуре окружающей среды полученный иммуноконъюгат очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50. Иммуноконъюгат соединения С-HuMIGF-1R элюировали из колонки
- 15 ацетатным буфером (pH 6,5). МАЛДИ-ТОФ-МС (в режиме регистрации положительных ионов): соединение С-HuMIGF-1R: найдено m/z 152166 [M+H]⁺; HuMIGF-1R: найдено m/z 149724 [M+H]⁺.

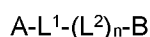
- В качестве типичной реакции Ас-225 (1,6 мКи, 16 мкл) добавляли к раствору соединения С-HuMIGF-1R (150 мкг в ацетатном буфере (pH 6,5) и аскорбиновой кислоте (1 мкл, 0,1 М в ацетатном буфере (pH 6,5)). Реакцию присоединения радиоактивной метки проводили при
- 20 инкубировании при температуре окружающей среды (например, 20-25 °C) в течение 30 минут. [²²⁵Ac]-соединение С-HuMIGF-1R, очищали с помощью колонки, заполненной смолой Sephadex G-50, при элюировании ацетатным буфером (pH 6,5, 1 мМ аскорбиновой кислоты).

Другие варианты осуществления

- 25 В то время как настоящее изобретение было описано в связи с конкретными вариантами его осуществления, следует понимать, что возможны дополнительные его модификации, и подразумевается, что данная заявка охватывает любые вариации, применения или адаптации изобретения, следующие, в целом, принципам изобретения, и включающим такие отклонения от настоящего изобретения, которые возникают в результате известной или обычной практики в
- 30 области техники, к которой относится изобретение, и которые могут быть применены к существенным признакам, изложенным ранее в настоящем документе.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее структуру:



Формула I,

где А представляет собой хелатирующий фрагмент или его комплексное соединение с металлом;

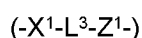
L¹ представляет собой необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, замещенный C₁-C₆ гетероалкил, замещенный арил или гетероарил;

В представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с IGF-1R,

или его фармацевтически приемлемую соль;

n равен 1-5;

каждый L² независимо имеет структуру:



Формула II,

где X¹ представляет собой C=O(NR¹), C=S(NR¹), OC=O(NR¹), NR¹C=O(O), NR¹C=O(NR¹), -CH₂PhC=O(NR¹), -CH₂Ph(NH)C=S(NR¹), O, NR¹, и R¹ представляет собой H или необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, или необязательно замещенный C₁-C₆ гетероалкил, замещенный арил или гетероарил;

L³ представляет собой необязательно замещенный C₁-C₅₀ алкил или необязательно замещенный C₁-C₅₀ гетероалкил, или C₅-C₂₀ полиэтиленгликоль;

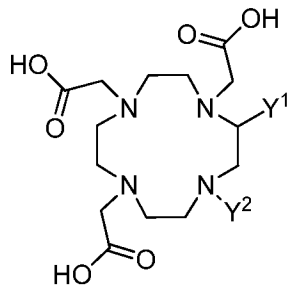
Z¹ представляет собой CH₂, C=O, C=S, OC=O, NR¹C=O, NR¹; и

R¹ представляет собой водород или необязательно замещенный C₁-C₆ алкил, пирролидин-2,5-дион.

2. Соединение по п. 1, где указанный хелатирующий фрагмент представляет собой DOTA (1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусную кислоту), DOTMA (1R,4R,7R,10R)-α,α',α'',α'''-тетраметил-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусную кислоту, DOTAM (1,4,7,10-тетракис(карбамоилметил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан), DOTPA (1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1,4,7,10-тетрапропионовую кислоту), DO3AM-уксусную кислоту (2-(4,7,10-трис(2-амино-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил)уксусную кислоту), ангидрид DOTA-GA (2,2',2''-(10-(2,6-диоксотетрагидро-2H-пиран-3-ил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1,4,7-триил)триуксусную кислоту, DOTP (1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1,4,7,10-тетраметиленфосфоновую кислоту), DOTMP (1,4,6,10-тетраазаациклододекан-1,4,7,10-тетраметиленфосфоновую кислоту), DOTA-4AMP (1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1,4,7,10-тетракис(ацетамидо-метиленфосфоновую кислоту), CB-TE2A (1,4,8,11-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан-4,11-диуксусную кислоту), NOTA (1,4,7-триазаациклононан-1,4,7-триуксусную кислоту), NOTP (1,4,7-триазаациклононан-1,4,7-три(метиленфосфоновую кислоту), ТЕТРА (1,4,8,11-тетраазаациклотетрадекан-1,4,8,11-тетрапропионовую кислоту), ТЕТА (1,4,8,11-тетраазаациклотетрадекан-1,4,8,11-тетрауксусную кислоту), НЕНА (1,4,7,10,13,16-гексаазаациклогексадекан-1,4,7,10,13,16-гексауксусную кислоту), РЕРА (1,4,7,10,13-пентаазаациклопентадекан-N,N',N'',N''',N''''-пентауксусную кислоту), H₄Octapa (N,N'-бис(6-карбокси-

2-пиридилметил)-этилендиамин-N,N'-диуксусную кислоту), H₂Dedpa (1,2-[[6-(карбокси)-пиридин-2-ил]-метиламино]этан), H₆phospa (N,N'-(метиленфосфонат)-N,N'-[6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил]-метил-1,2-диаминоэтан), ТТНА (триэтилететрамин-N,N,N',N'',N''',N''''-гексауксусную кислоту), DO2P (тетраазациклододекандиметанфосфоновую кислоту), HP-DO3A (гидроксипропилтетраазациклододекантриуксусную кислоту), EDTA (этилендиаминтетрауксусную кислоту), дефероксамин, DTPA (диэтилентриаминпентауксусную кислоту), DTPA-BMA (диэтилентриаминпентауксусной кислоты бисметиламид) или порфирин.

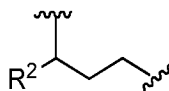
3. Соединение по п. 2, где хелатирующий фрагмент имеет структуру:



где Y¹ представляет собой -CH₂OCH₂(L²)_n-B, C=O(L²)_n-B или C=S(L²)_n-B, и Y² представляет собой -CH₂CO₂H;

где Y¹ представляет собой H, Y² представляет собой L¹-(L²)_n-B.

4. Соединение по любому из пп. 1-3, где L¹ имеет структуру:



Формула III,

где R² представляет собой необязательно замещенный водород или -CO₂H.

5. Соединения по пп. 1-4, где указанный металл может быть выбран из Bi, Pb, Y, Mn, Cr, Fe, Co, Zn, Ni, Tc, In, Ga, Cu, Re, Sm, лантаноида или актиноида, для применения в качестве визуализирующих или терапевтических агентов; при этом конкретные примеры радионуклидов, подходящих для образования комплекса с соединением формулы (I), включают ⁴⁷Sc, ⁵⁵Co, ⁶⁰Cu, ⁶¹Cu, ⁶²Cu, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ⁶⁶Ga, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ⁸²Rb, ⁸⁶Y, ⁸⁷Y, ⁹⁰Y, ⁹⁷Ru, ^{99m}Tc, ¹⁰⁵Rh, ¹⁰⁹Pd, ¹¹¹In, ^{117m}Sn, ¹⁴⁹Pm, ¹⁴⁹Tb, ¹⁵³Sm, ¹⁷⁷Lu, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁹⁹Au, ²⁰¹Tl, ²⁰³Pb, ²¹²Pb, ²¹²Bi, ²¹³Bi, ²²⁵Ac и ²²⁷Th.

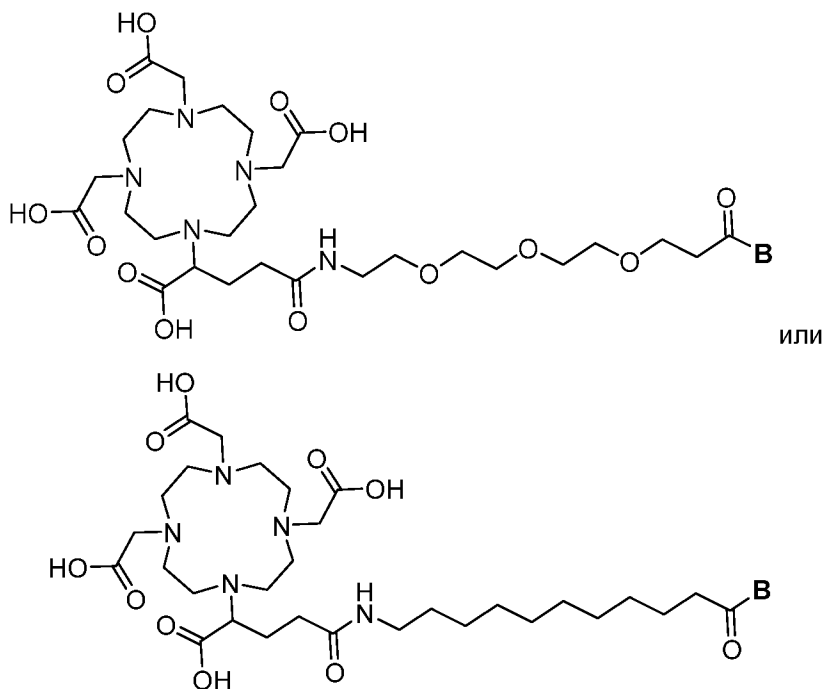
6. Соединение по любому из пп. 3-5, где Y¹ представляет собой H.

7. Соединение по любому из пп. 1-6, где X¹ представляет собой C=O(NR¹), и R¹ представляет собой H.

8. Соединение по любому из пп. 1-7, где Z¹ представляет собой -CH₂.

9. Соединение по любому из пп. 1-8, где L² имеет значение n, равное 1.

10. Соединение по любому из пп. 1-9, где соединение выбрано из группы, состоящей из:



11. Соединение по любому из пп. 1-10, где металл представляет собой радионуклид.

12. Соединение по п. 11, где радионуклид представляет собой In^{111} .

13. Соединение по п. 11, где радионуклид представляет собой Ga^{68} .

14. Соединение по любому из пп. 1-10, где металл представляет собой радионуклид, испускающий альфа-излучение.

15. Соединение по п. 14, где радионуклид представляет собой Ac^{225} или продукты его распада (дочерние изотопы).

16. Соединение по любому из пп. 1-15, где указанное антитело или его антитело-связывающий фрагмент содержит вариабельный домен легкой цепи, содержащий по меньшей мере одну, две или все три определяющие комплементарность области (CDR), выбранные из:

- (a) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1;
- (b) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; и
- (c) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3.

17. Соединение по любому из пп. 1-16, где указанное антитело или его антитело-связывающий фрагмент содержит вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий по меньшей мере одну, две или все три CDR, выбранные из:

- (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5;

- (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; и
- (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7.

18. Соединение по любому из пп. 1-17, где указанное антитело или его антитело-связывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, содержащие по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или все шесть CDR, выбранные из:

- (a) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1;
- (b) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2;
- (c) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3;
- (d) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5;
- (e) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; и
- (f) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7.

19. Соединение по любому из пп. 1-18, где указанный переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.

20. Соединение по любому из пп. 1-19, где указанный переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

21. Соединение по любому из пп. 1-20, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой AVE1642.

22. Соединение по любому из пп. 1-20, где указанное антитело или его антитело-связывающий фрагмент по существу связывается с тем же эпитопом, что и AVE1642.

23. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп. 1-22 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

24. Способ планирования радиационной терапии и/или радиационной терапии, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту соединения по любому из пп. 1-22 или композиции по п. 23.

25. Способ лечения рака, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту первой дозы соединения по любому из пп. 1-22 или композиции по п. 23 в количестве, эффективном для планирования радиационной терапии, с последующим введением дополнительных доз соединения по любому из пп. 1-22 или композиции по п. 30 в терапевтически эффективном количестве.

26. Способ по п. 25, где соединение или композиция, вводимые в первой дозе, и соединение или композиция, вводимые во второй дозе, являются одинаковыми.

27. Способ по п. 25, где соединение или композиция, вводимые в первой дозе, и соединение или композиция, вводимые во второй дозе, являются разными.

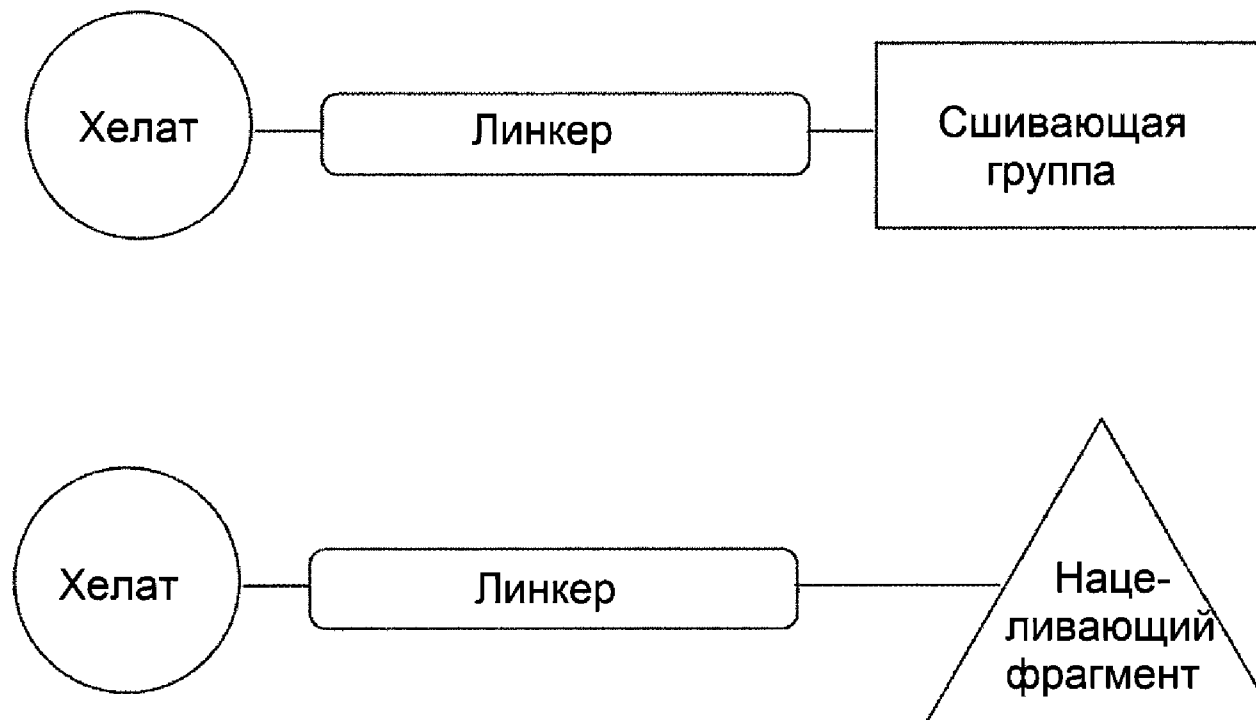
28. Способ по любому из пп. 25-27, где рак представляет собой солидную опухоль или гематологический рак (гемобластоз).

29. Способ по п. 28, где солидный рак представляет собой рак молочной железы, немелкоклеточный рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, рак поджелудочной железы, рак головы и шеи, рак предстательной железы, колоректальный рак, саркому, аденокарциному, карциному Юинга, множественную миелому или острый миелоидный лейкоз.

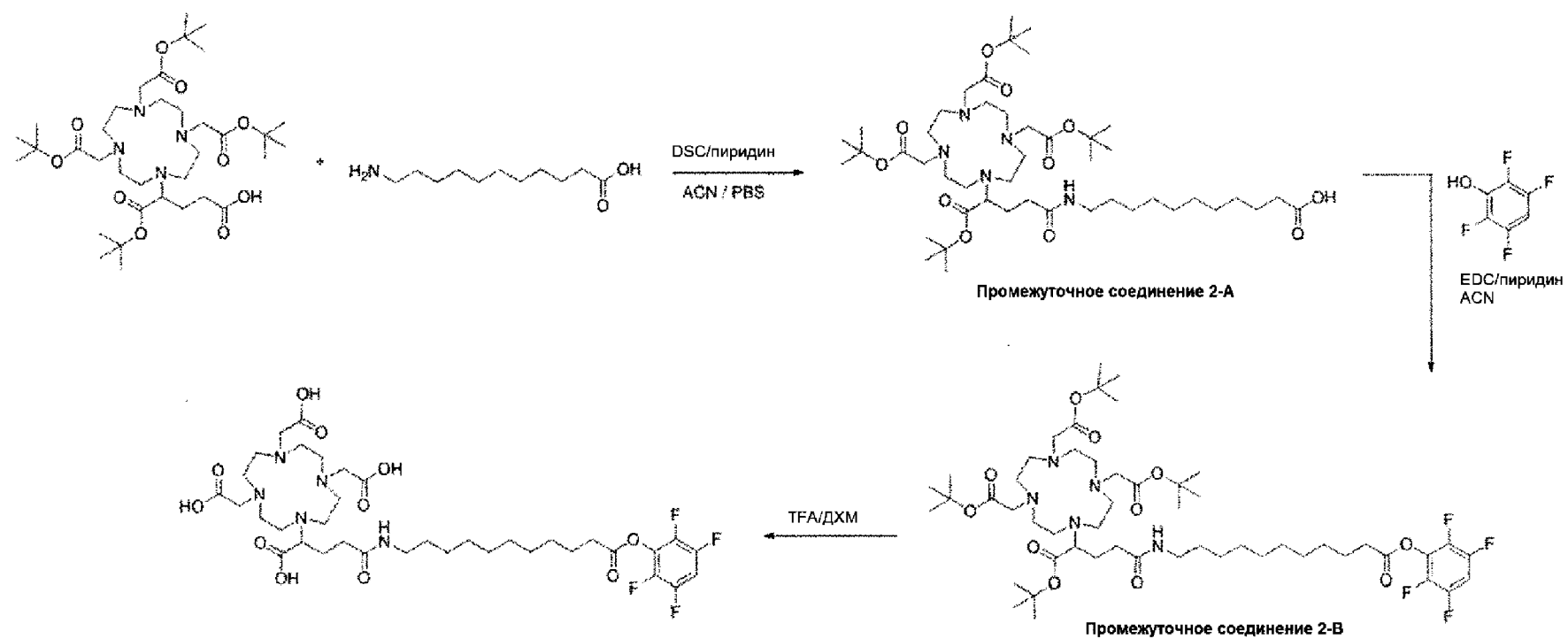
30. Способ по любому из пп. 25-29, дополнительно включающий введение антипролиферативного агента, радиосенсибилизатора, иммунорегуляторного или иммуномодулирующего агента.

31. Способ по п. 30, где соединение по любому из пп. 1-21 или композицию по п. 23, и антипролиферативный агент или радиосенсибилизатор вводят с интервалом в 28 дней.

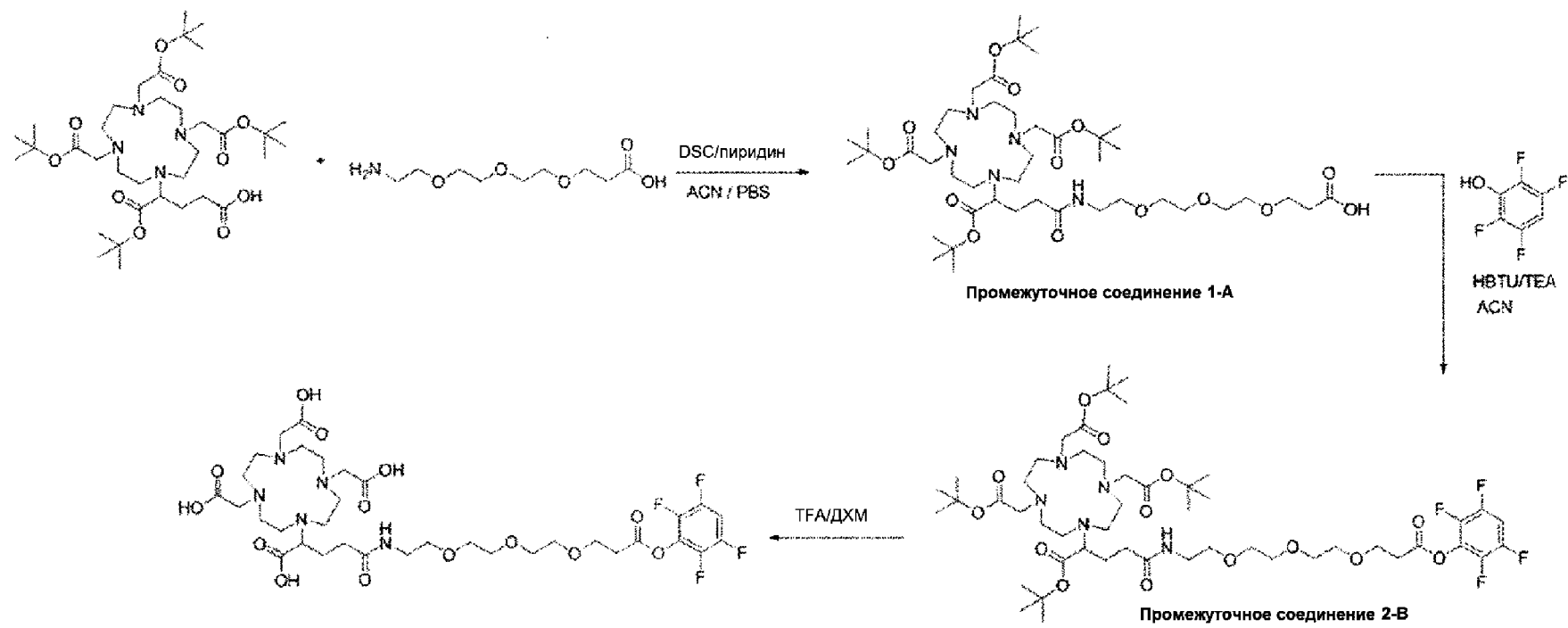
32. Способ по п. 30, где соединение по любому из пп. 1-22 или композицию по п. 23, и иммунорегуляторный или иммуномодулирующий агент вводят с интервалом в 90 дней.



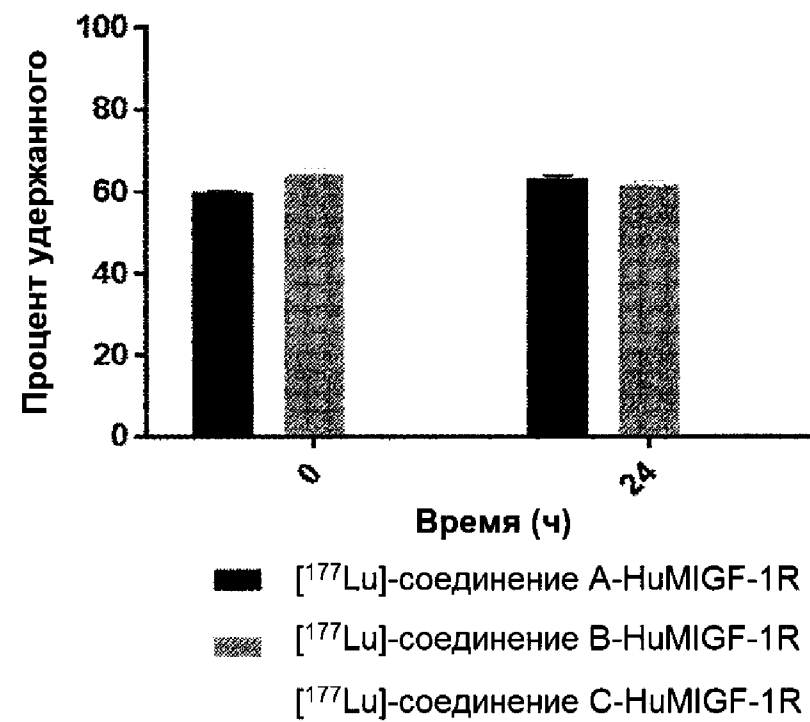
Фиг. 1



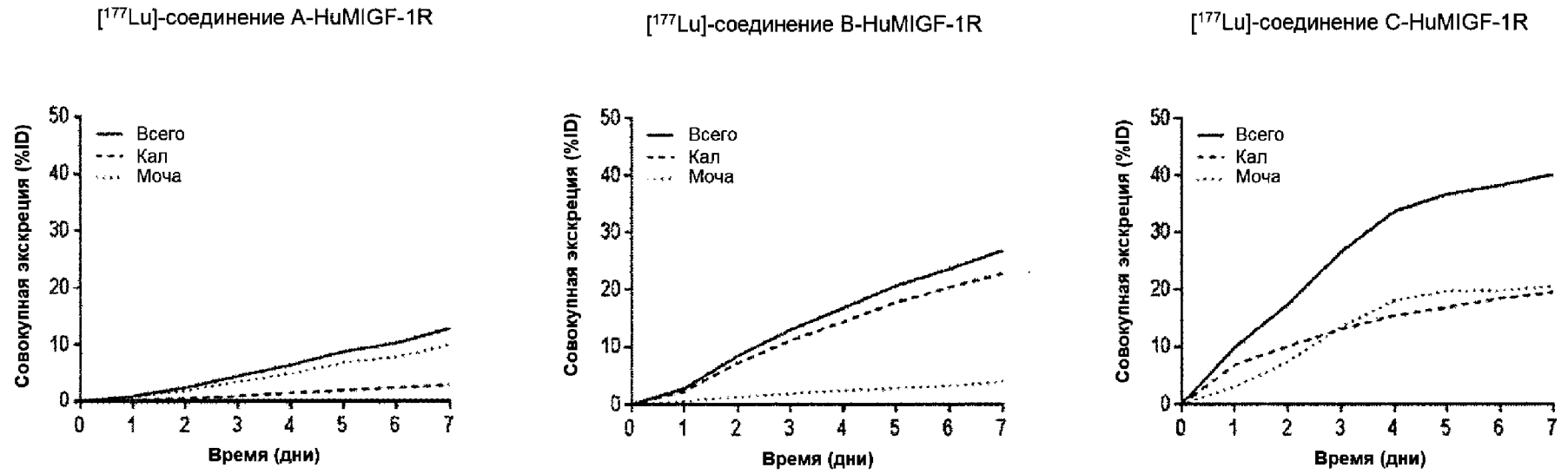
Фиг. 2



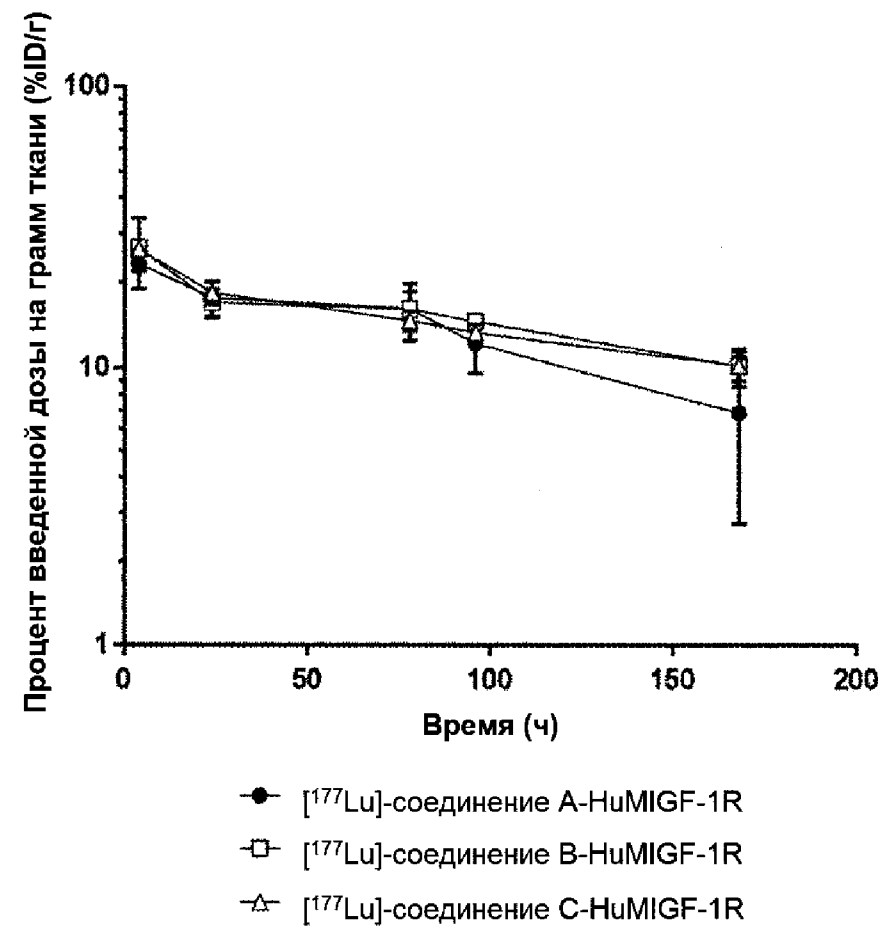
Фиг. 3



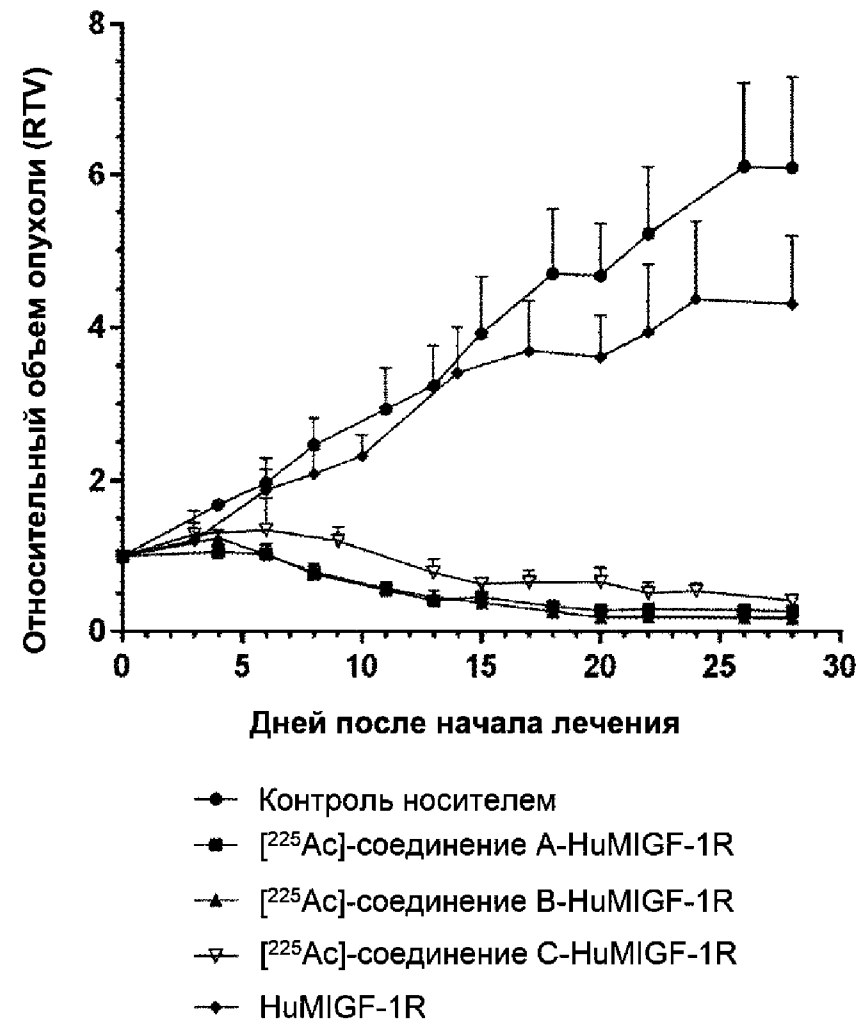
Фиг. 4



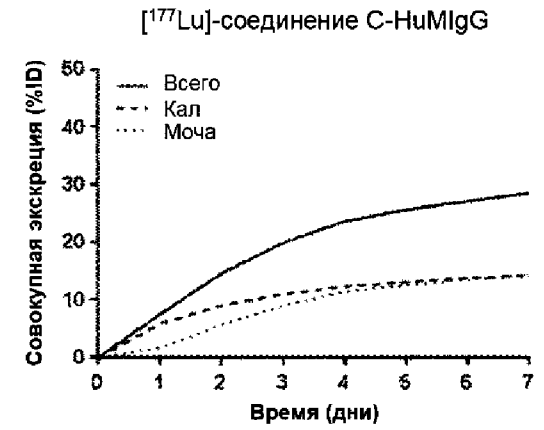
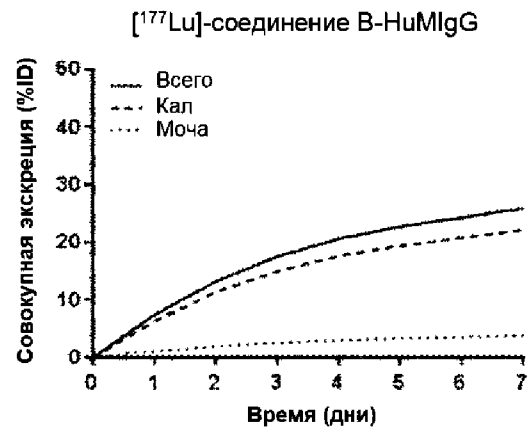
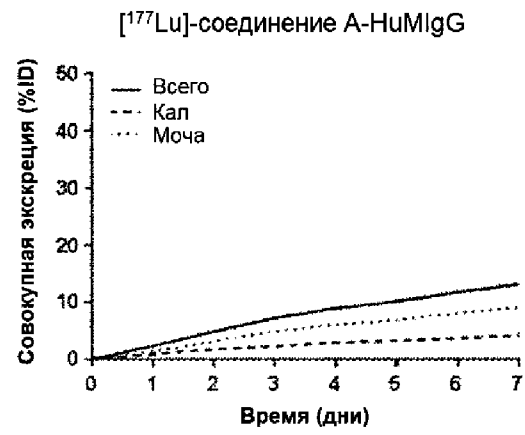
Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8