

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202190117 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.09.15

(51) Int. Cl. *A61K 47/68* (2017.01)
C07H 5/08 (2006.01)
C07H 5/10 (2006.01)
C07H 23/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.07.10

(54) ПРИМЕНЕНИЕ ОЧИЩАЮЩЕГО АГЕНТА НА ОСНОВЕ ДЕНДРОНОВ N-АЦЕТИЛГАЛАКТОЗАМИНА В ПРЕДВАРИТЕЛЬНО НАПРАВЛЕННОЙ РАДИОИММУНОТЕРАПИИ С ХЕЛАТОРОМ DOTA

(31) 62/697,956

(72) Изобретатель:

(32) 2018.07.13

Оуэрфелли Оуатек, Ян Гуанбинь, Чил
Сара М., Ларсон Стив (US)

(33) US

(86) PCT/US2019/041236

(74) Представитель:

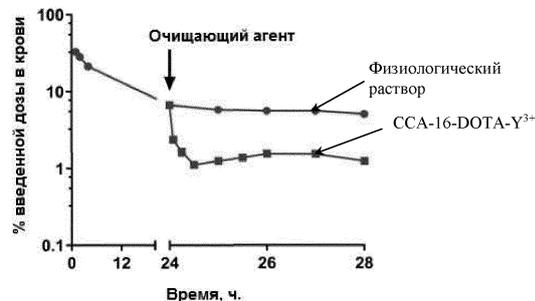
(87) WO 2020/014386 2020.01.16

Нилова М.И. (RU)

(71) Заявитель:

МЕМОРИАЛ СЛОАН КЕТТЕРИНГ
КЭНСЕР СЕНТЕР (US)

(57) В настоящей заявке раскрыты композиции и способы лечения рака. В частности, композиции согласно настоящему изобретению включают новые очищающие агенты, которые могут быть применены в предварительно направленной радиоиммунотерапии.



A1

202190117

202190117

A1

ПРИМЕНЕНИЕ ОЧИЩАЮЩЕГО АГЕНТА НА ОСНОВЕ ДЕНДРОНОВ N-АЦЕТИЛГАЛАКТОЗАМИНА В ПРЕДВАРИТЕЛЬНО НАПРАВЛЕННОЙ РАДИОИММУНОТЕРАПИИ С ХЕЛАТОРОМ ДОТА

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 62\697956, поданной 13 июля 2018 г., содержание которой полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0002] Настоящее изобретение в целом относится к композициям, включающим новые очищающие агенты на основе дендронов N-ацетилгалактозамина, и к способам их применения в предварительно направленной радиоиммунотерапии.

ЗАЯВЛЕНИЕ О ГОСУДАРСТВЕННОЙ ПОДДЕРЖКЕ

[0003] Настоящее изобретение выполнено при финансовой поддержке правительства США в рамках контракта CA86438, заключенного Национальными институтами здравоохранения США. Правительство имеет определенные права на изобретение.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Следующее описание уровня техники настоящего изобретения предоставляется в помощь исключительно для понимания настоящего изобретения и не является описанием или сущностью известных технических решений настоящего изобретения.

[0005] Радиомеченые агенты применялись на протяжении более 50 лет в качестве средств доставки ионизирующего излучения к определенным пораженным участкам (Larson SM. *Cancer* 67:1253–1260 (1991); Britton KE. *Nucl Med Commun.* 18:992–1007 (1997)). Было рассмотрено большое количество молекул, применяемых при адресной доставке радиоизотопов, включая радиомеченые антитела, фрагменты антител, альтернативные каркасы и малые молекулы (Tolmachev V, *et al. Cancer Res.* 67:2773–2782 (2007); Birchler MT, *et al., Otolaryngol Head Neck Surg.* 136:543–548 (2007); Reubi JC, Maecke HR. *J Nucl Med.* 49:1735–1738 (2008)). Применение антител для направленного разрушения опухоли, например, в радиоиммунотерапии (РИТ) с направленно конъюгированными антителами, является сложной задачей, отчасти ввиду субоптимальной дозы облучения

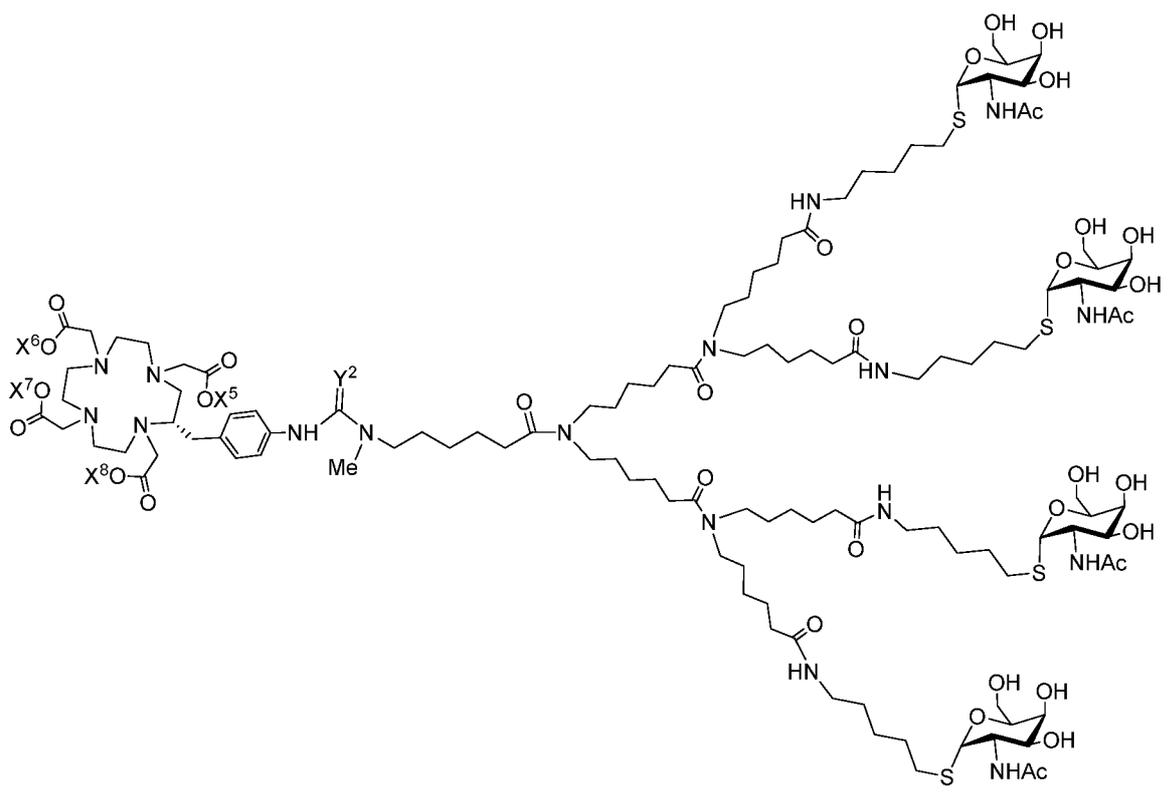
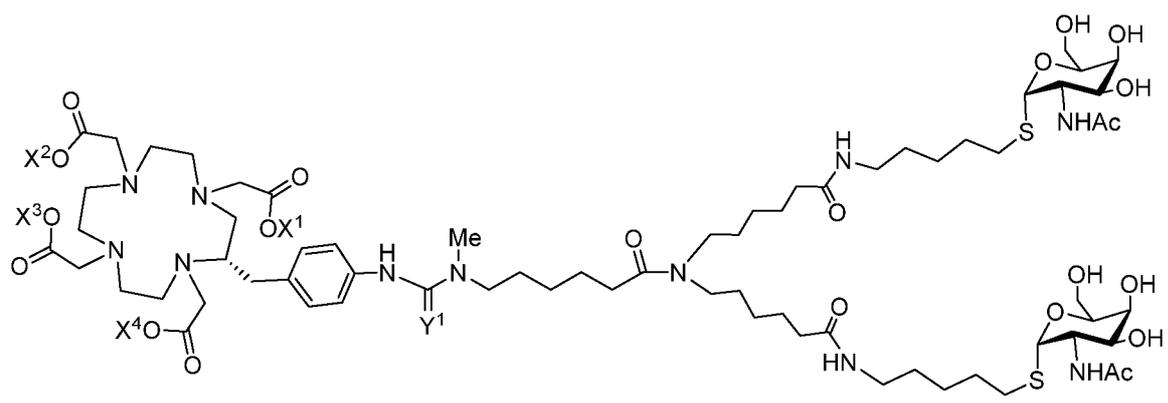
опухоли и терапевтического индекса (ТИ). Кроме того, ввиду неизбежного поражения здоровых тканей повышение дозы невозможно, и поэтому такая терапия приводит к ограниченному противоопухолевому эффекту. Более того, антитела характеризуются длительным периодом полураспада в крови, что является следствием малой величины отношения поглощения опухоли к фоновому излучению. Фрагменты антител и другие связывающие каркасы меньшего размера характеризуются более быстрым выведением из крови, однако они накапливаются в большом количестве в почках и/или печени. Радиомеченые низкомолекулярные лиганды в основном характеризуются более быстрым выведением из крови и более низким фоновым излучением по сравнению с антителами и фрагментами антител, но обычно приводят к слабой специфичности ввиду относительно низкой аффинности к желаемой мишени.

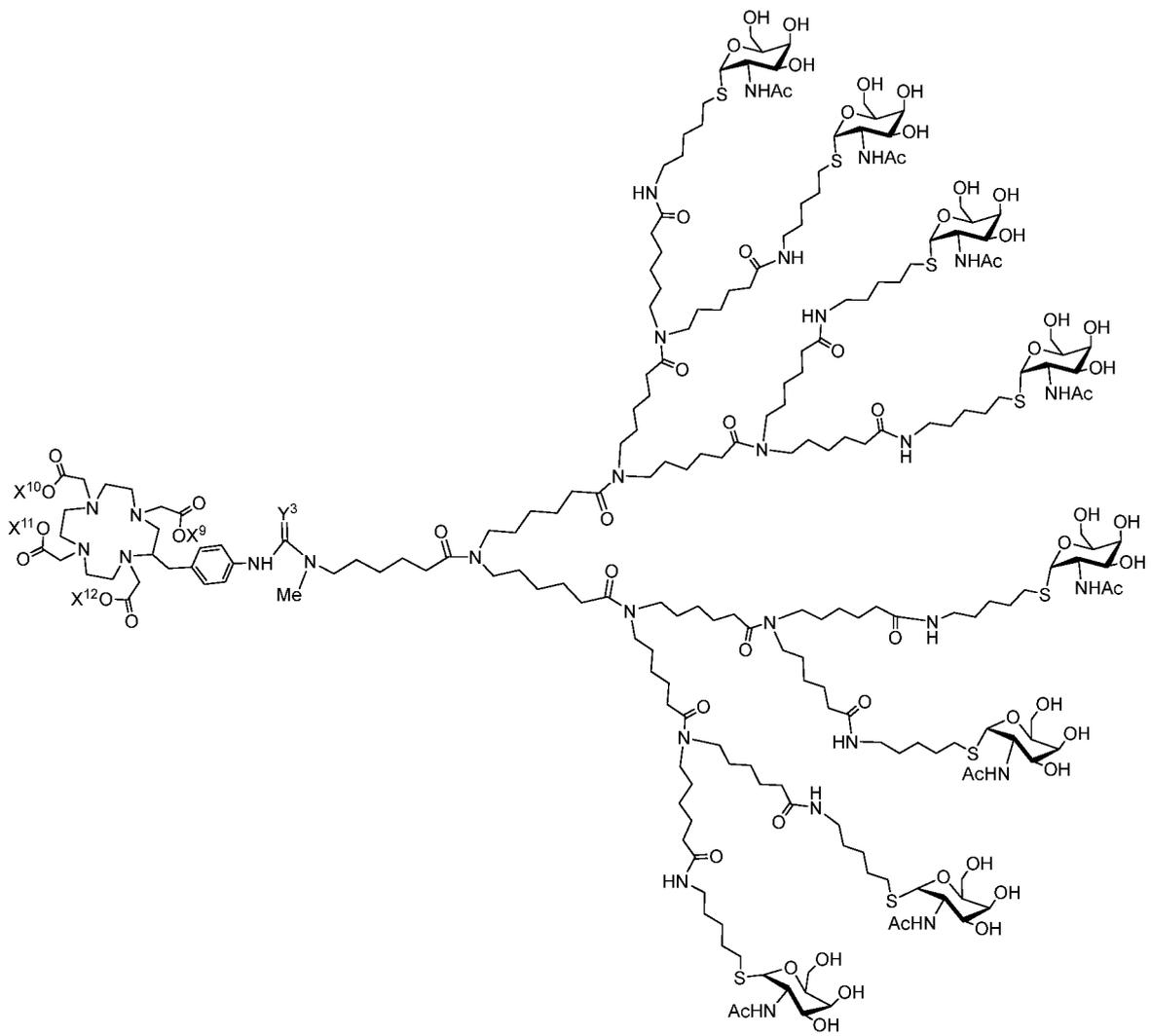
[0006] При предварительно направленной радиоиммунотерапии (ПРИТ, англ.: *pretargeted radioimmunotherapy (PRIT)*) вводят нерадиоактивное бифункциональное антитело со специфичностью как к опухолевому антигену, так и к низкомолекулярному гаптену, и дают ему возможность локализоваться в опухоли (опухолях). После выведения антитела из крови в достаточном количестве вводят малую молекулу с радиоактивной меткой, которая захватывается предварительно направленным антителом. Однако многие малые пептидные и металлохелатные гаптены, применяемые в системах ПРИТ, характеризуются длительным удержанием в организме, что приводит к нежелательной фоновой активности, которая ограничивает величины отношения сигнала к фону при визуализации и способствует неспецифическому излучению, которое ограничивает максимально переносимую дозу для терапевтических применений. (Orcutt *et al.*, *Mol Imaging Biol* 13:215-221 (2011)).

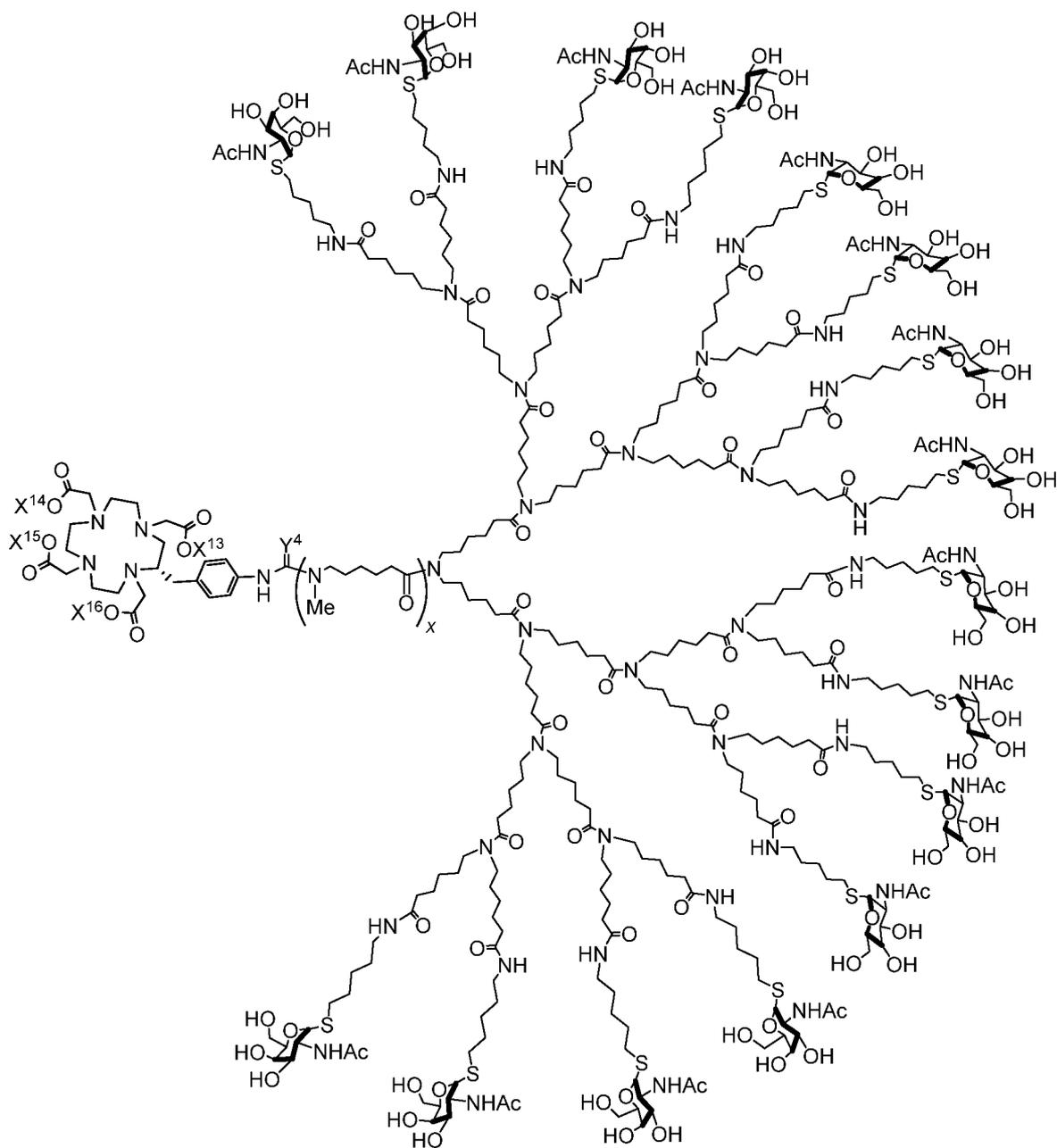
[0007] Таким образом, существует потребность в новых молекулах, которые обеспечивают (а) эффективную предварительно направленную радиоиммунотерапию солидных опухолей *in vivo* и (б) быстрое удаление меченных радиоактивными изотопами малых молекул из неопухолевой ткани.

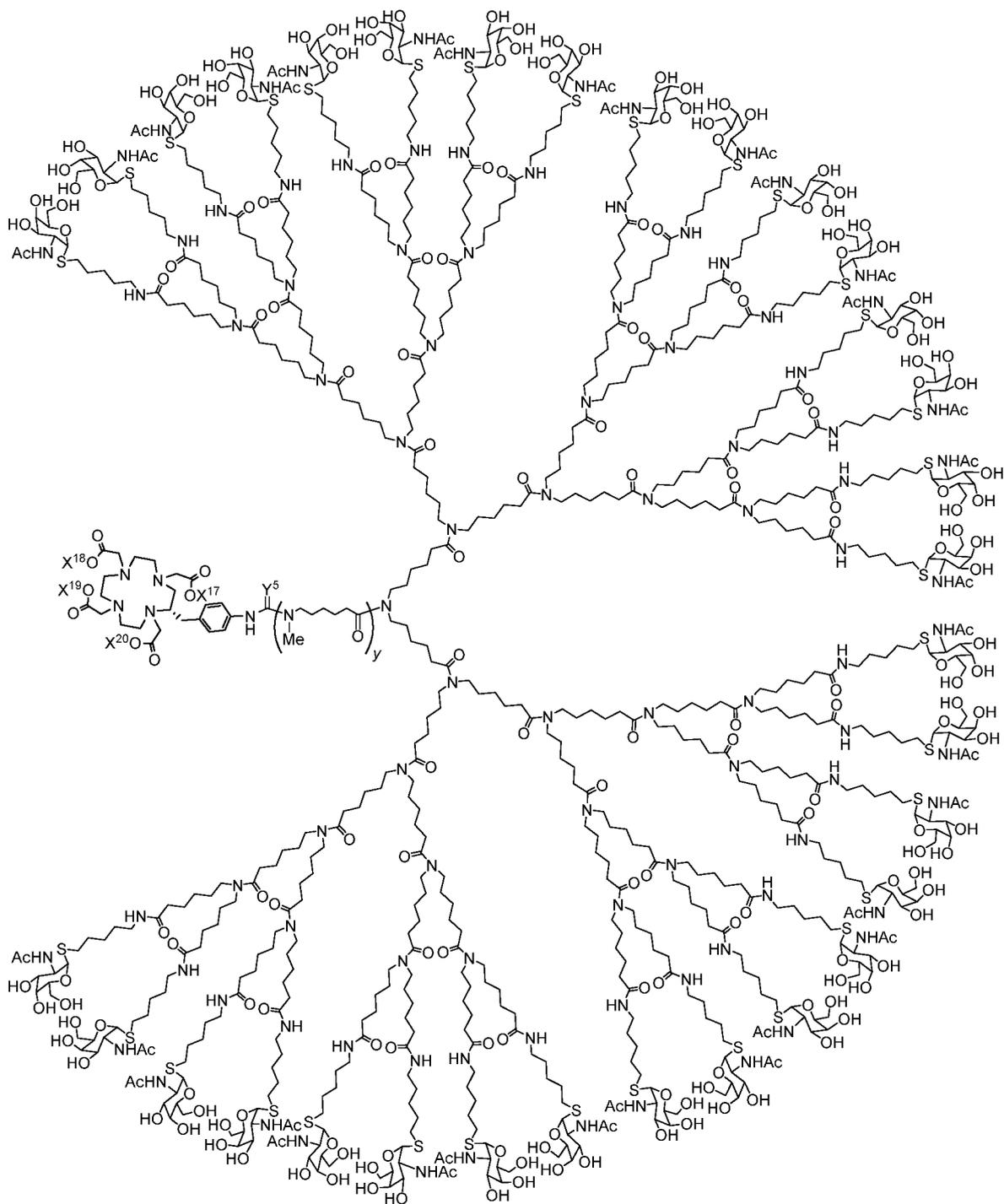
КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0008] Согласно одному аспекту настоящее изобретение обеспечивает соединение вида

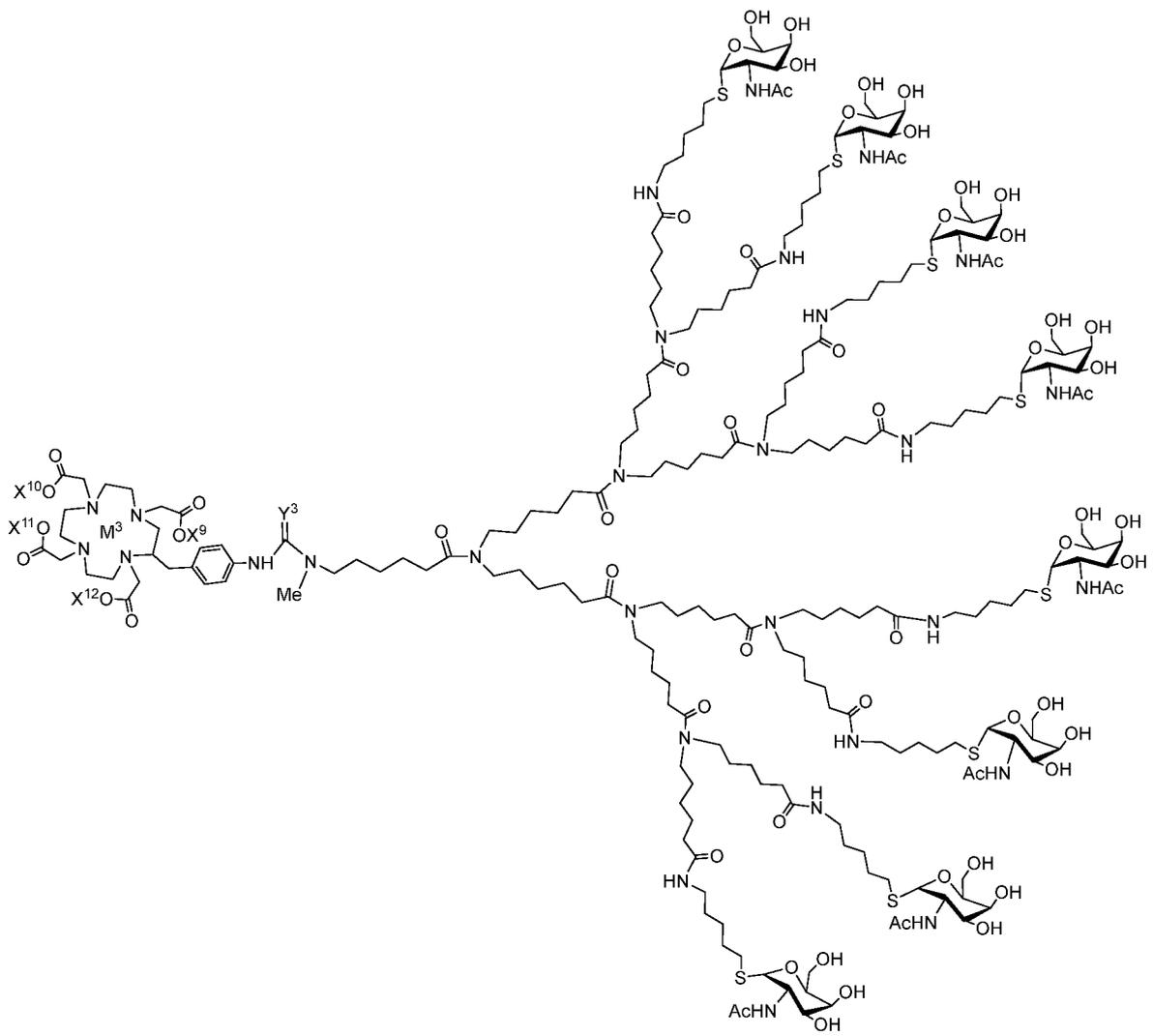




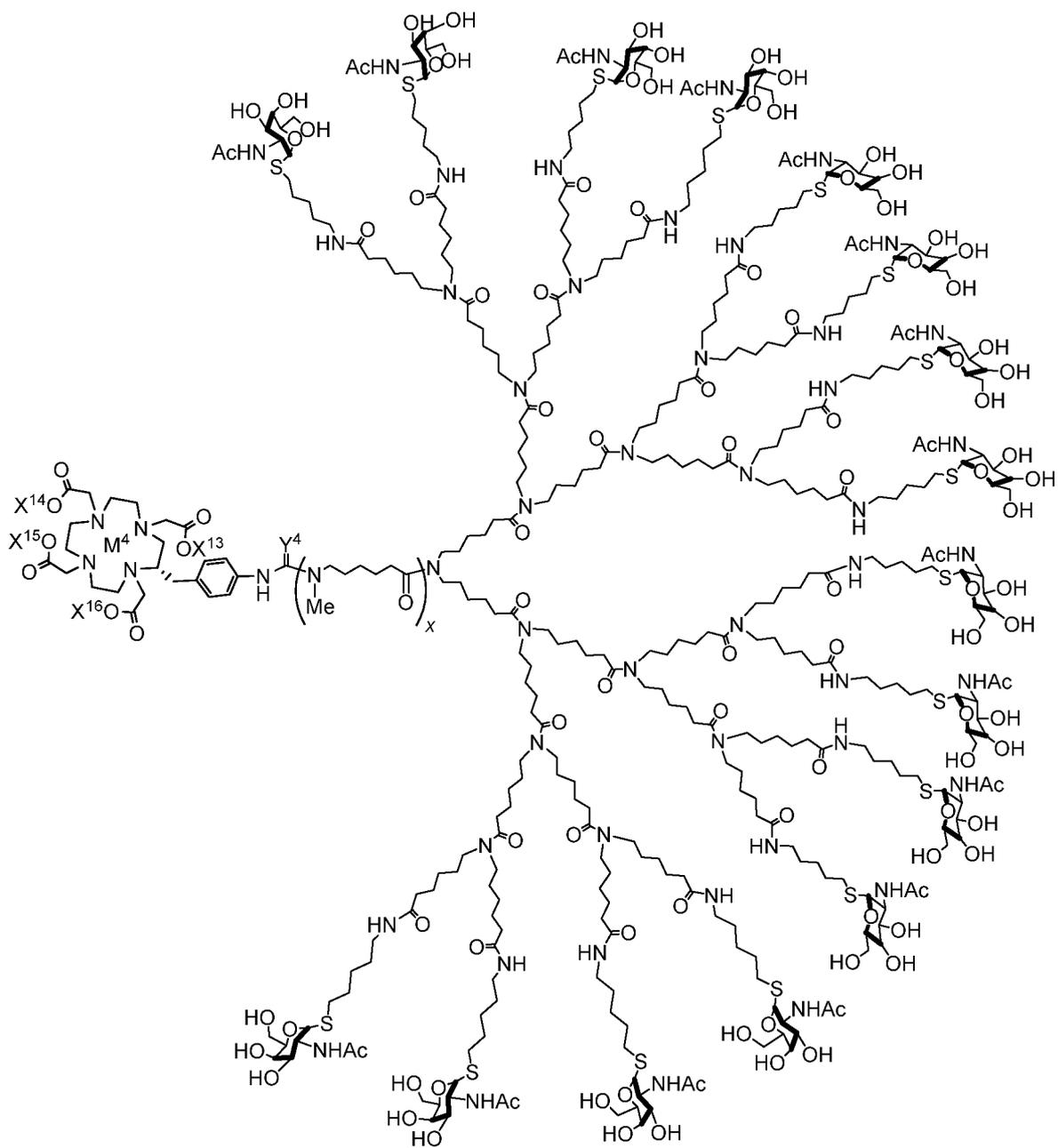


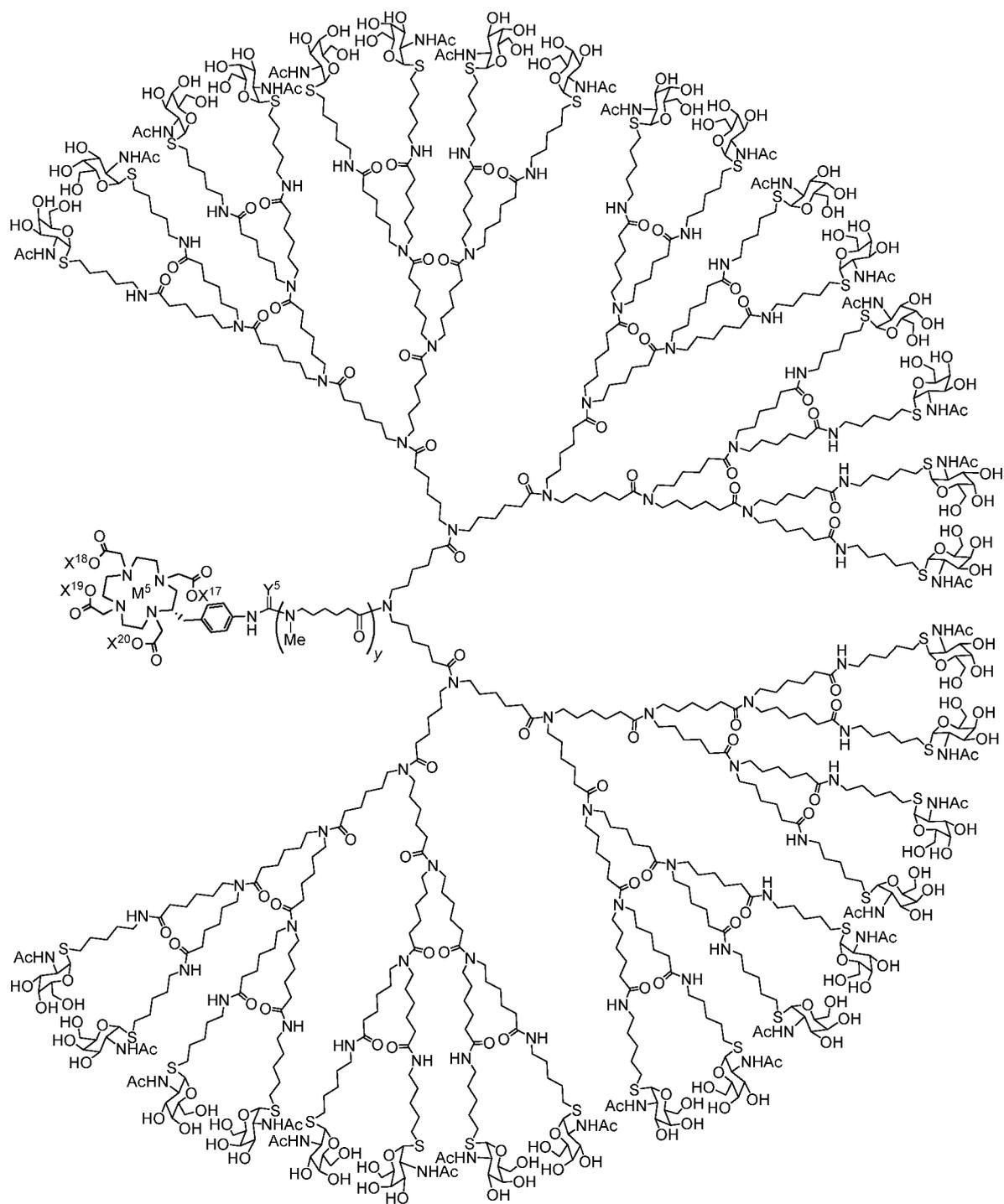


или его фармацевтически приемлемую соль и/или сольват, в котором $X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}, X^{12}, X^{13}, X^{14}, X^{15}, X^{16}, X^{17}, X^{18}, X^{19}, X^{20}$ каждый независимо представляет собой Н или неподеленную пару электронов (т.е. обеспечивает анион кислорода); Y^1, Y^2, Y^3, Y^4, Y^5 каждый независимо представляет собой О или S; x равен 1, 2 или 3; y равен 1, 2, 3 или 4.



,





или его фармацевтически приемлемую соль и/или сольват, в котором M¹, M², M³, M⁴, M⁵ каждый независимо представляет собой Lu³⁺, Sc³⁺, Ga³⁺, Y³⁺, In³⁺, La³⁺, Ce³⁺, Eu³⁺, Tb³⁺, или Gd³⁺; X¹, X², X³, X⁴, X⁵, X⁶, X⁷, X⁸, X⁹, X¹⁰, X¹¹, X¹², X¹³, X¹⁴, X¹⁵, X¹⁶, X¹⁷, X¹⁸, X¹⁹, X²⁰ каждый независимо представляет собой H или неподеленную пару электронов (т.е. обеспечивает анион кислорода); Y¹, Y², Y³, Y⁴, Y⁵ каждый независимо представляет собой O или S; x равен 1, 2 или 3; у равен 1, 2, 3 или 4.

[0010] Согласно любому варианту реализации может оказаться, что M¹, M², M³, M⁴, M⁵ каждый независимо не является радионуклидом. Согласно любому варианту реализации

может оказаться, что Y^1, Y^2, Y^3, Y^4, Y^5 каждый независимо представляет собой S. Согласно любому варианту реализации может оказаться, что x равен 1 или 2. Согласно любому варианту реализации может оказаться, что y равен 2 или 3.

[0011] Согласно родственному аспекту предложена композиция, которая включает одно или более соединений согласно любому варианту реализации соединения, описаному выше, и фармацевтически приемлемый носитель.

[0012] Согласно другому аспекту настоящее изобретение обеспечивает способ повышения чувствительности опухоли к лучевой терапии у субъекта с диагнозом рак, включающий (а) введение субъекту в эффективном количестве биспецифического антитела анти-DOТА, причем биспецифическое антитело анти-DOТА выполнено с возможностью локализации в опухоли, экспрессирующей мишень опухолевого антигена; (б) введение субъекту в эффективном количестве очищающего агента согласно настоящему изобретению; (в) введение субъекту в эффективном количестве радиомеченого гаптена DOТА, причем гаптен DOТА выполнен с возможностью образования комплекса с биспецифическим антителом анти-DOТА.

[0013] Согласно другому аспекту настоящее изобретение обеспечивает способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий (а) введение субъекту в эффективном количестве биспецифического антитела анти-DOТА, причем биспецифическое антитело анти-DOТА выполнено с возможностью локализации в опухоли, экспрессирующей мишень опухолевого антигена; (б) введение субъекту в эффективном количестве очищающего агента согласно настоящему изобретению; (в) введение субъекту в эффективном количестве радиомеченого гаптена DOТА, причем гаптен DOТА выполнен с возможностью образования комплекса с биспецифическим антителом анти-DOТА. Способы лечения рака могут дополнительно включать последовательное, раздельное или одновременное введение субъекту по меньшей мере одного химиотерапевтического агента, выбранного из группы, состоящей азотистых ипритов, производных этиленимина, алкилсульфонатов, нитрозомочевин, гемцитабина, триазенов, аналогов фолиевой кислоты, антрациклинов, таксанов, ингибиторов ЦОГ-2 (англ.: COX-2 inhibitors), аналогов пиримидина, аналогов пурина, антибиотиков, ингибиторов ферментов, эпиподофиллотоксинов, координационных комплексов платины, алкалоидов барвинка, замещенных мочевины, производных метилгидразина, адренкортикальных супрессоров, антагонистов гормонов, эндостатина, таксолов, камптотецинов, SN-38, доксорубицина, аналогов доксорубицина, антиметаболитов, алкилирующих агентов, антимитотиков, антиангиогенных агентов,

ингибиторов тирозинкиназы, ингибиторов mTOR, ингибиторов белка теплового шока (HSP90), ингибиторов протеасом, ингибиторов HDAC, проапоптотических агентов, метотрексата, СРТ-11.

[0014] Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации способов, раскрытых в настоящем изобретении, мишень опухолевого антигена выбрана из группы, состоящей из GPA33, HER2/neu, GD2, MAGE-1, MAGE-3, BAGE, GAGE-1, GAGE-2, MUM-1, CDK4, N-ацетилглюкозаминилтрансферазы, p15, gp75, бета-катенина, ErbB2, ракового антигена 125 (CA-125), карциноэмбрионального антигена (CEA), RAGE, MART (антигена меланомы), MUC-1, MUC-2, MUC-3, MUC-4, MUC-5ac, MUC-16, MUC-17, тирозиназы, Pmel 17 (gp100), последовательности интрона GnT-V подтипа V (последовательности V интрона N-ацетилглюкозаминилтрансферазы подтипа V), рака простаты psm, PRAME (антигена меланомы), β -катенина, EBNA (ядерного антигена вируса Эпштейна--Барра) 1-6, p53, белка устойчивости рака легких к противоопухолевым препаратам (LRP) Bcl-2, простатоспецифического антигена (PSA), Ki-67, CEACAM6, специфического антигена-р толстой кишки (CSAp), HLA-DR, CD40, CD74, CD138, EGFR, EGP-1, EGP-2, VEGF, PlGF, инсулиноподобного фактора роста (ILGF), тенасцина, тромбоцитарного фактора роста, IL-6, CD20, CD19, PSMA, CD33, CD123, MET, DLL4, Ang-2, HER3, IGF-1R, CD30, TAG-72, SPEAP, CD45, L1-CAM, антигена Льюиса Y (Le^y), E-кадгерина, V-кадгерина, EpCAM.

[0015] Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации способов, раскрытых в настоящем изобретении, биспецифическое антитело анти-DOТА, очищающий агент и/или радиомеченый гаптен DOТА вводят внутривенно, внутримышечно, внутриартериально, интратекально, интракапсулярно, внутриглазнично, внутрикожно, внутривнутрино, транстрахеально, подкожно, интрацеребровентрикулярно, перорально или интраназально.

[0016] Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации способов, раскрытых в настоящем изобретении, рак выбран из группы, состоящей из рака груди, колоректального рака, рака шейки матки, рака яичников, рака печени, рака мочевого пузыря, гепатомы, гепатоцеллюлярной карциномы, рака мозга, рака легких, рака желудочно-кишечного тракта или рака желудка, рака поджелудочной железы, рака щитовидной железы, рака почек, рака простаты, меланомы, саркомы, карциномы, опухоли Вильмса, рака эндометрия, глиобластомы, плоскоклеточного рака, астроцитомы, карциномы слюнной железы, рака вульвы, карциномы полового члена, рака головы и шеи.

Рак головного мозга может представлять собой аденому гипофиза, менингиому, нейробластому или краниофарингиому.

[0017] Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации способов, раскрытых в настоящем изобретении, радиомеченый DOTA-гаптен включает один или несколько компонентов из Proteus-DOTA, *S*-2-(*R*-аминобензил)-1,4,7,10-тетраазациклодекантетрауксусной кислоты (DOTA-Bn), DOTA-Bn-биотина, BAD (((*S*)-2-(4-(2-бром)-ацетамидо)-бензил)-DOTA), NBD ((*S*)-2-(4-нитробензил)-DOTA), DOTA-RGD, DOTA-PEG-E(c(RGDyK))₂, DOTA-8-AOC-BBN, *p*-NO₂-Bn-DOTA, DOTA-PESIN, DOTA-биотин-саркозина (DOTA-биотин), моно 1,4,7,10-тетраазациклодекан-1,4,7,10-тетрауксусной кислоты (сложный эфир *N*-гидроксисукцинимид) (DOTA-NHS) или DOTATyrLysDOTA. Радиомеченый гаптен DOTA может быть помечен радионуклидом, выбранным из группы, состоящей из ²¹³Bi, ²¹¹At, ²²⁵Ac, ¹⁵²Dy, ²¹²Bi, ²²³Ra, ²¹⁹Rn, ²¹⁵Po, ²¹¹Pb, ²²¹Fr, ²¹⁷At, ²⁵⁵Fm, ⁸⁶Y, ⁹⁰Y, ⁸⁹Sr, ¹⁶⁵Dy, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁷⁷Lu, ⁶⁷Cu, ¹¹¹In, ⁶⁷Ga, ⁵¹Cr, ⁵⁸Co, ^{99m}Tc, ^{103m}Rh, ^{195m}Pt, ¹¹⁹Sb, ¹⁶¹Ho, ^{189m}Os, ¹⁹²Ir, ²⁰¹Tl, ²⁰³Pb, ⁶⁸Ga, ²²⁷Th, ⁶⁴Cu.

[0018] Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации способов, раскрытых в настоящем изобретении, уровни радиоактивности, испускаемой комплексом радиомеченого гаптена DOTA и биспецифического антитела анти-DOTA, выявляются между 4 и 24 часами после введения радиомеченого гаптена DOTA. Уровни радиоактивности, испускаемой данным комплексом, можно выразить в виде процента введенной дозы на грамм ткани (% ВД/г). Эталонное значение может быть рассчитано путем измерения уровней радиоактивности, присутствующей в неопухолевых (здоровых) тканях, и вычисления средних уровней радиоактивности, присутствующей в неопухолевых (здоровых) тканях ± стандартное отклонение. Согласно некоторым вариантам реализации эталонное значение представляет собой стандартное значение поглощения (СЗП, англ.: standard uptake value (SUV)). См. Thie JA, *J Nucl Med.* 45(9):1431-4 (2004). Терапевтическая эффективность такого комплекса может быть определена путем вычисления отношения площади под фармакокинетической кривой опухоли к площади под фармакокинетической кривой здоровой ткани. Согласно некоторым вариантам реализации данный комплекс обеспечивает отношение площади под фармакокинетической кривой опухоли к площади под фармакокинетической кривой здоровой ткани примерно 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 15:1, 20:1, 25:1, 30:1, 35:1, 40:1, 45:1, 50:1, 55:1, 60:1, 65:1, 70:1, 75:1, 80:1, 85:1, 90:1, 95:1 или 100:1. Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации способов, раскрытых в настоящем изобретении, отношение уровней радиоактивности опухоли к уровням радиоактивности здоровой ткани

составляет примерно 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 15:1, 20:1, 25:1, 30:1, 35:1, 40:1, 45:1, 50:1, 55:1, 60:1, 65:1, 70:1, 75:1, 80:1, 85:1, 90:1, 95:1 или 100:1.

[0019] В настоящем изобретении также раскрыты наборы, содержащие компоненты, пригодные для лечения рака у пациента. Согласно одному аспекту наборы содержат очищающий агент согласно настоящему изобретению и инструкции по применению. Наборы согласно настоящему изобретению могут дополнительно содержать по меньшей мере одно биспецифическое антитело анти-ДОТА и/или гаптен ДОТА, который необязательно мечен одним или несколькими радионуклидами. Примеры подходящих радионуклидов включают ^{213}Bi , ^{211}At , ^{225}Ac , ^{152}Dy , ^{212}Bi , ^{223}Ra , ^{219}Rn , ^{215}Po , ^{211}Bi , ^{221}Fr , ^{217}At , ^{255}Fm , ^{86}Y , ^{90}Y , ^{89}Sr , ^{165}Dy , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{177}Lu , ^{67}Cu , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{51}Cr , ^{58}Co , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, $^{103\text{m}}\text{Rh}$, $^{195\text{m}}\text{Pt}$, ^{119}Sb , ^{161}Ho , $^{189\text{m}}\text{Os}$, ^{192}Ir , ^{201}Tl , ^{203}Pb , ^{68}Ga , ^{227}Th , ^{64}Cu , но не ограничиваются ими. Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере одно биспецифическое антитело анти-ДОТА связано с мишенью опухолевого антигена, выбранного из группы, состоящей из GPA33, HER2/neu, GD2, MAGE-1, MAGE-3, BAGE, GAGE-1, GAGE-2, MUM-1, CDK4, N-ацетилглюкозаминилтрансферазы, p15, gp75, бета-катенина, ErbB2, ракового антигена 125 (CA-125), карциноэмбрионального антигена (CEA), RAGE, MART (антигена меланомы), MUC-1, MUC-2, MUC-3, MUC-4, MUC-5ac, MUC-16, MUC-17, тирозиназы, Pmel 17 (gp100), последовательности интрона GnT-V подтипа V (последовательности V интрона N-ацетилглюкозаминилтрансферазы подтипа V), рака простаты psm, PRAME (антигена меланомы), β -катенина, EBNA (ядерного антигена вируса Эпштейна--Барра) 1-6, p53, белка устойчивости рака легких к противоопухолевым препаратам (LRP) Vcl-2, простатоспецифического антигена (PSA), Ki-67, CEACAM6, специфического антигена-р толстой кишки (CSAp), HLA-DR, CD40, CD74, CD138, EGFR, EGP-1, EGP-2, VEGF, PlGF, инсулиноподобного фактора роста (ILGF), тенастина, тромбоцитарного фактора роста, IL-6, CD20, CD19, PSMA, CD33, CD123, MET, DLL4, Ang-2, HER3, IGF-1R, CD30, TAG-72, SPEAP, CD45, L1-CAM, антигена Льюиса Y (Le^y), E-кадгерина, V-кадгерина, EpCAM.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0020] На ФИГ. 1 показано влияние очищающего агента, раскрытого в настоящем изобретении, на циркуляцию *in vivo* биспецифического антитела ^{131}I . Атимическим здоровым мышам (без опухолей) внутривенно вводили при $t = 0$ биспецифическое антитело ^{131}I (19-21 мкКи; 250 мкг; 1,19 нмоль) с последующим введением либо несущей среды (физиологический раствор), либо очищающего агента на основе дендронов (25 мкг; 2,76

нмоль) через $t = 24$ часа. Серийный забор крови проводился в различные моменты времени при $t = 1-28$ часов. Данные представлены в виде среднего значения (\pm) среднеквадратичной погрешности.

[0021] На ФИГ. 2 показаны результаты предварительно направленного действия на опухоли, полученные с помощью очищающего агента CCA-16-DOТА- Y^{3+} согласно настоящему изобретению.

[0022] На ФИГ. 3 показано влияние очищающего агента CCA-16-DOТА- Y^{3+} на поглощение опухолью в зависимости от дозы. $**P < 0,01$ по сравнению с группой 25 мкг.

[0023] На ФИГ. 4 показано сравнение результатов предварительно направленного действия на опухоль, полученных с применением варианта реализации очищающего агента согласно настоящему изобретению по сравнению с отсутствием очищающего агента (несущая среда), а также с применением очищающего агента на основе конъюгата декстрана и гаптена DOТА в количестве 500 кДа.

[0024] На ФИГ. 5А показано сравнение биораспределения предварительно направленных радиоактивных индикаторов [^{225}Ac]Proteus-DOТА ($n = 3$) или [^{111}In]Proteus-DOТА ($n = 5$) в группах бестимусных мышей с опухолью SW1222 через 24 часа после введения. После внутривенных (через боковую хвостовую вену) инъекций антитела huA33-C825 (0,25 мг; 1,19 нмоль), очищающего агента и радиомеченых гаптенных DOТА животные были умерщвлены спустя 24 часа с целью изъятия органов и измерения уровня радиоактивности. $*P < 0,05$; $***P < 0,001$. Данные представлены в виде среднего значения (\pm) среднеквадратичной погрешности.

[0025] На ФИГ. 5Б показано абсолютное поглощение опухолью предварительно направленных радиомеченых гаптенных DOТА спустя 24 ч после введения в зависимости от введенного количества радиоактивного индикатора (моль); $n = 1-7$ для каждой точки данных.

[0026] На ФИГ. 6А показаны результаты предварительно направленного действия на опухоль у животных, которым вводили 172 пмоль/1,67 МБк [45 мкКи] [^{111}In] Proteus-DOТА ($n = 4$) или 790 пмоль/7,66 МБк [207 мкКи] [^{111}In] Proteus-DOТА ($n = 1$).

[0027] На ФИГ. 6Б показано статистическое сравнение действия предварительно направленных [^{225}Ac] Proteus-DOТА и [^{111}In] Proteus-DOТА с действием предварительно направленного анти-GPA33-DOТА.

[0028] На ФИГ. 7 показаны изображения ОФЭКТ/КТ приблизительно через 24 часа после введения предварительно направленного [^{111}In] Proteus-DOТА на опухоль колоректального рака человека SW1222 у бестимусных мышей. Ксенотрансплантат SW1222 четко заметен в боковой области живота. На основании анализа изображения отдельных участков тела таких, как опухоль, почка (левая), сердце и печень были получены концентрации активности (значение среднеквадратичной погрешности ± 1 стандартное отклонение; процент введенной дозы на грамм) $6,89 \pm 4,68$; $0,46 \pm 0,47$; $0,20 \pm 0,24$; $0,22 \pm 0,27$ соответственно.

[0029] На ФИГ. 8 представлена структура Proteus-DOТА (химическая формула: $\text{C}_{50}\text{H}_{80}\text{LuN}_{11}\text{O}_{19}\text{S}^{3-}$; точная масса: 1345,48; молекулярная масса: 1346,28). Часть молекулы, заключенная в рамку, представляет собой нерадиоактивный гаптен бензил-DOТА (Lu), который распознается одноцепочечным вариабельным фрагментом С825 антитела гаптена анти-DOТА при $K_d = 10$ пМ. Несвязанная трехлепестковая часть молекулы DOТА может притягивать различные радиометаллы, применяемые в терапии и/или визуализации, включая ^{225}Ac , ^{68}Ga и ^{64}Cu .

[0030] На ФИГ. 9 показана активность ^{177}Lu в опухоли и различных здоровых тканях, определенная согласно оценке биораспределения после ПРИТ с применением huA33-C825 (по 0,25 мг на мышь), очищающего агента на основе дендронов CCA-16-DOТА- Y^{3+} (25 мкг; 2,76 нмоль) и 3,7 МБк (20 пмоль) ^{177}Lu -аминобензила DOТА (^{177}Lu]LuDOТА-Bn). Количество животных в группе $n = 5$. Данные представлены в виде процента введенной дозы на грамм (% ВД/г); значение среднеквадратичной погрешности: ± 1 стандартное отклонение.

[0031] На ФИГ. 10 показаны кривые биораспределения активности ^{177}Lu с учетом корректировки по распаду для опухолей SW1222, а также для выбранных здоровых тканей спустя 1-48 часов после инъекции с последующей ПРИТ с применением huA33-C825 + ^{177}Lu]LuDOТА-Bn (3,7 МБк, 20 пмоль) и очищающего агента на основе дендронов CCA-16-DOТА- Y^{3+} (25 мкг; 2,76 нмоль). Данные представлены в виде процента введенной дозы на грамм (% ВД/г); значение среднеквадратичной погрешности: ± 1 стандартное отклонение.

[0032] На ФИГ. 11 показаны дозы поглощения предварительно направленных ^{177}Lu]LuDOТА-Bn и анти-GPA33-DOТА с применением очищающего агента на основе дендронов CCA-16-DOТА- Y^{3+} у бестимусных мышей с подкожным введением опухоли

ГРА33(+) SW1222. Терапевтический индекс определяли как расчетное отношение дозы, поглощенной опухолью, к дозе, поглощенной здоровыми тканями.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0033] Следует принимать во внимание, что некоторые аспекты, режимы, варианты реализации, отличия и особенности настоящих способов описаны ниже с различными уровнями детализации с целью обеспечения устойчивого понимания настоящего изобретения.

[0034] При осуществлении настоящих способов на практике применяют многие традиционные методы молекулярной биологии, биохимии белков, клеточной биологии, микробиологии и рекомбинантной ДНК. Например, см. Sambrook and Russell eds. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3-е издание; серию Ausubel *et al.* eds. (2007) *Current Protocols in Molecular Biology*; серию *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc., N.Y.); MacPherson *et al.* (1991) *PCR 1: A Practical Approach* (IRL Press at Oxford University Press); MacPherson *et al.* (1995) *PCR 2: A Practical Approach*; Harlow and Lane eds. (1999) *Antibodies, A Laboratory Manual*; Freshney (2005) *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*, 5-е издание; Gait ed. (1984) *Oligonucleotide Synthesis*; патент США № 4683195; Hames and Higgins eds. (1984) *Nucleic Acid Hybridization*; Anderson (1999) *Nucleic Acid Hybridization*; Hames and Higgins eds. (1984) *Transcription and Translation; Immobilized Cells and Enzymes* (IRL Press (1986)); Perbal (1984) *A Practical Guide to Molecular Cloning*; Miller and Calos eds. (1987) *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (Cold Spring Harbor Laboratory); Makrides ed. (2003) *Gene Transfer and Expression in Mammalian Cells*; Mayer and Walker eds. (1987) *Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology* (Academic Press, London); Herzenberg *et al.* eds (1996) *Weir's Handbook of Experimental Immunology*.

[0035] Очищающие агенты (ОА) представляют собой класс соединений, предназначенных для быстрого удаления направленных биомолекул из кровотока в случаях применения предварительно направленных радиоизотопов на опухолевые антигены. Очищающие агенты на основе декстрана в основном применяют с целью повышения терапевтического индекса при предварительно направленной радиоиммунотерапии с применением ДОТА (ДОТА ПРИТ). Несмотря на высокую эффективность применения в качестве основы очищающего агента, декстраны затрудняют дозирование вследствие присущей им полидисперсности и кинетики ферментативной деградации *in vivo*.

[0036] Система ДОТА-ПРИТ, раскрытая в настоящем изобретении, предполагает трехэтапную стратегию предварительного нацеливания, включающую введение (1) конструкции IgG (IgG-scFv) биспецифического антитела с одноцепочечным переменным фрагментом (scFv), содержащей последовательности антитела с высокой аффинностью к антителу антиопухолевого антигена (часть IgG) и одноцепочечный переменный фрагмент scFv гаптена анти-ДОТА (например, C825); применение (2) очищающего агента согласно настоящему изобретению с целью быстрого выведения циркулирующего биспецифического антитела по прошествии достаточного количества времени, отведенного для накопления биспецифического антитела в антиген-положительной опухоли; применение (3) композиции гаптена ДОТА с радиоактивной меткой (например, ^{177}Lu -ДОТА-Bn).

[0037] Композиции согласно настоящему изобретению включают новые очищающие агенты на основе дендронов N-ацетилгалактозамина, которые могут быть применены в ПРИТ (например, радиоиммунотерапия альфа-частицами). Композиции очищающих агентов, раскрытые в настоящей заявке, демонстрируют более эффективное выведение из крови радиомеченого биспецифического антитела (BsAb) при ДОТА-ПРИТ и улучшают терапевтический индекс (ТИ) при ДОТА-ПРИТ. Например, в течение 5 минут после однократного введения избыточной дозы очищающего агента на основе дендронов согласно настоящему изобретению (молярное отношение введенного биспецифического антитела ^{131}I к очищающему агенту составляет 1:2,3), активность ^{131}I в крови снизилась на 64% по сравнению с исходным уровнем, от 6,7% ВД/г до 2,4% ВД/г. Исследования ДОТА-ПРИТ на модели мыши с ксенотрансплантатом колоректального рака показали зависимое от дозы очищающего агента отношение поглощения опухолью к поглощению кровью ^{177}Lu -ДОТА-Bn спустя 24 часа после введения активности ^{177}Lu (например, среднее отношение поглощения опухолью к поглощению кровью составляло 2,9, 26 и 59 при 0 мкг (несущая среда), 15 мкг или 20 мкг для очищающего агента на основе дендронов соответственно). Доза очищающего агента на основе дендронов в 25 мкг привела к среднему отношению поглощения опухолью к поглощению кровью 76, что почти идентично ранее оптимизированному дозированию очищающего агента на основе декстрана (среднее отношение поглощения опухолью к поглощению кровью – 77). В совокупности данные результаты предполагают, что очищающий агент на основе дендронов согласно настоящему изобретению пригоден для увеличения терапевтического индекса при ДОТА-ПРИТ.

Определения

[0038] Если не указано иное, все технические и научные термины, применяемые в настоящей заявке, в основном имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области, к которой принадлежит настоящее изобретение. В настоящем описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают в себя ссылки на формы множественного числа, если содержание явно не указывает иное. Например, ссылка на «клетку» включает комбинацию двух или более клеток и т.п. В целом используемая в настоящей заявке номенклатура и лабораторные процедуры в культивировании клеток, молекулярной генетике, органической химии, аналитической химии, химии нуклеиновых кислот и гибридизации, описанные ниже, хорошо известны и обычно применяются в данной области.

[0039] Применяемый в настоящей заявке термин «примерно» в отношении числа в целом включает числа, которые попадают в диапазон 1%, 5% или 10% в любом направлении (больше или меньше) от числа, если не указано иное или иное не очевидно из контекста (за исключением случаев, когда такое число меньше 0% или превышает 100% от возможного значения).

[0040] Фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных в настоящей заявке, входят в объем настоящего изобретения и включают аддукты соединений с кислотами или основаниями (acid or base addition salts), которые сохраняют желаемую фармакологическую активность и не являются нежелательными с биологической точки зрения (например, соль не является чрезмерно токсичной, аллергенной или раздражающей, и является биодоступной). Если соединение согласно настоящему изобретению содержит основную группу, такую как, например, аминогруппа, фармацевтически приемлемые соли могут быть образованы с применением неорганических кислот (таких, как соляная кислота, борная кислота, азотная кислота, серная кислота и фосфорная кислота), органических кислот (например, альгинат, муравьиная кислота, уксусная кислота, бензойная кислота, глюконовая кислота, фумаровая кислота, щавелевая кислота, винная кислота, молочная кислота, малеиновая кислота, лимонная кислота, янтарная кислота, яблочная кислота, метансульфоновая кислота, бензолсульфоновая кислота, нафталинсульфоновая кислота и п-толуолсульфоновая кислота) или кислых аминокислот (таких, как аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота). Если соединение согласно настоящему изобретению содержит кислотную группу, такую как, например, группа карбоновой кислоты, оно может образовывать соли с металлами, такими как щелочные и щелочноземельные металлы

(например, Na^+ , Li^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}), аммиаком или органическими аминами (например, дициклогексиламин, триметиламин, триэтиламин, пиридин, пиколин, этаноламин, диэтанолламин, триэтанолламин) или основными аминокислотами (например, аргинин, лизин и орнитин). Такие соли могут быть получены *in situ* во время выделения и очистки соединений или путем отдельной реакции очищенного соединения в форме свободного основания или свободной кислоты с соответствующей кислотой или основанием с выделением образованной таким образом соли.

[0041] Применяемый в настоящей заявке термин «введение» агента или лекарственного средства субъекту включает любой путь введения или доставки субъекту соединения для выполнения предполагаемой функции. Введение может осуществляться любым приемлемым путем, включая пероральный, интраназальный, парентеральный (внутривенный, внутримышечный, внутрибрюшинный или подкожный), ректальный или местный. Введение включает в себя самостоятельное введение препарата и введение препарата другим лицом.

[0042] Применяемый в настоящей заявке термин «антитело» в совокупности относится к иммуноглобулинам или иммуноглобулиноподобным молекулам, включая в качестве примера IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, но не ограничиваясь ими, их комбинации, а также аналогичные молекулы, продуцируемые во время иммунного ответа у любого позвоночного, например, у млекопитающих, таких как люди, козы, кролики и мыши, а также у видов, не относящихся к млекопитающим, таких как иммуноглобулины акул. В данном контексте «антитела» (включая «интактные иммуноглобулины») и «антигенсвязывающие фрагменты» специфически связываются с представляющей интерес молекулой (или группой очень похожих представляющих интерес молекул), по существу исключая связывание с другими молекулами (например, антитела и фрагменты антител, которые имеют константу связывания для представляющей интерес молекулы, которая примерно в 10^3 M^{-1} раз больше, примерно в 10^4 M^{-1} раз больше или примерно в 10^5 M^{-1} раз больше, чем константа связывания для других молекул в биологическом образце). Термин «антитело» также включает генно-инженерные формы, такие как химерные антитела (например, гуманизированные мышинные антитела), гетероконъюгированные антитела (такие как биспецифические антитела). См. также Pierce Catalog and Handbook, 1994-1995 (Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.); Kuby, J., *Immunology*, 3rd Ed., W.H. Freeman & Co., New York, 1997.

[0043] В более конкретном смысле антитело относится к полипептидному лиганду, содержащему по меньшей мере переменную область иммуноглобулина легкой цепи или переменную область иммуноглобулина тяжелой цепи, которая специфически распознает и связывает эпитоп антигена. Антитела состоят из тяжелой и легкой цепи, каждая из которых имеет переменную область, называемую переменной областью тяжелой цепи (V_H) и переменной областью легкой цепи (V_L). Совместно область V_H и область V_L ответственны за связывание антигена, распознаваемого антителом. Обычно иммуноглобулин имеет тяжелые (H) цепи и легкие (L) цепи, соединенные дисульфидными связями. Существует два типа легкой цепи: лямбда (λ) и каппа (κ). Существует пять основных классов тяжелых цепей (или изоформ), которые определяют функциональную активность молекулы антитела: IgM, IgD, IgG, IgA и IgE. Каждая тяжелая и легкая цепь содержит константную область и переменную область (области также известны как «домены»). В комбинации переменные области тяжелой и легкой цепей специфически связывают антиген. Переменные области легкой и тяжелой цепей содержат «каркасную» область, прерванную тремя гиперпеременными областями, также известную как «область, определяющая комплементарность» (CDR). Степень каркасной области и области, определяющей комплементарность, была определена (см. Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, U.S. Department of Health and Human Services, 1991, содержание включено в настоящую заявку посредством ссылки). База данных Kabat теперь ведется онлайн. Последовательности каркасных областей различных легких или тяжелых цепей относительно консервативны в пределах одного вида. Каркасная область антитела, которая представляет собой комбинированные каркасные области составляющих легкой и тяжелой цепей, в значительной степени принимает конформацию β -складок, а области, определяющие комплементарность, образуют петли, которые соединяют и в некоторых случаях образуют часть структуры β -складок. Таким образом, каркасные области действуют, образуя каркас, который обеспечивает правильную ориентацию области, определяющей комплементарность, за счет межцепочечных нековалентных взаимодействий.

[0044] В первую очередь область, определяющая комплементарность, ответственна за связывание с эпитопом антигена. Области, определяющие комплементарность, (CDR) каждой цепи обычно обозначают как CDR1, CDR2 и CDR3, нумеруют последовательно, начиная с N-конца, и также обычно идентифицируют по цепи, в которой расположена конкретная CDR. Таким образом, V_H CDR3 находится в переменной домене тяжелой цепи антитела, в котором она обнаружена, тогда как V_L CDR1 представляет собой CDR1 из

вариабельного домена легкой цепи антитела, в котором она обнаружена. Антитело, которое связывает целевой белок (например, GРА33) или молекулу (например, DOTA или гаптен DOTA), будет иметь специфическую область V_H и последовательность области V_L и, следовательно, специфические последовательности CDR. Антитела с разной специфичностью (т. е. с разными паратопами для разных антигенов) имеют разные CDR. Хотя именно CDR варьируются от антитела к антителу, только ограниченное количество аминокислотных положений в пределах CDR непосредственно участвует в связывании антигена. Эти положения в CDR называются остатками, определяющими специфичность (SDR). Примеры антител включают моноклональные антитела, поликлональные антитела, гуманизированные антитела, химерные антитела, рекомбинантные антитела, мультиспецифические антитела, биспецифические антитела и фрагменты антител. Антитело специфически связано с антигеном.

[0045] «Биспецифическое антитело» представляет собой антитело, которое может быть одновременно связано с двумя разными антигенами. Биспецифические антитела (BsAb) и фрагменты биспецифических антител (BsFab) могут иметь по меньшей мере одно плечо, которое специфически связывается, например, с опухоль-ассоциированным антигеном (например, GРА33), и по меньшей мере другое плечо, которое специфически связывается с целевым конъюгатом, несущим терапевтический или диагностический агент (например, гаптен DOTA, связанный с радионуклидом). В данной области техники известно множество различных структур биспецифических антител. Согласно некоторым вариантам реализации каждый связывающий фрагмент в биспецифическом антителе содержит область V_H и/или V_L из разных моноклональных антител. Согласно некоторым вариантам реализации биспецифическое антитело включает молекулу иммуноглобулина, содержащую области V_H и/или V_L , которые содержат CDR от первого моноклонального антитела, и фрагмент антитела (например, Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fd, Fv, dAB, scFv и т.д.), содержащий области V_H и/или V_L , которые содержат CDR от второго моноклонального антитела.

[0046] Применяемый в настоящей заявке термин «диатела» относится к небольшим фрагментам антител с двумя антигенсвязывающими участками, причем эти фрагменты содержат вариабельный домен тяжелой цепи (V_H), связанный с вариабельным доменом легкой цепи (V_L) в той же самой полипептидной цепи ($V_H V_L$). При использовании линкера, который является слишком коротким для образования пары между двумя доменами в одной цепи, домены вынуждены спариваться с комплементарными доменами другой цепи и формировать два антигенсвязывающих участка. Диатела описаны более подробно,

например, в EP 404097; WO 93/11161; 30 Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 6444-6448 (1993).

[0047] Применяемые в настоящей заявке термины «одноцепочечные антитела» или «одноцепочечный Fv (scFv)» относятся к слитой молекуле антитела двух доменов фрагмента Fv, V_L и V_H. Молекулы одноцепочечных антител могут включать полимер с рядом отдельных молекул, например, димер, тример или другие полимеры. Кроме того, несмотря на то, что два домена фрагмента Fv, V_L и V_H кодируются отдельными генами, они могут быть соединены рекомбинантными способами с помощью синтетического линкера, который позволяет им находиться в виде единой белковой цепи, которая содержит V_L и пару областей V_H с образованием одновалентных молекул (известных как одноцепочечный Fv (scFv)). Bird *et al.* (1988) *Science* 242:423-426 и Huston *et al.* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883. Такие одноцепочечные антитела могут быть получены рекомбинантными способами или ферментативным или химическим расщеплением интактных антител.

[0048] Применяемые в настоящей заявке термины «интактное антитело» или «интактный иммуноглобулин» обозначают антитело или иммуноглобулин, которые содержат по меньшей мере два полипептида тяжелой (H) цепи и два полипептида легкой (L) цепи, соединенные дисульфидными связями. Каждая тяжелая цепь состоит из вариательной области тяжелой цепи (сокращенно HCVR или V_H) и константной области тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи состоит из трех доменов: CH₁, CH₂ и CH₃. Каждая легкая цепь состоит из вариательной области легкой цепи (сокращенно LCVR или V_L) и константной области легкой цепи. Константная область легкой цепи состоит из одного домена CL. Области V_H и V_L могут быть дополнительно подразделены на области гиперварибельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), с вкраплениями более консервативных областей, которые называются каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца до карбоксильного конца в следующем порядке: FR₁, CDR₁, FR₂, CDR₂, FR₃, CDR₃, FR₄. Вариательные области тяжелой и легкой цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента.

[0049] Применяемый в настоящей заявке термин «антиген» относится к молекуле, с которой антитело может избирательно связываться. Антиген-мишень может представлять собой белок (например, антигенный пептид), углевод, нуклеиновую кислоту, липид, гаптен или другое встречающееся в природе или синтетическое соединение. Антиген можно также вводить животному-субъекту для создания иммунного ответа у субъекта.

[0050] Применяемый в настоящей заявке термин «антигенсвязывающий фрагмент» относится к фрагменту полной структуры иммуноглобулина, который содержит часть полипептида, ответственного за связывание с антигеном. Примеры антигенсвязывающего фрагмента, применяемого в настоящем изобретении, включают scFv, (scFv)₂, scFvFc, Fab, Fab' и F(ab')₂, диатела; линейные антитела; молекулы одноцепочечных антител; мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

[0051] Под «аффинностью связывания» понимают силу общих нековалентных взаимодействий между одним участком связывания молекулы (например, антитела) и ее партнером по связыванию (например, антигеном). Аффинность молекулы X к ее партнеру Y обычно можно представить константой диссоциации (K_d). Аффинность можно измерить стандартными способами, известными в данной области, включая описанные в настоящей заявке. Комплекс с низкой аффинностью содержит антитело, которое обычно легко диссоциирует от антигена, тогда как комплекс с высокой аффинностью содержит антитело, которое обычно остается связанным с антигеном в течение более длительного времени.

[0052] В контексте настоящего описания «очищающий агент» представляет собой агент, который связывается с избытком бифункциональных антител, присутствующих в компартменте крови субъекта, для облегчения быстрого выведения через почки. Применение очищающего агента перед введением радиотерапевтического средства на основе DOTA способствует лучшему соотношению поглощения опухолью к фоновому излучению в системах ПРИТ.

[0053] Применяемый в настоящей заявке термин «контрольный образец» представляет собой альтернативный образец, используемый в эксперименте с целью сравнения. Контрольный образец может быть «положительным» или «отрицательным». Например, если целью эксперимента является определение корреляции эффективности терапевтического агента для лечения конкретного типа заболевания или состояния, обычно применяют положительный контрольный образец (соединение или композиция, о которых известно, что они проявляют желаемый терапевтический эффект) и отрицательный

контрольный образец (субъект или образец, которые не получают терапию или получают плацебо).

[0054] Применяемый в настоящей заявке термин «эффективное количество» композиции означает количество, достаточное для достижения желаемого профилактического или терапевтического эффекта, например, количество, которое приводит к уменьшению симптомов, связанных с заболеванием, которое излечивает, например, заболевания или патологические состояния, связанные с целевым полипептидом (например, рак груди, колоректальный рак, рак мозга и т.д.). Количество композиции согласно настоящему изобретению, вводимой субъекту, будет зависеть от степени, типа и серьезности заболевания и от характеристик индивидуума, таких как общее состояние здоровья, возраст, пол, масса тела и толерантность к лекарствам. Квалифицированный специалист сможет определить подходящие дозировки в зависимости от этих и других факторов. Композиции согласно настоящему изобретению также можно вводить в сочетании с одним или несколькими дополнительными терапевтическими соединениями.

[0055] Применяемый в настоящей заявке термин «эпитоп» означает антигенную детерминанту, способную специфически связываться с антителом. Эпитопы обычно состоят из химически активных поверхностных группировок молекул и обычно имеют определенные трехмерные структурные характеристики, а также определенные зарядовые характеристики.

[0056] Применяемый в настоящей заявке термин «образец» относится к клиническим образцам, полученным от субъекта или выделенных микроорганизмов. Согласно некоторым вариантам реализации образец получают из биологического источника (т.е. «биологического образца»), такого как ткань, физиологическая жидкость или микроорганизмы, взятые у субъекта. Источники образцов включают слизь, мокроту, бронхиальный альвеолярный лаваж (BAL), бронхиальный промыв (BW), цельную кровь, физиологические жидкости, спинномозговую жидкость (CSF), мочу, плазму, сыворотку или ткань, но не ограничиваются ими.

[0057] Применяемый в настоящей заявке термин «раздельное» терапевтическое применение относится к введению по меньшей мере двух активных ингредиентов одновременно или по существу в одно и то же время разными путями.

[0058] Применяемый в настоящей заявке термин «последовательное» терапевтическое применение относится к введению по меньшей мере двух активных ингредиентов в разное

время, причем пути введения идентичны или различаются. Более конкретно, последовательное применение относится к полному введению одного из активных ингредиентов до начала введения другого или других. Таким образом, можно вводить один из активных ингредиентов в течение нескольких минут, часов или суток до введения другого активного ингредиента или ингредиентов. В этом случае одновременного лечения не происходит.

[0059] Применяемый в настоящей заявке термин «одновременное» терапевтическое применение относится к введению по меньшей мере двух активных ингредиентов одним и тем же путем и в одно и то же время или по существу в одно и то же время.

[0060] Применяемый в настоящей заявке термин «специфически связывает» относится к молекуле (например, антителу), которая распознает и связывается с другой молекулой (например, антигеном), но по существу не распознает и не связывается с другими молекулами. Термины «специфическое связывание», «специфически связывается с» или «специфично для» конкретной молекулы (например, антигена или эпитопа на антигене), согласно их применению в настоящей заявке, могут относиться, например, к молекуле, имеющей K_d для молекулы, с которой он связывается, примерно 10^{-4} М, 10^{-5} М, 10^{-6} М, 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М или 10^{-12} М.

[0061] В контексте настоящего описания термины «субъект», «индивидуум» или «пациент» применяются взаимозаменяемо и относятся к индивидуальному организму, позвоночному, млекопитающему или человеку. В некоторых вариантах реализации индивидуум, пациент или субъект является человеком.

[0062] Применяемый в настоящей заявке термин «терапевтический агент» предназначен для обозначения соединения, применение которого в эффективном количестве производит желаемый терапевтический эффект на нуждающийся в этом субъект.

[0063] В контексте настоящего описания термины «лечение» или «терапия» охватывают лечение заболевания или расстройства, описанного в настоящей заявке, у субъекта, такого как человек, и включает: (i) ингибирование заболевания или расстройства (остановку его развития); (ii) облегчение заболевания или расстройства (регрессию); (iii) замедление прогрессирования расстройства; и/или (iv) ингибирование, облегчение или замедление прогрессирования одного или нескольких симптомов заболевания или

расстройства. Под «лечением рака» подразумевается, что симптомы, вызванные раком, например, облегчаются, уменьшаются, излечиваются или находятся в состоянии ремиссии.

[0064] Также следует принимать во внимание, что различные способы лечения заболеваний, как описано в настоящей заявке, предназначены для обозначения «существенного», который включает полное, но также меньшее, чем полное лечение, и при этом достигается некоторый биологически или медицински значимый результат. Лечение может представлять собой непрерывное пролонгированное лечение хронического заболевания или однократное либо кратковременное введение препарата для лечения обострения болезни.

Применение очищающих агентов в предварительно направленной радиоиммунотерапии (ПРИТ)

[0065] Терапевтический индекс (ТИ) радиоиммунотерапии (РИТ) должен быть максимальным для эффективного лечения солидных опухолей (Larson SM *et al.*, *Nature Reviews Cancer* 15: 347-60 (2015)). РИТ с радиомечеными антителами IgG характеризуется низким ТИ ввиду медленной фармакокинетики носителя IgG и, следовательно, зачастую неэффективна в переносимых дозах.

[0066] Альтернативой является применение подхода предварительно направленной РИТ (ПРИТ). Во время ПРИТ этап медленной опосредованной антителами направленной доставки терапевтического препарата в область опухоли отделен от введения радиоактивного вещества. ПРИТ является многоступенчатым процессом, который решает проблему медленного выведения из крови антител, направленных в область опухоли, что способствует нежелательной токсичности для здоровых тканей, таких как костный мозг. Во время ПРИТ радионуклид или другой диагностический или терапевтический агент присоединяется к носителю, который имеет более благоприятную фармакокинетику (например, низкомолекулярное соединение с быстрым выведением через почки и низким поглощением здоровыми тканями и удержанием в организме (Orcutt KD *et al.*, *Molecular imaging and biology* 13: 215-21 (2011), такое, как гаптен DOTA), и доза поглощения здоровой тканью минимизирована при направленной доставке терапевтического препарата в область опухоли. Чтобы направить радиофармпрепарат на опухоль, циркулирующий терапевтический агент (например, гаптен DOTA) захватывается локализованным внутри опухоли биспецифическим антителом или иным образом эффективно выводится через почки.

[0067] Очищающие агенты могут эффективно снижать концентрацию циркулирующей биомолекулы за счет образования больших комплексов в кровотоке, которые распознаются ретикулоэндотелиальной системой (RES), или, используя соответствующие гликогаптены, могут быть направлены на рецепторы асиалогликопротеинов печени (ASPGR) (Rossin R *et al.*, *Journal Nuclear Medicine* 54:1989-95 (2013)). Терапевтический индекс DOTA-ПРИТ сильно варьируется в зависимости от дозировки очищающего агента, поскольку циркулирующее биспецифическое антитело сохраняет способность связывать радиомеченый гаптен DOTA. Чтобы максимально точно направить радиомеченый гаптен DOTA на опухоль, обычно используется насыщающая доза биспецифического антитела с целью обеспечить наибольшую концентрацию доменов антител анти-DOTA для связывания впоследствии вводимого радиомеченого гаптена DOTA. На этом этапе существует проблема удаления избытка циркулирующего несвязанного биспецифического антитела перед введением цитотоксического радиомеченного гаптена DOTA с целью максимизировать терапевтический индекс. Несмотря на то, что можно использовать длительные интервалы времени для обеспечения выведения из организма биспецифического антитела, это может повлиять на связывающую способность биспецифического антитела с радиогаптеном в опухоли, поскольку биспецифическое антитело может разлагаться и/или поглощаться в зависимости от молекулярной фармакологии комплекса биспецифическое антитело и антиген.

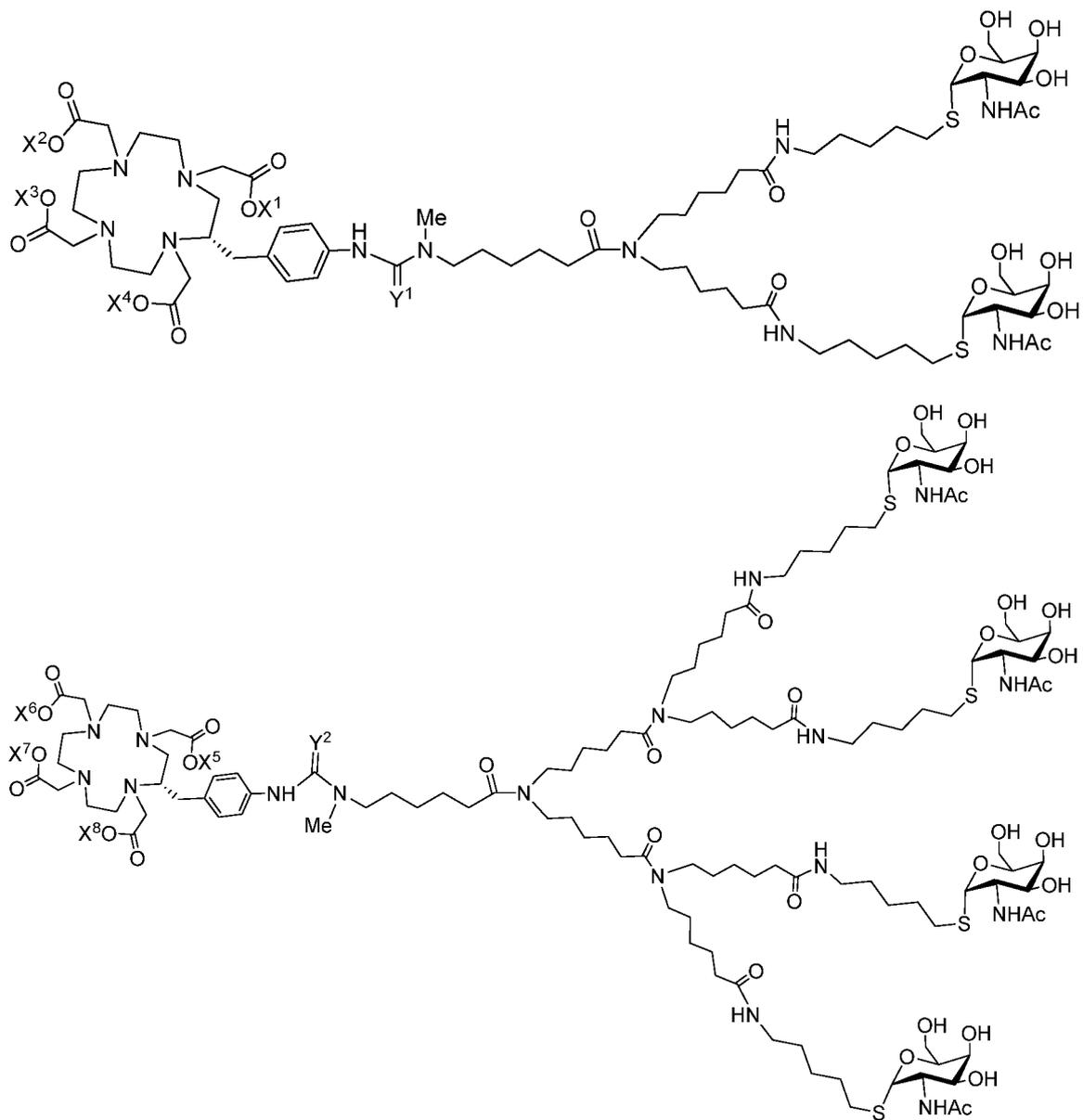
[0068] Конъюгат декстран и гаптен DOTA в количестве 500 кДа (Orcutt KD *et al.*, *Molecular Cancer Therapeutics* 11: 1365-72 (2012)) ранее применялся для DOTA ПРИТ с применением карциноэмбрионального антигена. Очищающий агент на основе декстрана был разработан для связывания с доменами анти-DOTA(M)-scFv циркулирующего биспецифического антитела посредством фрагмента молекулы DOTA(Y), отображаемого на декстрановом каркасе, и выведения несвязанного биспецифического антитела из крови посредством распознавания и катаболизма ретикулоэндотелиальной системой (РЭС). Из-за его большого размера связывание очищающего агента на основе декстрана с опухоль-ассоциированным биспецифическим антителом ограничено из-за слабой внутриопухолевой экстравазации.

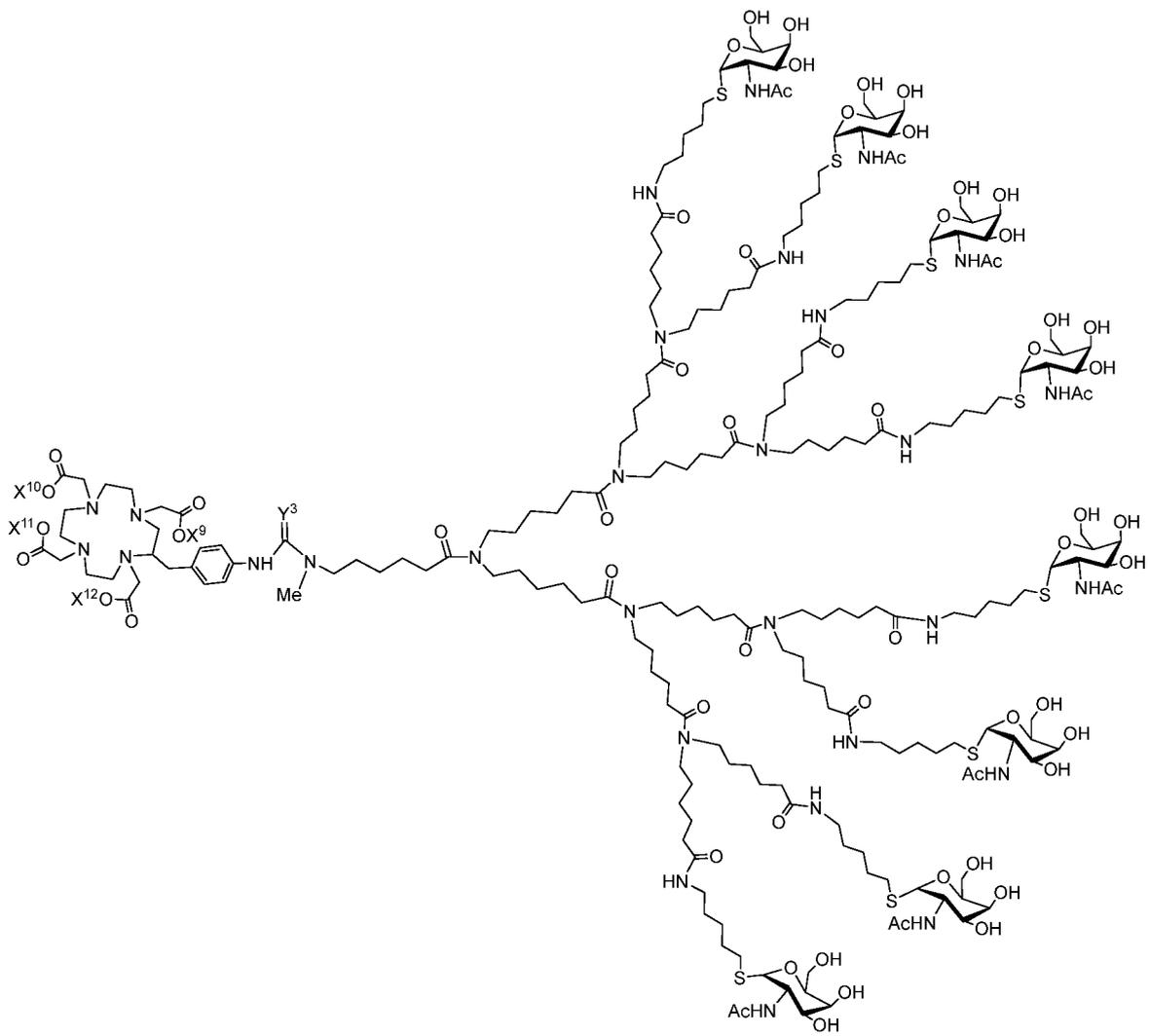
[0069] Несмотря на высокую эффективность, применение очищающего агента на основе декстрана имеет недостатки. Как полимер глюкозы природного происхождения, декстрановый каркас по своей природе полидисперсен, что создает проблемы, связанные с производством от партии к партии и применением *in vivo*. Кроме того, ферментативное разложение ретикулоэндотелиальной системой декстран-1,6-глюкозидазы может привести

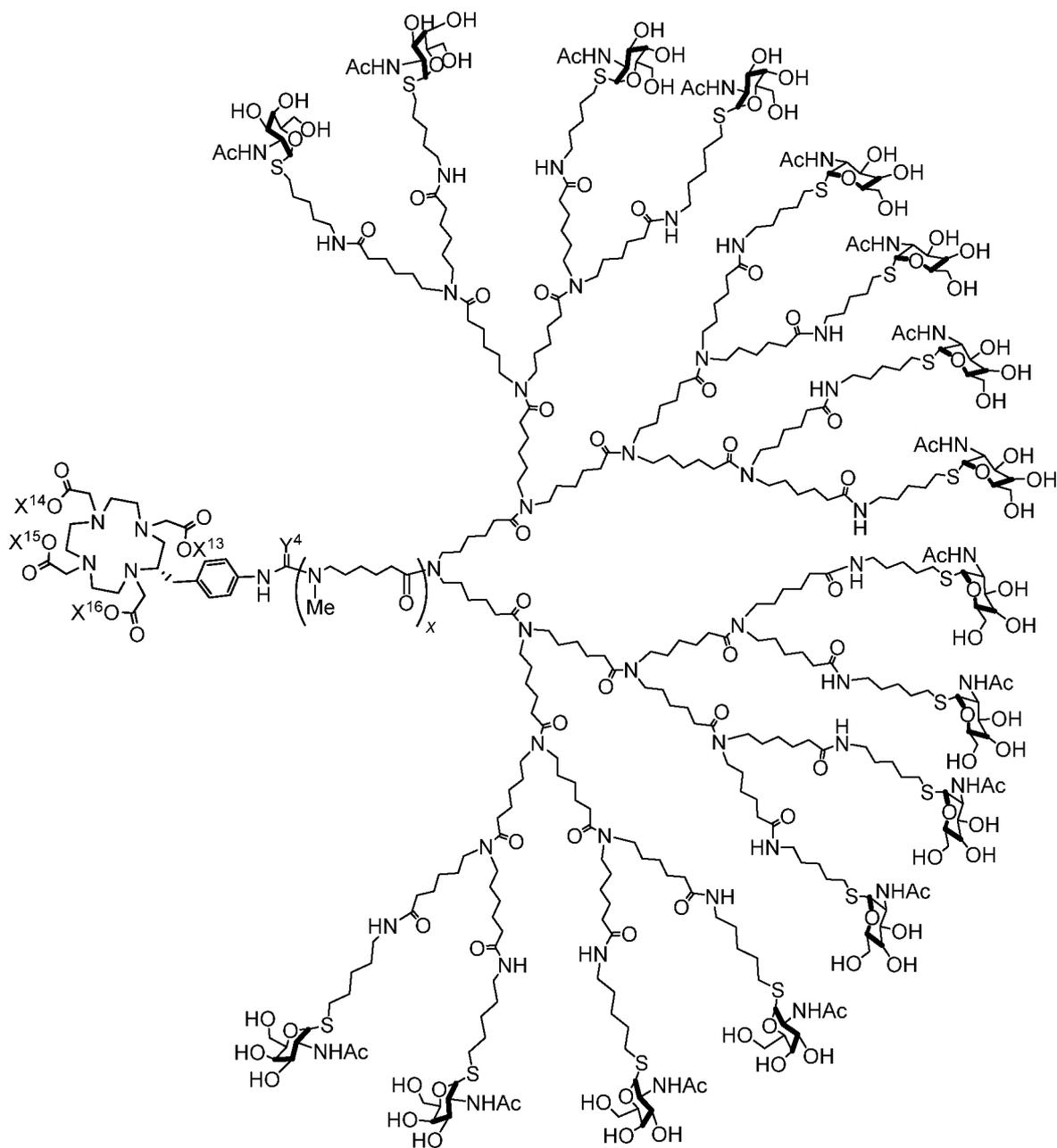
к введению в кровотока его гаптен-фрагментов, которые могут конкурировать с радиогаптенем за связывание с опухолевым биспецифическим антителом. Подобные проблемы наблюдались и при применении очищающего агента на основе альбумина во время клинической стрептавидин-биотиновой ПРИТ (Knox SJ *et al.*, *Clinical Cancer Research* 6: 406-14 (2000); Breitz HB *et al.*, *Journal Nuclear Medicine* 41: 131-40 (2000)).

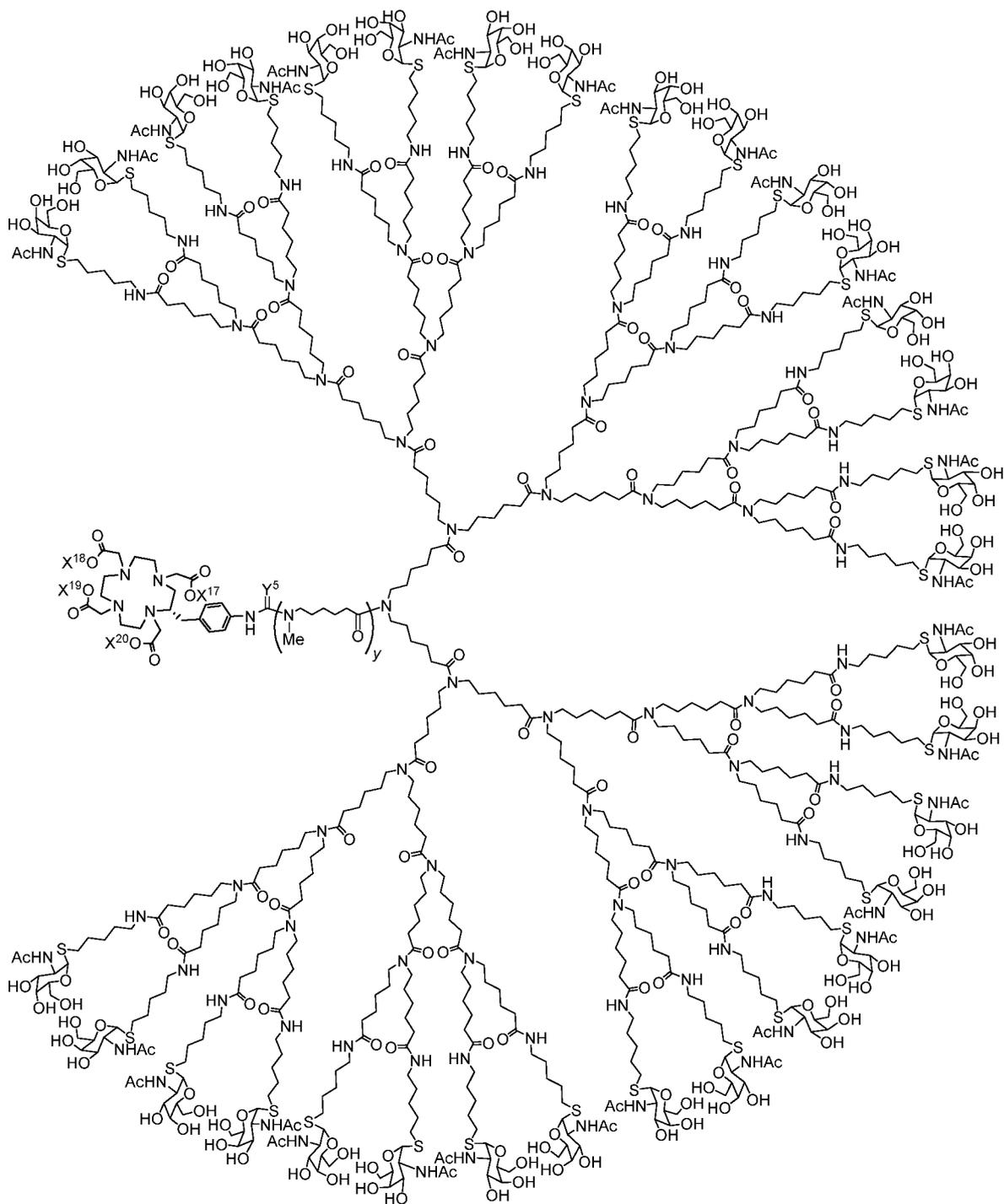
Композиции согласно настоящему изобретению

[0070] Согласно одному аспекту настоящее изобретение обеспечивает соединение вида





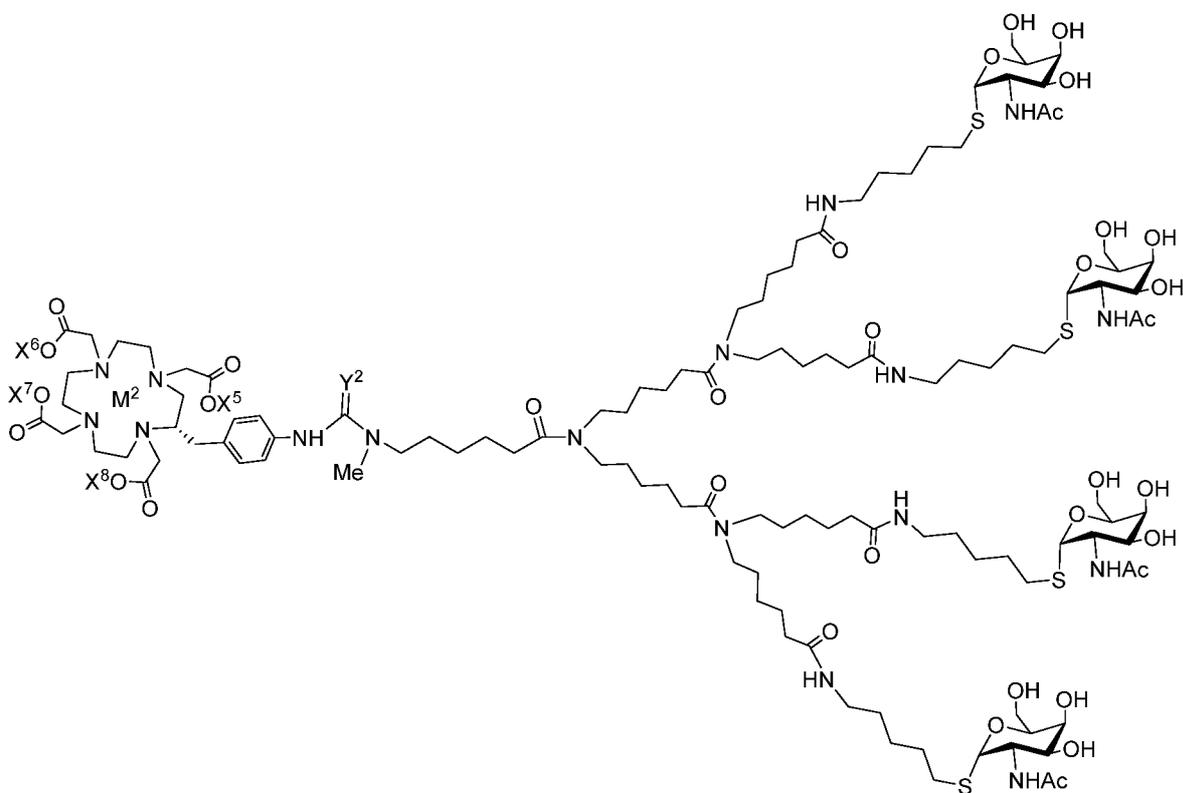
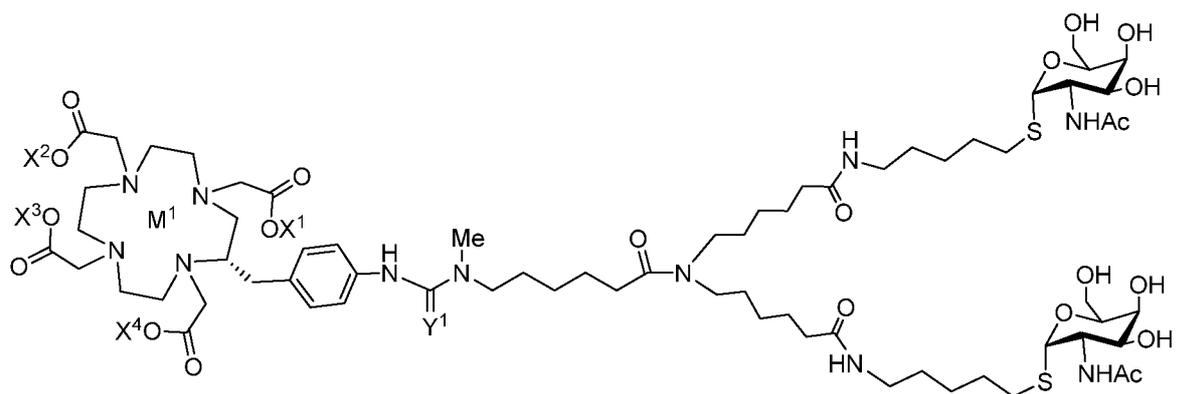


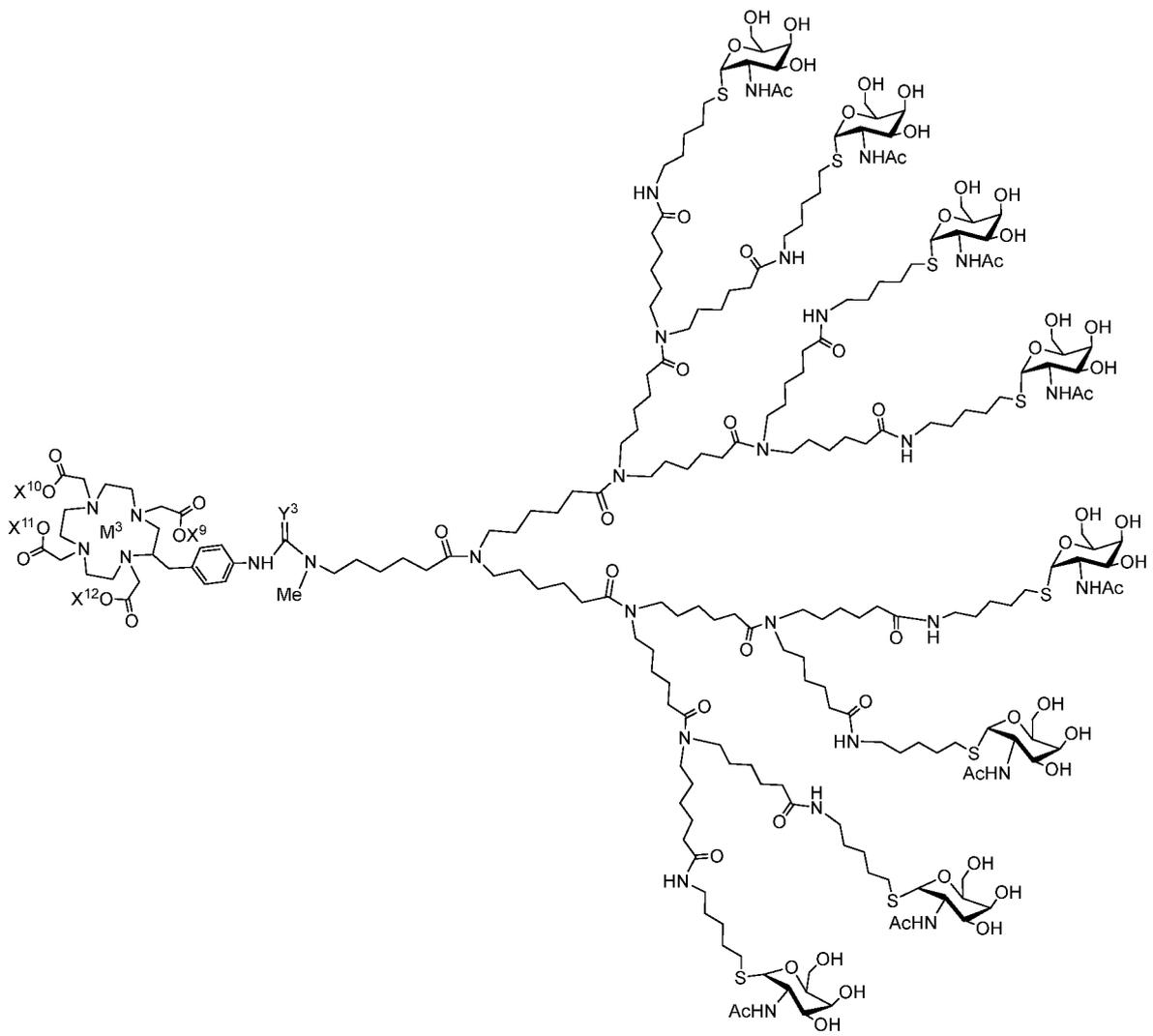


или его фармацевтически приемлемую соль и/или сольват, в котором $X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}, X^{12}, X^{13}, X^{14}, X^{15}, X^{16}, X^{17}, X^{18}, X^{19}, X^{20}$ каждый независимо представляет собой Н или неподеленную пару электронов (т.е. обеспечивает анион кислорода); Y^1, Y^2, Y^3, Y^4, Y^5 каждый независимо представляет собой О или S; x равен 1, 2 или 3; y равен 1, 2, 3 или 4.

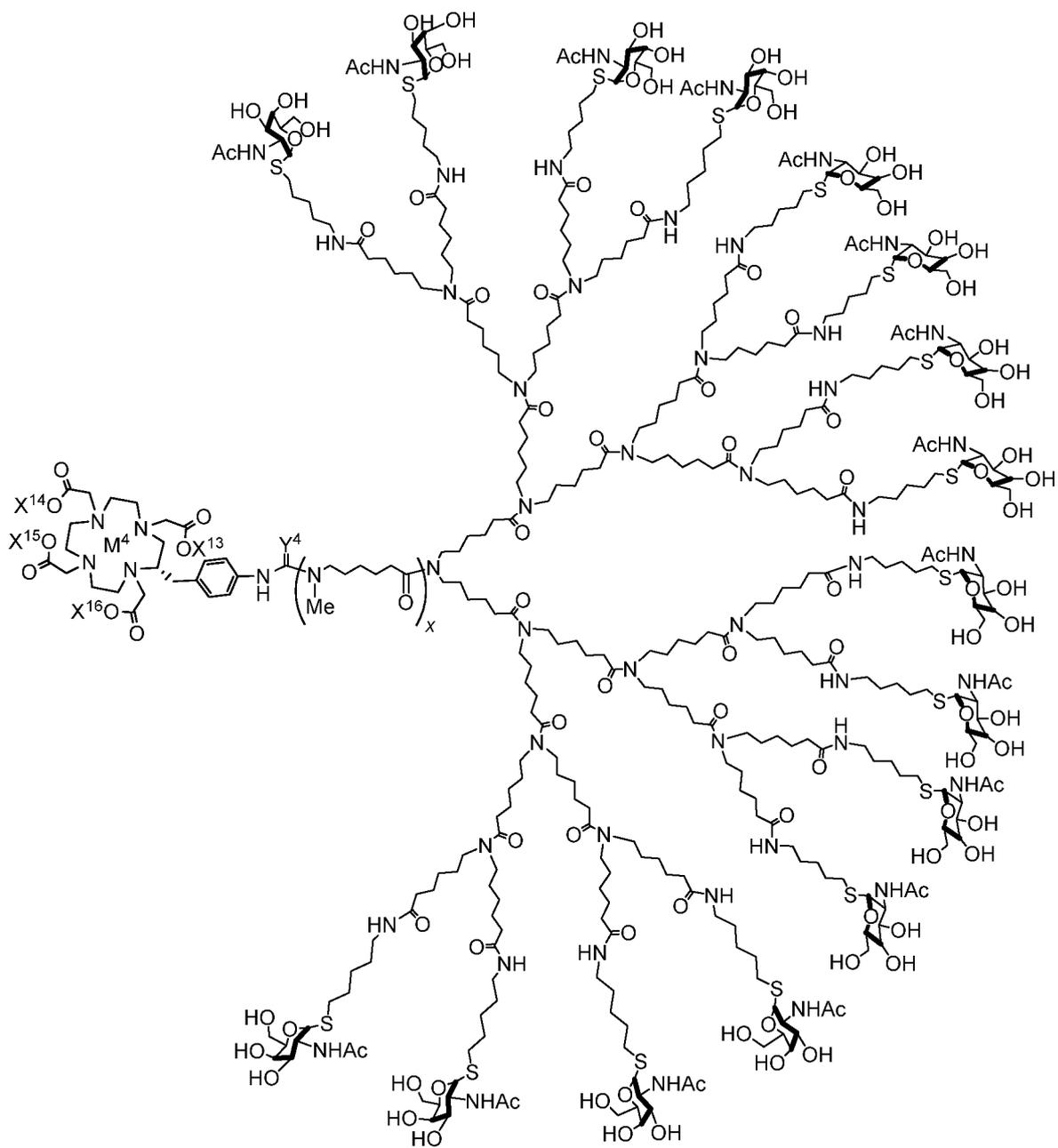
[0071] Согласно любому варианту реализации настоящего изобретения соединение может представлять собой очищающий агент (также называемый в настоящей заявке

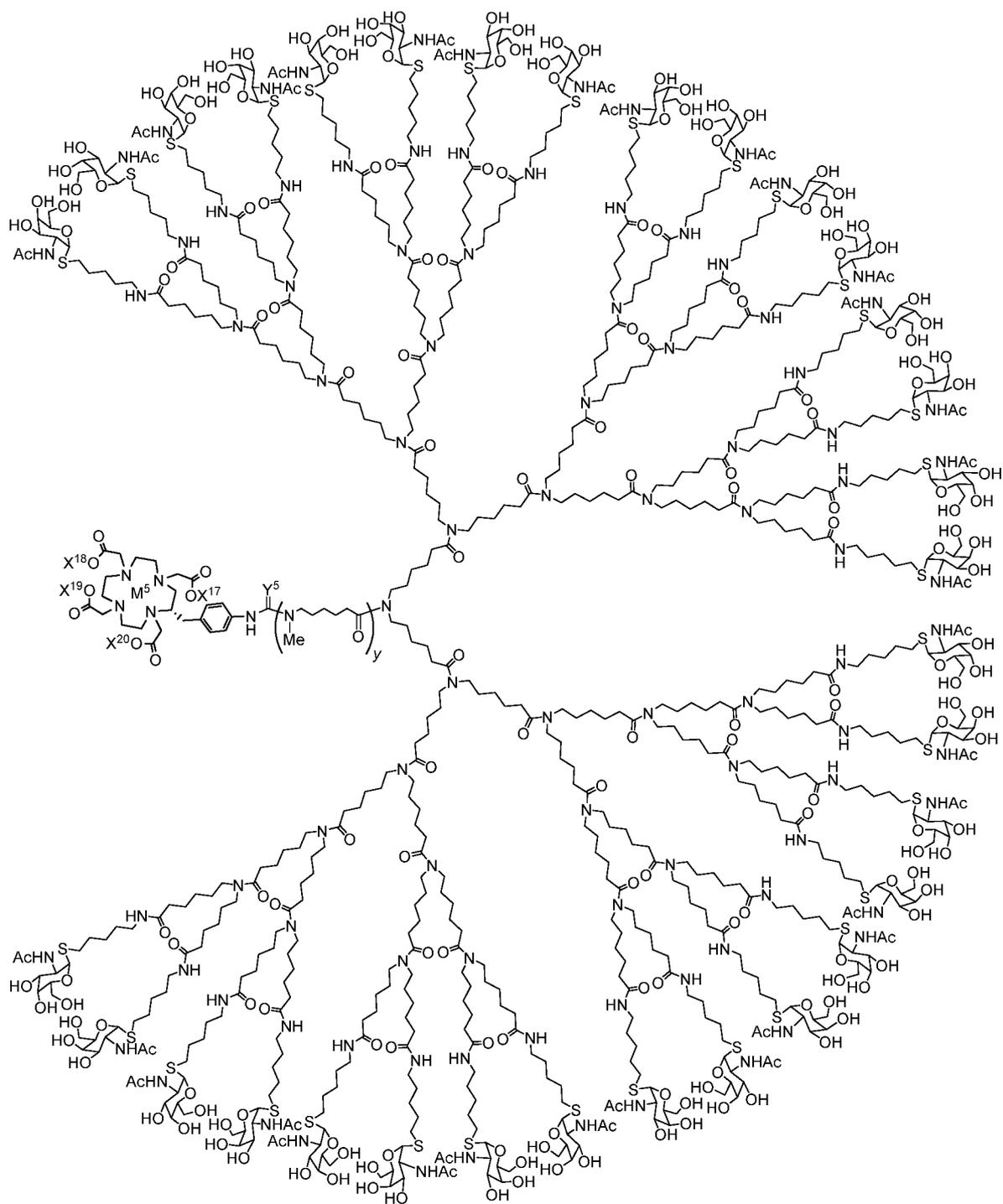
«очищающим агентом на основе дендронов» согласно настоящему изобретению, «ОА на основе дендронов» согласно настоящему изобретению или т.п.) вида





,





или его фармацевтически приемлемую соль и/или сольват, в котором M^1 , M^2 , M^3 , M^4 , M^5 каждый независимо представляет собой Lu^{3+} , Sc^{3+} , Ga^{3+} , Y^{3+} , In^{3+} , La^{3+} , Ce^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} , или Gd^{3+} ; X^1 , X^2 , X^3 , X^4 , X^5 , X^6 , X^7 , X^8 , X^9 , X^{10} , X^{11} , X^{12} , X^{13} , X^{14} , X^{15} , X^{16} , X^{17} , X^{18} , X^{19} , X^{20} каждый независимо представляет собой H или неподеленную пару электронов. (т.е. обеспечивает анион кислорода); Y^1 , Y^2 , Y^3 , Y^4 , Y^5 каждый независимо представляет собой O или S; x равен 1, 2 или 3; y равен 1, 2, 3 или 4.

[0072] Согласно любому варианту реализации настоящего изобретения может оказаться, что M^1 , M^2 , M^3 , M^4 , M^5 каждый независимо не является радионуклидом. Согласно любому

варианту реализации настоящего изобретения может оказаться, что Y^1 , Y^2 , Y^3 , Y^4 , Y^5 каждый независимо представляют собой S. Согласно любому варианту реализации настоящего изобретения может оказаться, что x равен 1 или 2. Согласно любому варианту реализации настоящего изобретения может оказаться, что y равен 2 или 3.

[0073] В родственном аспекте предложена композиция, которая включает один или несколько соединений из любого варианта реализации соединения, как описано выше, и фармацевтически приемлемый носитель (в совокупности такие носители, эксципиенты, наполнители и т. д. будут называться «фармацевтически приемлемые носители», если не применяется более конкретный термин). Композиции можно использовать в способах и представлениях, описанных в настоящей заявке. Настоящее изобретение также обеспечивает фармацевтические композиции и лекарственные средства, которые включают одно или несколько соединений из любого варианта реализации соединения, как описано выше, и фармацевтически приемлемый носитель. Такие фармацевтические композиции могут быть укомплектованы в единичную лекарственную форму. Фармацевтические композиции и лекарственные средства могут быть получены путем смешивания одного или нескольких соединений согласно настоящему изобретению, их фармацевтически приемлемых солей и/или их сольватов с фармацевтически приемлемыми носителями, эксципиентами, связующими веществами, разбавителями и т.п. Например, такие композиции могут быть представлены в форме гранул, порошков, таблеток, капсул, сиропа, суппозиторий, инъекций, эмульсий, эликсиров, суспензий или растворов. Настоящие композиции могут быть составлены для различных путей введения, например, перорального, парентерального или ректального введения. Парентеральное или системное введение включает подкожные, внутривенные, внутрибрюшинные и внутримышечные инъекции, но не ограничивается ими. Следующие лекарственные формы приведены в качестве примера и не должны рассматриваться как ограничивающие настоящее изобретение.

[0074] Для перорального, трансбуккального и сублингвального введения порошки, суспензии, гранулы, таблетки, пилюли, капсулы, желатиновые капсулы и капли приемлемы в качестве твердых лекарственных форм. Они могут быть получены, например, путем смешивания одного или нескольких соединений согласно настоящему изобретению или их фармацевтически приемлемых солей или таутомеров по меньшей мере с одной добавкой, такой как крахмал или другая добавка. Приемлемыми добавками являются сахароза, лактоза, сахар целлюлозы, маннит, мальтит, декстран, крахмал, агар, альгинаты, хитины, хитозаны, пектины, трагакантовая камедь, аравийская камедь, желатины,

коллагены, казеин, альбумин, синтетические или полусинтетические полимеры или глицериды. Необязательно, пероральные лекарственные формы могут содержать другие ингредиенты, способствующие введению, такие как неактивный разбавитель, или смазывающие вещества, такие как стеарат магния, или консерванты, такие как парабен или сорбиновая кислота, или антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, токоферол или цистеин, разрыхлитель, связующие агенты, загустители, буферы, подсластители, вкусовые добавки или ароматизирующие добавки. Таблетки и пилюли могут быть дополнительно обработаны подходящими покрывающими материалами, известными в данной области техники.

[0075] Жидкие лекарственные формы для перорального введения могут быть представлены в форме фармацевтически приемлемых эмульсий, сиропов, эликсиров, суспензий и растворов, которые могут содержать неактивный разбавитель, такой как вода. Фармацевтические составы и лекарственные средства могут быть приготовлены в форме жидких суспензий или растворов с использованием стерильной жидкости, такой как масло, вода, спирт и их комбинации, но не ограничиваться ими. Фармацевтически приемлемые поверхностно-активные вещества, суспендирующие агенты, эмульгирующие агенты могут быть добавлены для перорального или парентерального введения.

[0076] Как отмечалось выше, суспензии могут включать масла. Такие масла включают арахисовое масло, кунжутное масло, хлопковое масло, кукурузное масло и оливковое масло, но не ограничиваются ими. Препарат в виде суспензии может также содержать сложные эфиры жирных кислот, такие как этилолеат, изопропилмиристат, глицериды жирных кислот и глицериды ацетилированных жирных кислот. Составы суспензий могут включать спирты, такие как этанол, изопропиловый спирт, гексадециловый спирт, глицерин и пропиленгликоль, но не ограничиваться ими. Простые эфиры могут быть представлены полиэтиленгликолем, нефтяными углеводородами, такими как минеральное масло и вазелин, но не ограничиваться ими; вода также может использоваться в составах суспензий.

[0077] Инъекционные лекарственные формы обычно включают водные суспензии или масляные суспензии, которые могут быть приготовлены с применением подходящего диспергатора или смачивающего агента и суспендирующего агента. Инъекционные формы могут находиться в фазе раствора или в форме суспензии, которую готовят с применением растворителя или разбавителя. Приемлемые растворители или несущие среды включают стерилизованную воду, раствор Рингера или изотонический водный физиологический

раствор. Изотонический раствор следует понимать как изотонический по отношению к объекту. В другом варианте могут быть применены стерильные масла в качестве растворителей или суспендирующих агентов. Обычно масло или жирная кислота являются нелетучими, включая натуральные или синтетические масла, жирные кислоты, моно-, ди- или триглицериды.

[0078] Для инъекции фармацевтический состав и/или лекарственное средство могут представлять собой порошок, пригодный для восстановления приемлемым раствором, как описано выше. Их примеры включают лиофилизированные порошки, порошки, полученные роторной сушкой или порошки, полученные распылительной сушкой, аморфные порошки, гранулы, преципитаты или частицы, но не ограничиваются ими. Для инъекции составы могут необязательно содержать стабилизаторы, модификаторы pH, поверхностно-активные вещества, модификаторы биодоступности и их комбинации.

[0079] Помимо данных типичных лекарственных форм, описанных выше, фармацевтически приемлемые эксципиенты и носители обычно известны специалистам в данной области техники и, таким образом, включены в настоящее изобретение. Такие эксципиенты и носители описаны, например, в “Remingtons Pharmaceutical Sciences” Mack Pub. Co., New Jersey (1991); содержание включено в настоящую заявку посредством ссылки.

[0080] Составы согласно настоящему изобретению могут быть выполнены с возможностью короткого действия, быстрого высвобождения, длительного действия и медленного высвобождения, как описано ниже. Таким образом, фармацевтические составы также могут быть выполнены с возможностью контролируемого высвобождения или медленного высвобождения.

[0081] Настоящие композиции могут также содержать, например, мицеллы или липосомы или некоторую другую инкапсулированную форму, или могут вводиться в форме с медленным высвобождением с возможностью длительного хранения и/или доставки. Следовательно, фармацевтические составы и лекарственные средства могут быть спрессованы в шарики или цилиндры и имплантированы внутримышечно или подкожно в виде инъекций веществ замедленного всасывания или в виде имплантатов, таких как стенты. В таких имплантатах могут использоваться известные инертные материалы, такие как силиконы и биоразлагаемые полимеры.

[0082] Конкретные дозировки могут быть скорректированы в зависимости от состояния заболевания, возраста, массы тела, общего состояния здоровья, пола и диеты субъекта,

интервалов доз, путей введения, скорости выведения и комбинаций лекарственных средств. Любая из указанных выше дозированных форм, содержащих эффективные количества, находится в пределах периодических экспериментов и, следовательно, в пределах объема настоящего изобретения.

Терапевтические методики согласно настоящему изобретению

[0083] Согласно одному аспекту настоящее изобретение обеспечивает способ повышения чувствительности опухоли к лучевой терапии у субъекта с диагнозом рака, включающий (а) введение субъекту в эффективном количестве биспецифического антитела анти-DOТА, причем биспецифическое антитело анти-DOТА выполнено с возможностью локализации в опухоли, экспрессирующей мишень опухолевого антигена; (б) введение субъекту в эффективном количестве очищающего агента согласно настоящему изобретению; (в) введение субъекту в эффективном количестве радиомеченого гаптена DOТА, причем гаптен DOТА выполнен с возможностью образования комплекса с биспецифическим антителом анти-DOТА.

[0084] Согласно другому аспекту настоящее изобретение обеспечивает способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий (а) введение субъекту в эффективном количестве биспецифического антитела анти-DOТА, причем биспецифическое антитело анти-DOТА выполнено с возможностью локализации в опухоли, экспрессирующей мишень опухолевого антигена; (б) введение субъекту в эффективном количестве очищающего агента согласно настоящему изобретению; (в) введение субъекту в эффективном количестве радиомеченого гаптена DOТА, причем гаптен DOТА выполнен с возможностью образования комплекса с биспецифическим антителом анти-DOТА. Способы лечения рака могут дополнительно включать последовательное, раздельное или одновременное введение субъекту по меньшей мере одного химиотерапевтического агента, выбранного из группы, состоящей из азотистых ипритов, производных этиленимина, алкилсульфонатов, нитрозомочевин, гемцитабина, триазенов, аналогов фолиевой кислоты, антрациклинов, таксанов, ингибиторов ЦОГ-2, аналогов пиримидина, аналогов пурина, антибиотиков, ингибиторов ферментов, эпиподофиллотоксинов, координационных комплексов платины, алкалоидов барвинка, замещенных мочевины, производных метилгидразина, адренкортикальных супрессоров, антагонистов гормонов, эндостатина, таксолов, камптотецинов, SN-38, доксорубицина, аналогов доксорубицина, антиметаболитов, алкилирующих агентов, антимиототиков, антиангиогенных агентов, ингибиторов тирозинкиназы, ингибиторов mTOR, ингибиторов белка теплового шока (HSP90),

ингибиторов протеасом, ингибиторов HDAC, проапоптотических агентов, метотрексата, СРТ-11.

[0085] Дополнительно или в другом варианте согласно некоторым вариантам реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, уровни радиоактивности, испускаемые комплексом радиомеченого гаптена DOTA и биспецифического антитела анти-DOTA, выявляются между 4 и 24 часами после введения радиомеченого гаптена DOTA. Уровни радиоактивности, испускаемые комплексом, могут быть выражены в виде процента введенной дозы на грамм ткани (% ВД/г). Эталонное значение может быть рассчитано путем измерения уровней радиоактивности, присутствующих в неопухолевых (здоровых) тканях, и вычисления средних уровней радиоактивности, присутствующих в неопухолевых (здоровых) тканях \pm стандартное отклонение. Согласно некоторым вариантам реализации эталонное значение представляет собой стандартное значение поглощения (СЗП). См. Thie JA, J. Nucl Med. 45 (9): 1431-4 (2004). Терапевтическая эффективность такого комплекса может быть определена путем вычисления отношения площади под фармакокинетической кривой опухоли к площади под фармакокинетической кривой здоровой ткани. Согласно некоторым вариантам реализации комплекс характеризуется отношением площади под фармакокинетической кривой опухоли к площади под фармакокинетической кривой здоровой ткани примерно 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 15:1, 20:1, 25:1, 30:1, 35:1, 40:1, 45:1, 50:1, 55:1, 60:1, 65:1, 70:1, 75:1, 80:1, 85:1, 90:1, 95:1 или 100:1. Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации способов, раскрытых в настоящем изобретении, отношение уровней радиоактивности опухоли к уровням радиоактивности здоровой ткани составляет примерно 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 15:1, 20:1, 25:1, 30:1, 35:1, 40:1, 45:1, 50:1, 55:1, 60:1, 65:1, 70:1, 75:1, 80:1, 85:1, 90:1, 95:1 или 100:1.

[0086] Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, опухолевый антиген-мишень выбирается из группы, состоящей из GPA33, HER2/neu, GD2, MAGE-1, MAGE-3, BAGE, GAGE-1, GAGE-2, MUM-1, CDK4, N-ацетилглюкозаминилтрансферазы, p15, gp75, бета-катенина, ErbB2, ракового антигена 125 (CA-125), карциноэмбрионального антигена (CEA), RAGE, MART (антигена меланомы), MUC-1, MUC-2, MUC-3, MUC-4, MUC-5ac, MUC-16, MUC-17, тирозиназы, Pmel 17 (gp100), последовательности интрона GnT-V подтипа V (последовательности V интрона N-ацетилглюкозаминилтрансферазы подтипа V), рака простаты psm, PRAME (антигена меланомы), β -катенина, EBNA (ядерного антигена вируса Эпштейна--Барра) 1-6, p53, белка устойчивости рака легких к противоопухолевым

препаратам (LRP) Bcl-2, простатоспецифического антигена (PSA), Ki-67, CEACAM6, специфического антигена-р толстой кишки (CSAp), HLA-DR, CD40, CD74, CD138, EGFR, EGP-1, EGP-2, VEGF, PlGF, инсулиноподобного фактора роста (ILGF), тенасцина, тромбоцитарного фактора роста, IL-6, CD20, CD19, PSMA, CD33, CD123, MET, DLL4, Ang-2, HER3, IGF-1R, CD30, TAG-72, SPEAP, CD45, L1-CAM, антигена Льюиса Y (Le^y), E-кадгерина, V-кадгерина, EpCAM.

[0087] Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, биспецифическое антитело анти-DOТА, очищающий агент и/или радиомеченый гаптен DOТА вводят внутривенно, внутримышечно, внутриартериально, интратекально, интракапсулярно, внутриглазнично, внутрикожно, внутрибрюшинно, транстрахеально, подкожно, интрацеребровентрикулярно, перорально или интраназально.

[0088] Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, рак выбран из группы, состоящей из рака груди, колоректального рака, рака шейки матки, рака яичников, рака печени, рака мочевого пузыря, гепатомы, гепатоцеллюлярной карциномы, рака мозга, рака легких, рака желудочно-кишечного тракта или рака желудка, рака поджелудочной железы, рака щитовидной железы, рака почек, рака простаты, меланомы, саркомы, карциномы, опухоли Вильмса, рака эндометрия, глиобластомы, плоскоклеточного рака, астроцитомы, карциномы слюнной железы, рака вульвы, карциномы полового члена, рака головы и шеи. Рак головного мозга может представлять собой аденому гипофиза, менингиому, нейробластому или краниофарингиому.

[0089] Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, радиомеченый гаптен DOТА включает одно или несколько из соединений, таких как Proteus-DOТА, S-2- (R-аминобензил) -1,4,7,10-тетраазациклододекантетрауксусная кислота (DOТА-Bn), DOТА-Bn-биотин, BAD (((S)-2-(4-(2-бром)-ацетамидо)-бензил)-DOТА), NBD ((S)-2-(4-нитробензил)-DOТА), DOТА-RGD, DOТА-PEG-E(c(RGDyK))₂, DOТА-8-AOC-BBN, p-NO₂-Bn-DOТА, DOТА-PESIN, DOТА-биотин-саркозин (DOТА-биотин), моно 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусной кислоты (сложный эфир N-гидроксисукцинимиды) (DOТА-NHS) или DOTATyrLysDOТА. Альтернативно, любой радиомеченый гаптен DOТА, известный в данной области техники, может быть применен в способах, раскрытых в настоящей заявке. Радиомеченый гаптен DOТА может быть

помечен радионуклидом, выбранным из группы, состоящей из ^{213}Bi , ^{211}At , ^{225}Ac , ^{152}Dy , ^{212}Bi , ^{223}Ra , ^{219}Rn , ^{215}Po , ^{211}Bi , ^{221}Fr , ^{217}At , ^{255}Fm , ^{86}Y , ^{90}Y , ^{89}Sr , ^{165}Dy , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{177}Lu , ^{67}Cu , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{51}Cr , ^{58}Co , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, $^{103\text{m}}\text{Rh}$, $^{195\text{m}}\text{Pt}$, ^{119}Sb , ^{161}Ho , $^{189\text{m}}\text{Os}$, ^{192}Ir , ^{201}Tl , ^{203}Pb , ^{68}Ga , ^{227}Th , ^{64}Cu .

[0090] В любом из описанных выше вариантов реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, субъектом является человек. Биспецифическое антитело анти-DOTA вводят в условиях и в течение периода времени (например, в соответствии с режимом дозирования), достаточных для насыщения опухолевых клеток, и любое несвязанное биспецифическое антитело анти-DOTA выводится из кровотока после введения биспецифического антитела анти-DOTA. Согласно некоторым вариантам реализации радиомеченый гаптен DOTA вводят по истечении периода времени, который может быть достаточным для выведения несвязавшегося биспецифического антитела анти-DOTA.

[0091] Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, очищающий агент и радиомеченый гаптен DOTA вводят без дальнейшего введения биспецифического антитела анти-DOTA. Например, согласно некоторым вариантам реализации биспецифическое антитело анти-DOTA вводят в соответствии с режимом, который включает по меньшей мере один цикл: (i) введение биспецифического антитела анти-DOTA (насыщение соответствующих опухолевых клеток необязательно); (ii) введение очищающего агента согласно настоящему изобретению и радиомеченого гаптена DOTA; (iii) необязательное дополнительное введение радиомеченого гаптена DOTA и/или очищающего агента без дополнительного введения биспецифического антитела анти-DOTA. Согласно некоторым вариантам реализации способ может включать несколько таких циклов (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более циклов).

[0092] Радиомеченый гаптен DOTA может быть введен в любое время от 1 минуты до 4 или более суток после введения биспецифического антитела анти-DOTA. Например, согласно некоторым вариантам реализации радиомеченый гаптен DOTA вводят через 1 минуту, 2 минуты, 3 минуты, 4 минуты, 5 минут, 10 минут, 15 минут, 20 минут, 25 минут, 30 минут, 35 минут, 40 минут, 45 минут, 50 минут, 55 минут, 1 час, 1,25 часа, 1,5 часа, 1,75 часа, 2 часа, 2,5 часа, 3 часа, 3,5 часа, 4 часа, 4,5 часа, 5 часов, 5,5 часов, 6 часов, 6,5 часов, 7 часов, 7,5 часов, 8 часов, 8,5 часов, 9 часов, 9,5 часов, 10 часов, 11 часов, 12 часов, 13 часов, 14 часов, 15 часов, 16 часов, 17 часов, 18 часов, 19 часов, 20 часов, 21 час, 22 часа, 23 часа, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов или любой их диапазон после введения биспецифического антитела анти-DOTA. Альтернативно, радиомеченый гаптен DOTA

может быть введен в любое время через 4 или более суток после введения биспецифического антитела анти-ДОТА.

[0093] Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации способов, раскрытых в настоящей заявке, радиомеченый гаптен ДОТА может быть введен в любое время от 1 минуты до 4 или более суток после введения очищающего агента. Например, согласно некоторым вариантам реализации радиомеченый гаптен ДОТА вводят через 1 минуту, 2 минуты, 3 минуты, 4 минуты, 5 минут, 10 минут, 15 минут, 20 минут, 25 минут, 30 минут, 35 минут, 40 минут, 45 минут, 50 минут, 55 минут, 1 час, 1,25 часа, 1,5 часа, 1,75 часа, 2 часа, 2,5 часа, 3 часа, 3,5 часа, 4 часа, 4,5 часа, 5 часов, 5,5 часов, 6 часов, 6,5 часов, 7 часов, 7,5 часов, 8 часов, 8,5 часов, 9 часов, 9,5 часов, 10 часов, 11 часов, 12 часов, 13 часов, 14 часов, 15 часов, 16 часов, 17 часов, 18 часов, 19 часов, 20 часов, 21 час, 22 часа, 23 часа, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов или любой их диапазон после введения очищающего агента. Альтернативно, радиомеченый гаптен ДОТА может быть введен в любое время через 4 или более суток после введения очищающего агента.

Наборы

[0094] Настоящее изобретение обеспечивает наборы, содержащие компоненты, пригодные для лечения рака у пациента. Согласно одному аспекту наборы содержат очищающий агент согласно настоящему изобретению и инструкции по применению. Наборы могут дополнительно содержать по меньшей мере одно биспецифическое антитело анти-ДОТА. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере одно биспецифическое антитело анти-ДОТА связывается с опухолевым антигеном-мишенью, выбранным из группы, состоящей из GPA33, HER2/neu, GD2, MAGE-1, MAGE-3, BAGE, GAGE-1, GAGE-2, MUM-1, CDK4, N-ацетилглюкозаминилтрансферазы, p15, gp75, бета-катенина, ErbB2, ракового антигена 125 (CA-125), карциноэмбрионального антигена (CEA), RAGE, MART (антигена меланомы), MUC-1, MUC-2, MUC-3, MUC-4, MUC-5ac, MUC-16, MUC-17, тирозиназы, Pmel 17 (gp100), последовательности интрона GnT-V подтипа V (последовательности V интрона N-ацетилглюкозаминилтрансферазы подтипа V), рака простаты psm, PRAME (антигена меланомы), β -катенина, EBNA (ядерного антигена вируса Эпштейна-Барра) 1-6, p53, белка устойчивости рака легких к противоопухолевым препаратам (LRP) Bcl-2, простатоспецифического антигена (PSA), Ki-67, CEACAM6, специфического антигена-р толстой кишки (CSAp), HLA-DR, CD40, CD74, CD138, EGFR, EGP-1, EGP-2, VEGF, PlGF, инсулиноподобного фактора роста (ILGF), тенасцина, тромбоцитарного фактора роста, IL-6, CD20, CD19, PSMA, CD33, CD123, MET, DLL4, Ang-

2, HER3, IGF-1R, CD30, TAG-72, SPEAP, CD45, L1-CAM, антигена Льюиса Y (Le^y), E-кадгерина, V-кадгерина, EpCAM. По меньшей мере одно биспецифическое антитело анти-DOТА может быть представлено в виде предварительно наполненного шприца или автоинъекционной ручки, содержащей стерильный жидкий состав или лиофилизированный препарат антитела (например, Kivitz *et al.*, *Clin. Ther.* 28:1619-29 (2006)).

[0095] Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации, наборы дополнительно содержат гаптен DOТА, который необязательно может быть помечен одним или несколькими радионуклидами. Примеры гаптенов DOТА включают соединения, такие как Proteus-DOТА, S-2- (R-аминобензил) -1,4,7,10-тетраазациклододекантетрауксусная кислота (DOТА-Bn), DOТА-Bn-биотин, BAD (((S)-2-(4-(2-бром)-ацетамидо)-бензил)-DOТА), NBD ((S)-2-(4-нитробензил)-DOТА), DOТА-RGD, DOТА-PEG-E(c(RGDyK))₂, DOТА-8-AOC-BBN, p-NO₂-Bn-DOТА, DOТА-PESIN, DOТА-биотин-саркозин (DOТА-биотин), моно 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусной кислоты (сложный эфир N-гидроксисукцинимид) (DOТА-NHS) или DOТАTyrLysDOТА и т.п., но не ограничиваются ими. Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации наборов согласно настоящему изобретению один или несколько радионуклидов выбраны из группы, состоящей из ²¹³Bi, ²¹¹At, ²²⁵Ac, ¹⁵²Dy, ²¹²Bi, ²²³Ra, ²¹⁹Rn, ²¹⁵Po, ²¹¹Pb, ²²¹Fr, ²¹⁷At, ²⁵⁵Fm. Дополнительно или в другом варианте, согласно некоторым вариантам реализации один или несколько радионуклидов выбраны из группы, состоящей из ⁸⁶Y, ⁹⁰Y, ⁸⁹Sr, ¹⁶⁵Dy, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁷⁷Lu, ⁶⁷Cu, ¹¹¹In, ⁶⁷Ga, ⁵¹Cr, ⁵⁸Co, ^{99m}Tc, ^{103m}Rh, ^{195m}Pt, ¹¹⁹Sb, ¹⁶¹Ho, ^{189m}Os, ¹⁹²Ir, ²⁰¹Tl, ²⁰³Pb, ⁶⁸Ga, ²²⁷Th, ⁶⁴Cu.

[0096] Если компоненты набора не составлены для перорального введения, может быть включено устройство, способное доставлять компоненты набора каким-либо другим путем. Примеры таких устройств включают шприцы (для парентерального введения) или ингаляционные устройства.

[0097] Компоненты набора могут быть упакованы совместно или разделены на два или более контейнеров. Согласно некоторым вариантам реализации контейнеры могут представлять собой флаконы, содержащие стерильные лиофилизированные составы очищающего агента, раскрытого в настоящей заявке, гаптена DOТА и/или композиции анти-DOТА и биспецифическое антитело, которые являются пригодными для восстановления. Набор также может содержать один или несколько буферов, которые являются пригодными для восстановления и/или разбавления других реагентов. Другие

контейнеры, которые могут быть применены, включают саше, кювету, коробку, пробирку и т.п., но не ограничиваются ими. Компоненты набора могут быть упакованы и сохранены в стерильных контейнерах.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Иллюстративный пример синтеза соединений согласно настоящему изобретению

[0098] Основные положения. Изотиоцианат DOTA-Bn (p-SCN-Bn-DOTA) был приобретен у компании Macrocylics, Inc. (г. Пано, штат Техас, США); амин-PEG4-DOTA был приобретен у компании CheMatech (г. Дижон, Франция). Соляная кислота марки Optima™ была приобретена у компании Thermo Fisher Scientific (г. Уолтем, штат Массачусетс, США). Смола Chelex-100, 200-400 меш была приобретена у компании Bio-Rad Laboratories (г. Геркулес, штат Калифорния, США). Эксклюзионные колонны для гелевой фильтрации PD-10 (содержащие по 8,3 мл смолы марки Sephadex™ G-25 на колонну) были приобретены у компании GE Healthcare Life Sciences (г. Питтсбург, штат Пенсильвания, США). Все остальные реагенты и химические вещества синтетической чистоты были приобретены у компании Sigma-Aldrich (г. Сент-Луис, штат Миссури, США) и были использованы без дополнительной очистки. Все растворители, применяемые для анализа ВЭЖХ (степень чистоты ВЭЖХ) и очистки соединений, также были приобретены у компании Thermo Fisher Scientific (г. Уолтем, штат Массачусетс, США). Все буферы и растворы были приготовлены с применением ультрачистой воды (удельное сопротивление: 18 МОм·см).

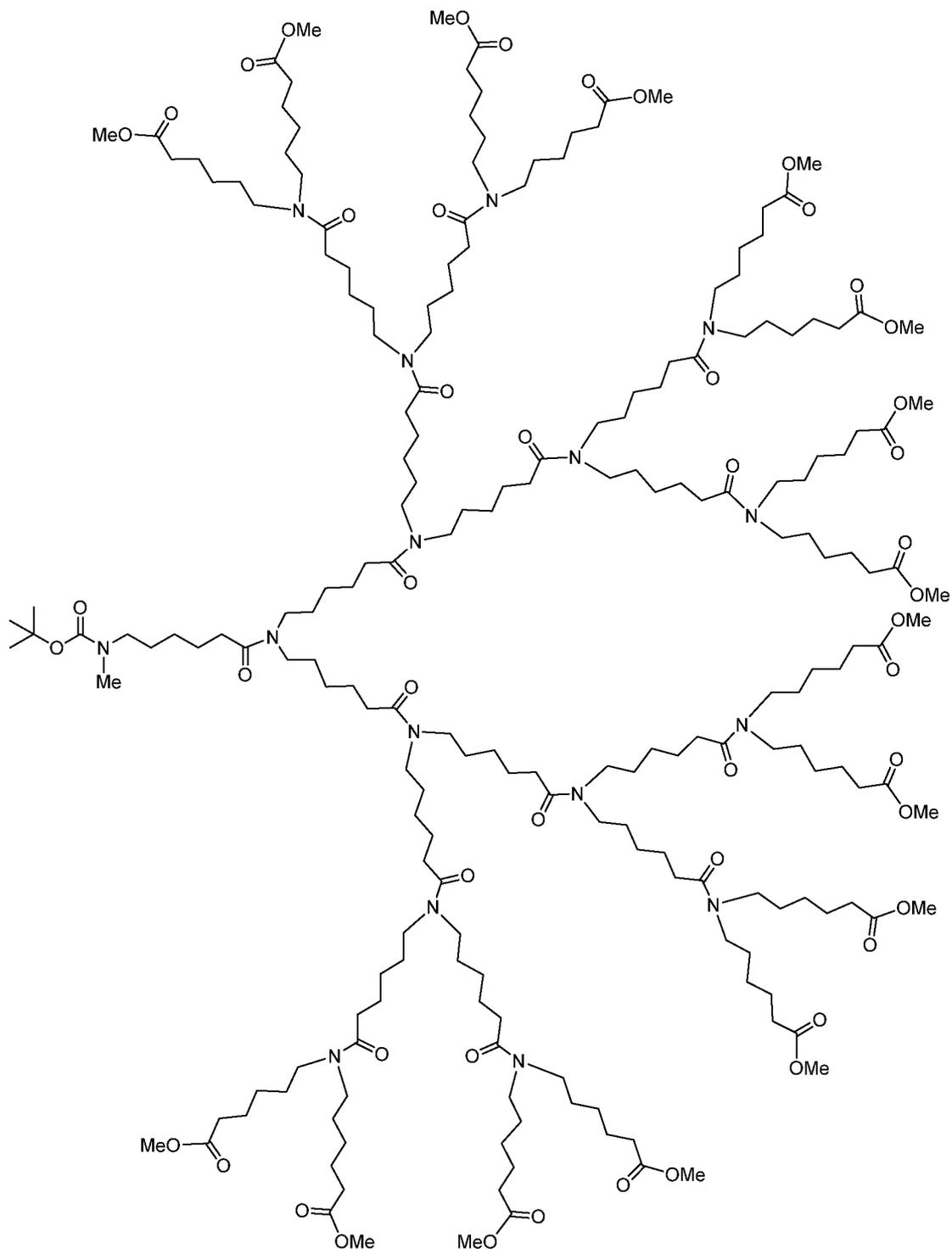
[0099] Все данные жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (ЖХ/МС) были получены с использованием системы Waters Autopure (г. Милфорд, штат Массачусетс, США), содержащей следующие приборы: 2767 программа управления образцами, 2545 модуль бинарного градиента, струйный органайзер системы, 2424 испарительный детектор светорассеяния, 2998 фотодиодный матричный детектор, 3100 масс-детектор. Растворители для ВЭЖХ (растворитель А, 0,05% раствор трифторуксусной кислоты в воде; растворитель В, 0,05% раствор трифторуксусной кислоты в ацетонитриле) фильтровали перед применением. Аналитический метод: 5-25% растворителя В, время – 10 мин, скорость потока – 1,2 мл/мин. Аналитические колонны: Waters XBridge ВЕН300 (г. Милфорд, штат Массачусетс, США), С4, 3,5 мкм, 4,6 × 50 мм и С18, 4 мкм, 4,6 × 50 мм. Препаративный метод: 5-25% растворителя В, время – 30 мин, скорость потока – 20 мл/мин. Препаративная колонна: Waters XBridge Prep (г. Милфорд, штат Массачусетс, США) С18, 4 мкм, оптимальная плотность слоя, 19 x 150 мм.

[00100] Все данные ЯМР были получены с помощью инструментов Bruker AV500 или AV600 (компания Bruker, г. Биллерика, штат Массачусетс, США) при температуре окружающей среды. Были использованы следующие сокращения: синглет (s), широкий синглет (bs), дублет (d), триплет (t), квартет (q), пентет (p), дублет дублета (dd), мультиплет (m).

[00101] Все эксперименты с применением молекул с высокой способностью к комплексообразованию с металлами, таких как DOTA, проводили в стеклянной посуде, которую предварительно промывали не содержащей металлов HCl, ополаскивали водой высокой чистоты (например, водой, дистиллированной в стеклянном сосуде) и сушили в печи. Хроматографию проводили на стеклянных колоннах с ручной насадкой во избежание реакции комплексообразующего агента с металлом, выщелоченным или извлеченным из металлических стенок колонны. Обращенно-фазовую очистку проводили на чистых стеклянных колоннах, не содержащих металлов, которые вручную заполняли рыхлым силикагелем C-18. Содержание воды в полученных комплексах не измеряли.

[00102] ССА-16-метиловый эфир – NH₂OC (проиллюстрирован ниже) и 5-((трет-бутоксикарбонил)-амино)-пентил-2-ацетамидо-2-дезоксигалактопиранозид (моноацетил-сахар–NH₂OC) получали в соответствии с аналогичными способами и протоколами, как описано в Yoo, B. et al. “N-Acetylgalactosamino Dendrons as Clearing Agents to Enhance Liver Targeting of Model Antibody-Fusion Protein,” *Bioconjugate Chem.* **2013**, 24, 2088-2103 (включая сопутствующую вспомогательную информацию) и Cheal, S.M. et al. “Evaluation of Glycodendron and Synthetically Modified Dextran Clearing Agents for Multistep Targeting of Radioisotopes for Molecular Imaging and Radioimmunotherapy,” *Mol. Pharmaceutics* **2014**, 11, 400-16 (включая сопутствующую вспомогательную информацию), содержание которых включено в настоящую заявку посредством ссылки. Соответствующие характеристические данные для ССА-16-метилового эфира – NH₂OC и моноацетил-сахар–NH₂OC приведены ниже.

[00103] ССА-16-метилловый эфир-NHВос:

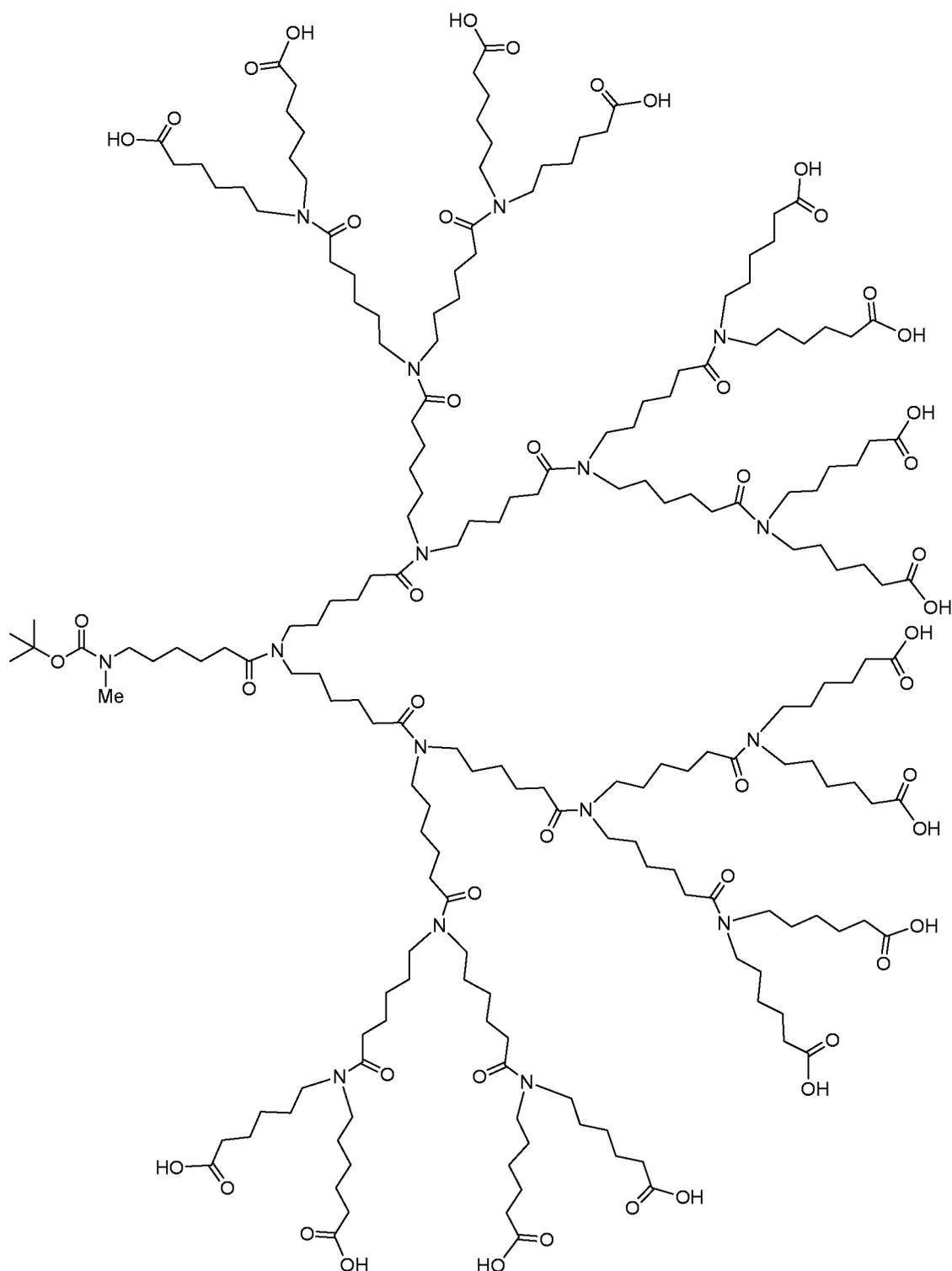


^1H ЯМР (600 МГц, D_2O) δ : 3.68, 3.66 (2s, 48 H, OCH_3), 3.30-3.26 (m, 32 H), 3.22-3.19 (m, 32 H), 2.83 (bs, NCH_3), 2.35-2.25 (m, 64 H), 1.69-1.51 (m, 128 H), 1.44 (s, 9 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.34-1.29 (m, 64 H). ^{13}C ЯМР (125 МГц, D_2O) δ : 174.10, 173.87, 172.10, 51.57, 51.48, 47.86, 47.79, 45.78, 45.70, 33.95, 33.84, 33.83, 33.05, 32.89, 29.21, 28.90, 28.50, 27.70, 27.48, 27.46, 26.99, 26.84, 26.55, 26.42, 25.23, 25.13, 24.68, 24.64.

[00104] Моноацетил-сахар-НВос (5-((трет-бутоксикарбонил) амино) пентил-2-ацетамино-2-дезоксид-1-тио-3,4,6-три-О- ацетил- α -D-галактопиранозид): ^1H ЯМР (600 МГц, D_2O) δ : 5,57 (d, 1 H, J = 7,4 Гц), 5,49 (d, 1 H, J = 4,4 Гц), 5,38 (d, 1 H, J = 2,4 Гц), 5,05 (dd, 1 H, J = 2,4 Гц, J = 7,4 Гц), 4,80-4,74 (m, 1 H), 4,58 (bs, 1H), 4,54 (t, 1 H, J = 5,4 Гц), 4,13 (dd, 1 H, J = 9,6 Гц, J = 5,4 Гц), 4,09 (dd, 1 H, J = 9,6 Гц, J = 5,4 Гц), 3,14-3,08 (m, 2 H), 2,66-2,55 (m, 2 H), 2,16, 2,05, 2,01, 1,98 (4s, 12 H, COCH_3), 1,67-1,61 (m, 2 H), 1,44 (s, 9 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1,41-1,38 (m, 2 H). ^{13}C ЯМР (125 МГц, D_2O) δ : 171,00, 170,39, 170,28, 170,15, 155,98, 84,93, 68,54, 67,34, 67,24, 61,83, 48,33, 40,38, 30,97, 29,62, 29,28, 28,43, 25,94, 23,34, 20,75, 20,71.

[00105] *Иллюстративный пример синтеза*

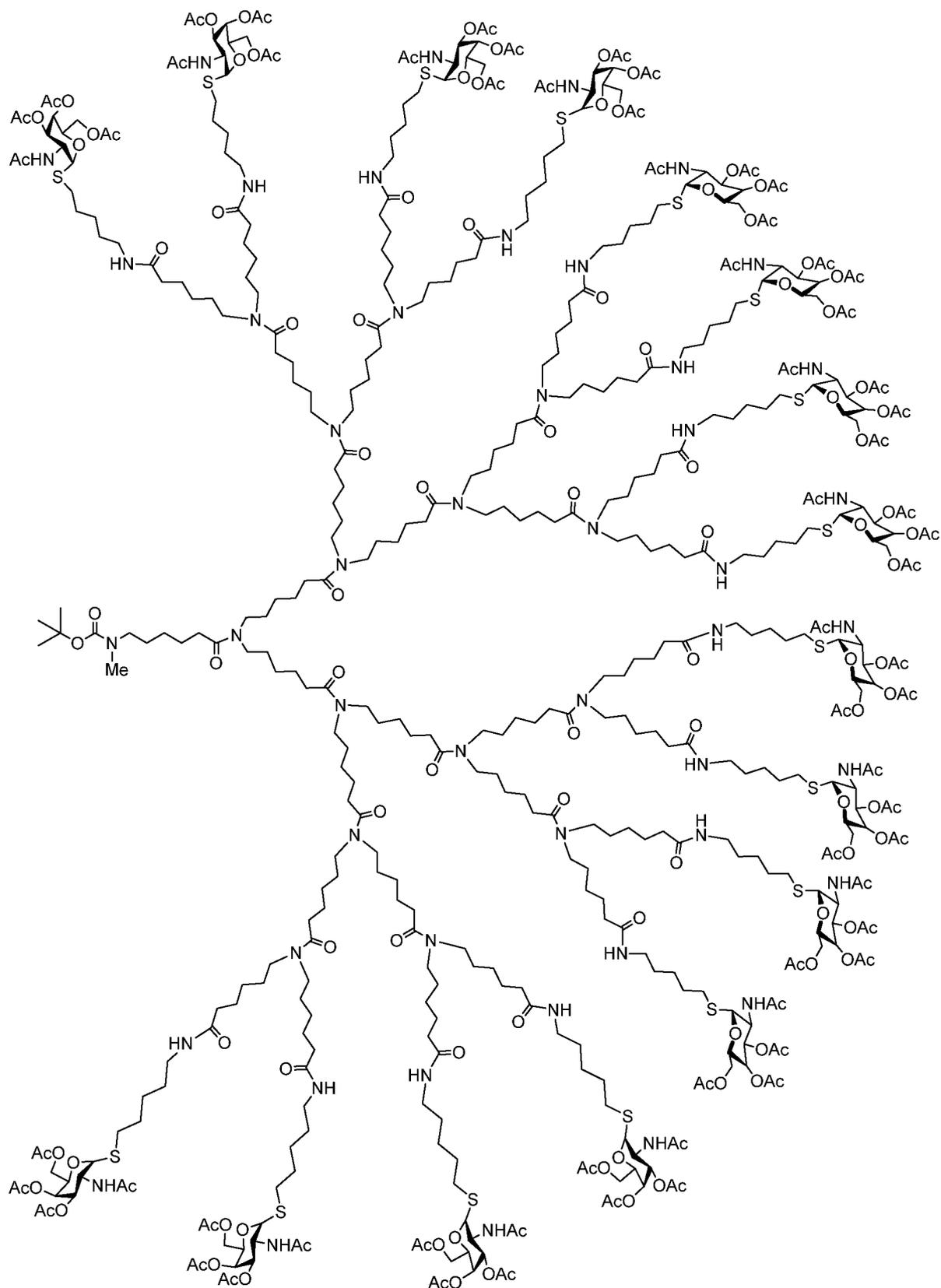
[00106] **Кислота ССА-16:**



В ССА-16-метилевый эфир-NHВос (2,1 г, 0,54 ммоль), содержащийся в MeOH (60 мл), добавляли NaOH (10 н., 16 мл) и воду (16 мл). Полученную смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем pH доводили до 5,0 с помощью 2,0 н. HCl и раствор загружали в делительную воронку. Далее проводили экстракцию смесью дихлорметантрет-бутанол (3/1, об./об.), 150 мл × 5, и объединенные органические слои

кратковременно сушили с применением Na_2SO_4 . После фильтрации через слой целита фильтрат упаривали при пониженном давлении, а остаток дополнительно сушили под высоким вакуумом в течение 2 часов, получая 2,0 г бесцветного густого масла. Продукт имел достаточную чистоту для непосредственного применения на следующем этапе.

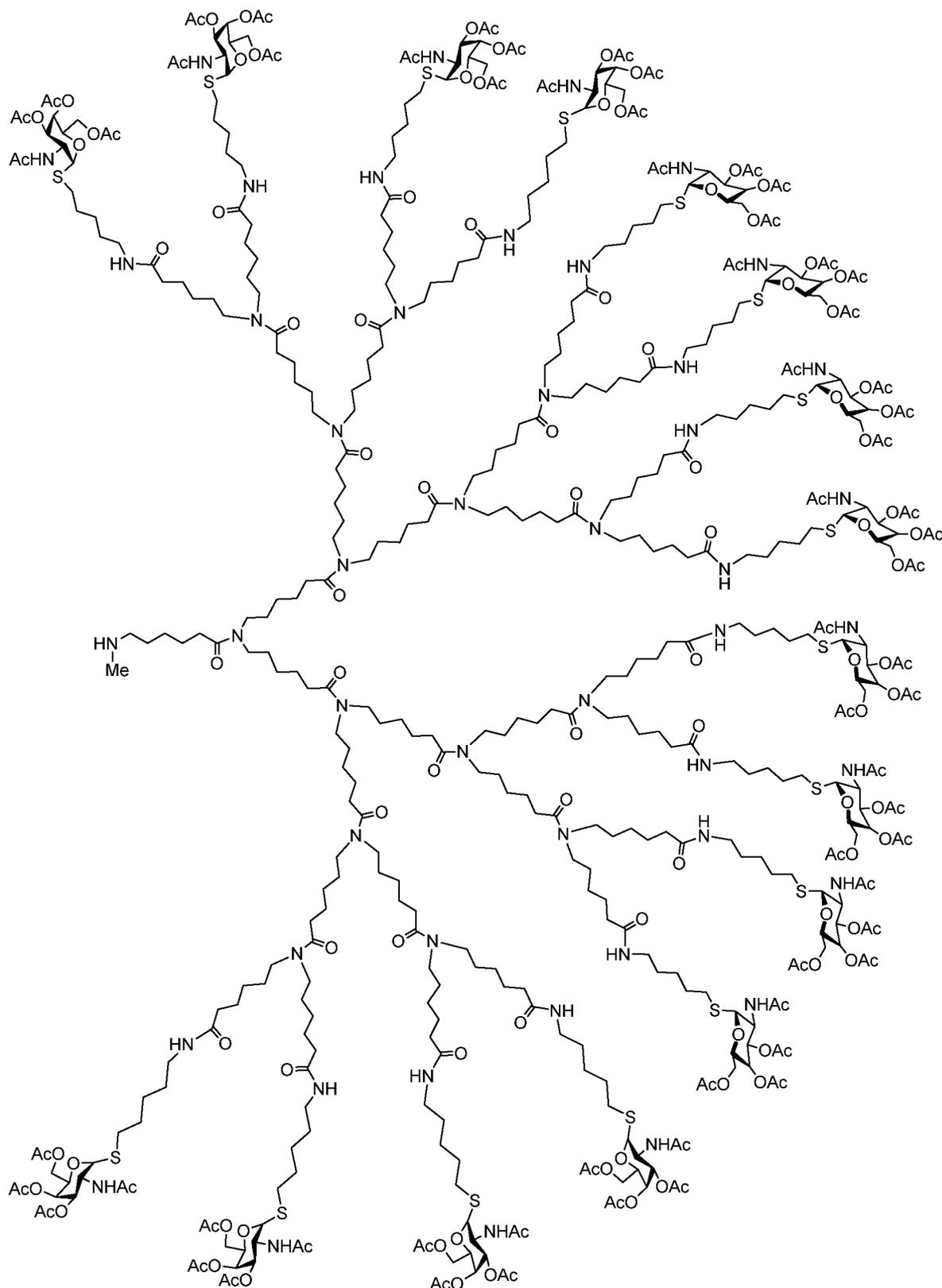
[00107] CCA-16-caxap-NHBoc:



Кислоту CCA-16 (2,0 г, 0,54 ммоль) разбавляли в диметилформамиде (80 мл) перед очисткой с применением 1-бис(диметиламино)метилден-1Н-1,2,3-триазоло-4,5-в пиридиний-3-оксид-гексафторфосфата (НАТУ) (4,0 г, 10,5 ммоль) и 5-амино-1-пентил- α -тио-тетраацетилгалактозамина (5,6 г, 9,9 ммоль). Полученную смесь взбалтывали при

комнатной температуре в течение 20 минут перед добавлением диизопропилэтиламина (8,0 мл). Спустя 1 час добавляли дихлорметан (200 мл) и реакционную смесь промывали водой (2 × 100 мл). Затем органический слой кратковременно сушили с применением Na₂SO₄, фильтровали через слой целита и фильтрат концентрировали под вакуумом. Очистка с применением колоночной флэш-хроматографии с градиентом от 0% до 15% MeOH в дихлорметане (об./об.) давала ССА-16-сахар-NHВос, 4,9 г, выход 85%. ¹H ЯМР (600 МГц, D₂O) δ: 7,95 (bs, 12 H, NH), 5,64-5,61 (m, 16 H), 5,47-5,46 (d, 16 H, J = 2,8 Hz), 5,06 (dd, 16 H, J = 11,8 Hz), 4,64-4,60 (m, 32 H), 4,18-4,12 (m, 32 H), 3,35 (m, 32 H), 3,21-3,19 (m, 36 H), 3,02, 2,88 (2s, 3 H, NCH₃), 2,86-2,84 (bs, 4 H), 2,70-2,61 (m, 32H), 2,41-2,38 (m, 36 H), 2,24 (m, 32 H), 2,21, 2,06, 1,98, 1,97 (4s, 192 H, COCH₃), 1,69-1,64 (m, 128 H), 1,59-1,53 (m, 70 H), 1,48 (s, 9 H, OC(CH₃)), 1,48-1,46 (m, 32), 1,40-1,33 (m, 70 H). ¹³C ЯМР (125 МГц, D₂O) δ: 174,60, 174,38, 174,30, 173,41, 172,23, 172,14, 170,66, 170,34, 84,07, 68,23, 67,23, 66,80, 61,78, 53,46, 45,67, 39,01, 38,88, 35,73, 35,63, 35,58, 32,59, 32,51, 30,03, 29,06, 28,66, 28,54, 27,57, 27,08, 26,37, 26,28, 26,22, 26,10, 25,83, 25,45, 25,36, 25,18, 25,10, 21,26, 21,22, 19,44, 19,37, 19,24.

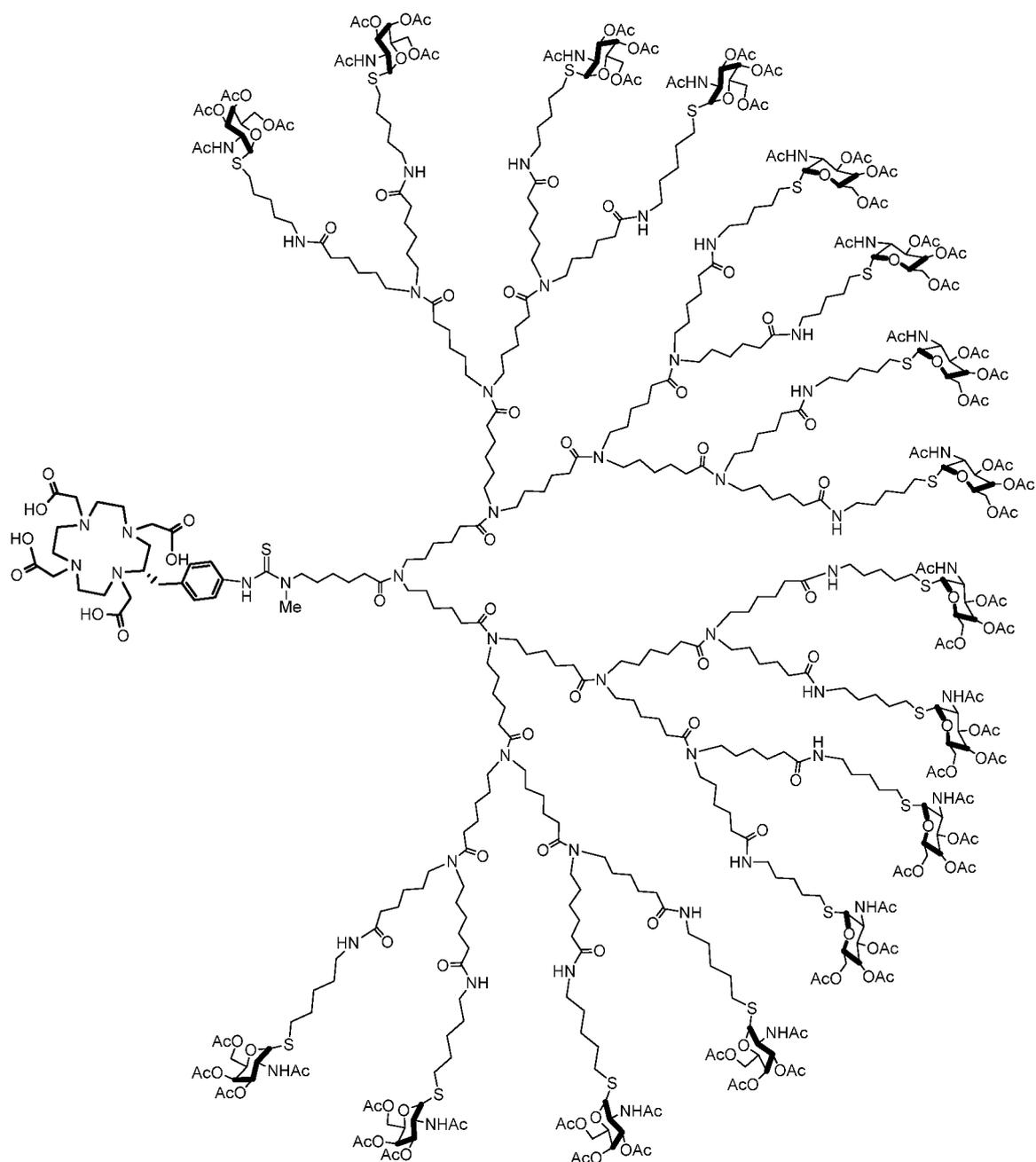
[00108] ССА-16-парацетил- α -тиогалактозамин-NH₂·ТФУ:



20 мг ССА-16-парацетил- α -тиогалактозамин-NH₂·ТФУ (1,9 мкмоль) растворяли в 0,8 мл 20% трифторуксусной кислоты (ТФУ) и дихлорметане (об./об.), затем взбалтывали при комнатной температуре в течение 60 мин. Далее смесь упаривали при пониженном давлении с целью очистки от трифторуксусной кислоты и дихлорметана. За развитием

реакции наблюдали с помощью ЖХМС, которую проводили с помощью системы саммочистки Autopure System (фирма Waters) с использованием C4 (Xbridge, Waters, 4,6 × 50 мм) с градиентом 5-95% (об./об.) ацетонитрила в воде, содержащей 0,05% трифторуксусной кислоты, в течение 10 мин. Обнаружение было обеспечено одновременной работой масс-спектрометра, диодной матрицы и испарительного детектора светорассеяния. Остаток (20 мг) дополнительно сушили в течение ночи под высоким вакуумом и применяли непосредственно на следующем этапе.

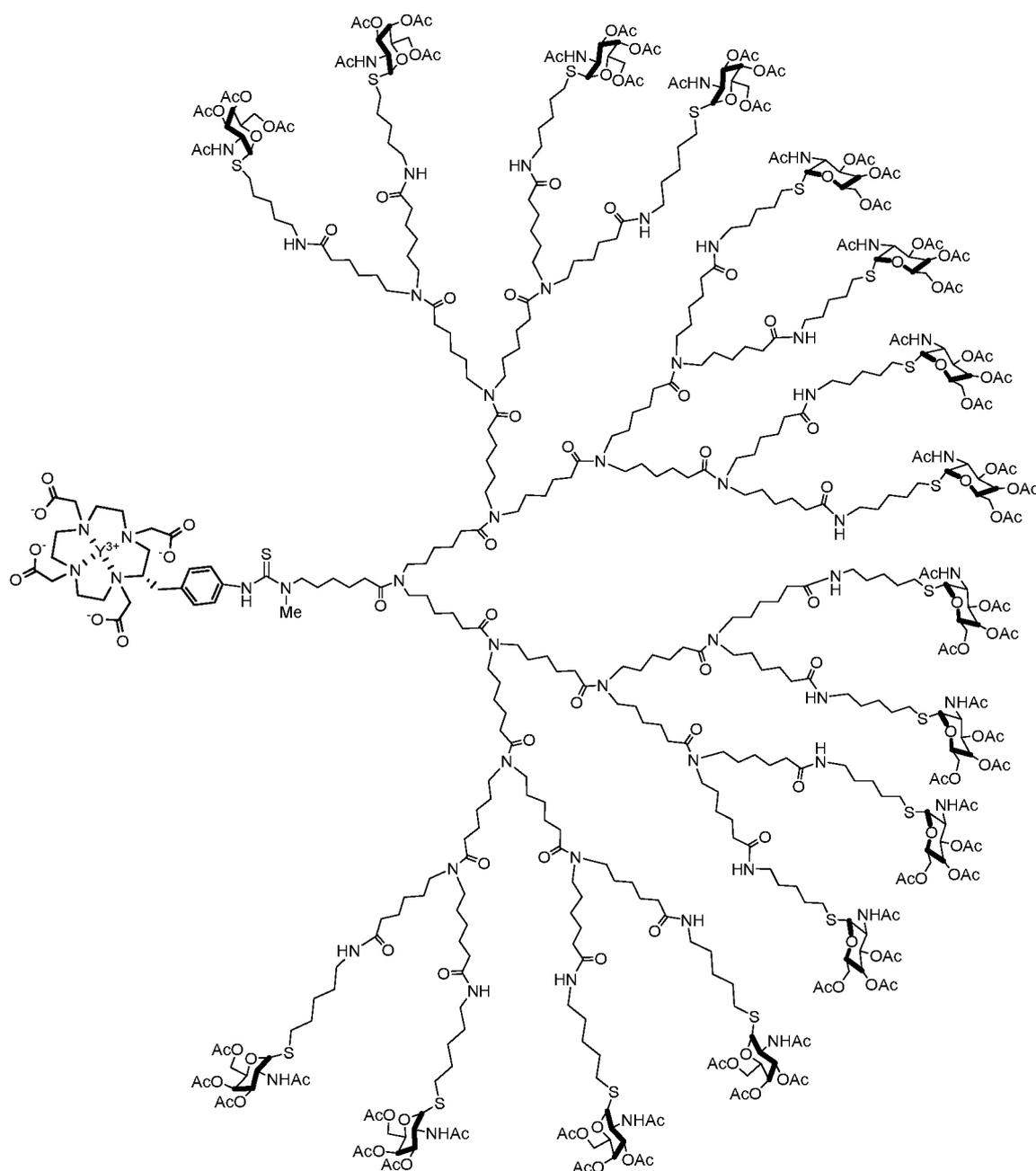
[00109] ССА-16-перацетил- α -тиогактозамин-NHCSNMe-Bn-DOTA:



Неочищенную соль аммония (ССА-16-перацетил- α -тиогактозамин- NH₂·ТФУ) и P-SCN-Bn-DOTA (2,5 мг, 3,8 мкмоль, 2 экв.) растворяли в диметилформамиде (0,3 мл) и затем

добавляли триэтиламин (Et₃N) (6 мкл). Полученную гомогенную смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение 4 часов; летучие вещества удаляли под высоким вакуумом при комнатной температуре с целью получения пены достаточной чистоты, которую применяли на следующем этапе. Оценку ЖХМС проводили с помощью той же системы, что и на предыдущем этапе, но вместо этого использовали колонну XBridge C18 (4,6 × 150 мм) с градиентом 40-95% (об./об.) ацетонитрила в воде, содержащей 0,05% трифторуксусной кислоты.

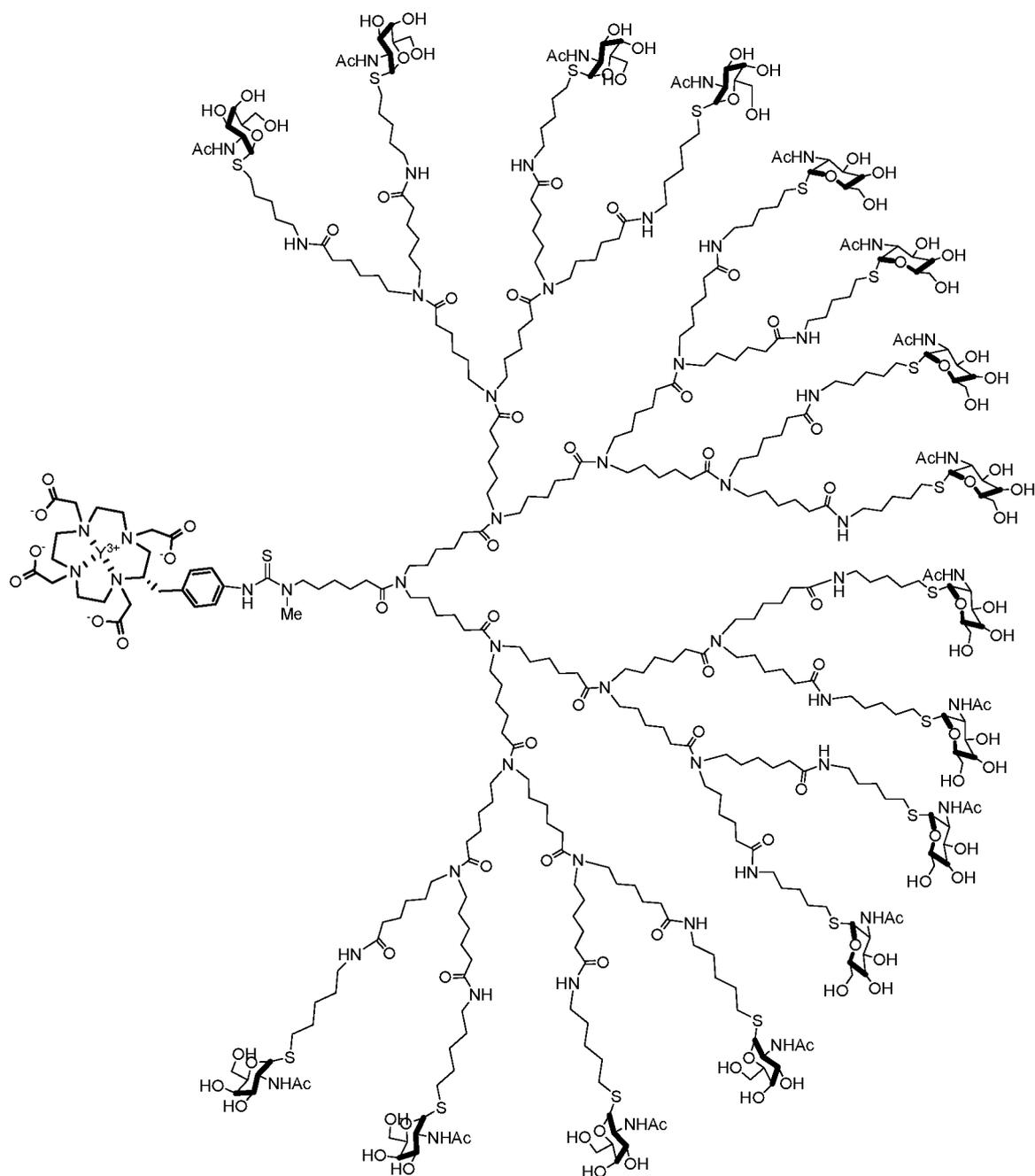
[00110] ССА-16- α -тио-перацетилгалактозамин-DOТА- Y^{3+} :



Сырьевой материал из предыдущего этапа ССА-16-перацетил- α -тиогалактозамин-NHCSNMe-Bn-DOТА добавляли к раствору $YCl_3 \cdot 6H_2O$ (6 мг) в 0,05 М HCl (0,2 мл) и 0,5 М

NH_4OAc (0,2 мл). Смесь взбалтывали в течение 4 часов. Попытки очищения с помощью ВЭЖХ на данном этапе не увенчались успехом. Однако аналитический контроль показал, что реакция проходит с приемлемой чистотой. ЖХМС проводили на колонне XBridge C18 с градиентом 5-95% (об./об.) ацетонитрила в воде (оба содержат 0,05% трифторуксусной кислоты) в течение 10 минут. Остаток использовали на следующем и последнем этапе. Результаты, полученные с помощью тандемной масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением (ESI-MS) (m/z) были следующими: $[\text{M}+6\text{H}]^{6+}$ *выч.* 1847,55, *эсп.* 1847,86.

[00111] CCA-16-DOTA- Y^{3+} :



Неочищенный ССА-16- α -тио-перацетилгалактозамин-ДОТА- Y^{3+} растворяли в MeOH (0,5 мл) и к раствору добавляли дегазированный NaOH (0,2 н., 400 мкл). Через 30 мин реакционную смесь упаривали досуха, растворяли в минимальном количестве воды и подвергали ВЭЖХ (XBridge C18, 20-70% (об./об.) с градиентом ацетонитрила в воде (оба содержат 0,05% трифторуксусной кислоты) в течение 10 мин). Соответствующие фракции объединяли и лиофилизировали с получением 22 мг целевого соединения в виде белой пены с общим выходом 64%, исходя из ССА-16-метилового эфира-NHВос. 1H ЯМР (600 МГц, D_2O) δ : 7,21-7,24 (m, 4 H, Ph), 5,43 (d, 16 H, $J = 5,2$ Гц, $H_{сахар-1}$), 4,27 (dd, 16 H, $J = 5,2$ Гц, $J = 11,2$ Гц, $H_{сахар-2}$), 4,17-4,14 (m, 16 H, $H_{сахар-5}$), 3,96 (d, 16 H, $J = 2,7$ Гц, $H_{сахар-4}$), 3,75 (dd, 16 H, $J = 2,7$ Гц, $J = 11,2$ Гц, $H_{сахар-3}$), 3,68 (d, 32 H, $J = 6,0$ Гц, $H_{сахар-6}$), 3,23 (bs, 64 H), 3,15-3,08 (m, 36 H), 3,00 and 2,85 (2s, 3 H, NCH_3), 2,58-2,47 (m, 34 H), 2,30 (bs, 32 H), 2,16-2,13 (m, 34 H), 1,96 (s, 48 H, $NHCOCH_3$), 1,55-1,30 (m, 198 H), 1,23-1,15 (m, 102 H). ^{13}C ЯМР (125 МГц, D_2O) δ : 175,94, 174,24, 163,04, 162,81, 117,31, 115,38, 83,84, 71,62, 68,46, 67,77, 61,07, 50,29, 48,22, 45,86, 39,19, 35,78, 32,74, 30,26, 28,77, 28,24, 27,13, 26,90, 26,22, 25,86, 25,80, 25,51, 25,39, 22,09. Результаты, полученные с помощью тандемной масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением (ESI-MS) (m/z) были следующими: $[M+5H]^{5+}$ *выч.* 1812,2, *эсп.* 1813,1; $[M+6H]^{6+}$ *выч.* 1510,3, *эсп.* 1511,2.

Пример 2. Иллюстративный пример экспериментальных материалов и способов биологических исследований

[00112] *Материалы.* Биспецифическое антитело анти-GPA33 для ДОТА-ПРИТ (huA33-C825) получали согласно способу, описанному ранее в WO2016/130539. Клеточная линия колоректального рака человека SW1222 GPA33(+) была предоставлена Институтом исследования рака им. Людвига (г. Нью-Йорк, штат Нью-Йорк, США) и поддерживалась в минимальной питательной среде с добавлением 10% инактивированной нагреванием фетальной телячьей сыворотки, 2,0 мМ глутамина, 100 единиц/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина.

[00113] *Радиоiodирование биспецифического антитела.* Изотоп ^{131}I был предоставлен компанией Nordion (г. Оттава, провинция Онтарио, Канада). Пробирки, предварительно покрытые йодогеном, были предоставлены компанией Thermo Fisher Scientific (г. Уолтем, штат Массачусетс, США). Предварительно заполненные колонны Sephadex G-25 (колонны PD10) были предоставлены компанией GE Healthcare Life Sciences (г. Питтсбург, штат Пенсильвания, США). Аликвоты биспецифического антитела анти-GPA33 подвергали радиоактивному йодированию в соответствии с методом IODO-GEN (Salacinski PR et al.,

Analytical biochemistry 117: 136-46 (1981); Harlow E, Lane D. USING ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL. Cold Spring Harbor, N.Y. (1999)) с последующей очисткой гель-фильтрацией с помощью предварительно заполненных промышленных колонн PD10 (смола Sephadex G-25). Было определено, что радиохимическая чистота составляет >98% с применением эксклюзионной жидкостной хроматографии при высоком давлении в сочетании с радиодетекцией. Вкратце, для получения ^{131}I -huA33-C825 100 мкг смешивали с 80 мкл 0,2 М фосфата натрия, pH 7,4, в предварительно покрытой йодогеном пробирке. Затем добавляли 400 мкКи изотопа ^{131}I . Через 5 минут при комнатной температуре реакцию смесь переносили в новую пробирку, содержащую 50 мкл йодоген-останавливающего буфера [10 мг/мл тирозина (насыщенного), 10% глицерина, 0,1% ксиллоциланола в фосфатно-солевом буферном растворе] и очищали с помощью колонны PD10, которая была предварительно выдержана и элюирована физиологическим раствором с добавлением бычьего сывороточного альбумина в количестве 1% (мас./об.).

[00114] *Модельные животные.* Самки бестимусных мышей (в возрасте 6-8 недель) были предоставлены компанией Harlan (г. Индианаполис, штат Индиана, США) и компанией Envigo (г. Хантингдон, Соединенное Королевство). Мышей акклиматизировали минимум за 1 неделю. Для определения влияния очищающего агента на основе дендронов CCA-16-DOТА- Y^{3+} на выведение биспецифического антитела ^{131}I из крови использовали здоровых (не имеющих опухолей) мышей. Для экспериментов по биораспределению при ДОТА-ПРИТ использовали группы мышей с введенными под кожу ксенотрансплантатами колоректального рака человека SW1222. Чтобы внедрить опухоль SW1222, мышам прививали 5.0×10^6 клеток в 200 мкл клеточной суспензии смеси сред 1:1 с восстановленной базальной мембраной (BD Matrigel, Collaborative Biomedical Products Inc., г. Бедфорд, штат Массачусетс, США) на нижнюю часть живота посредством подкожной инъекции, и сформировавшиеся опухоли (100-300 мм³) наблюдались в течение 7-10 суток.

[00115] *Выведение биспецифического антитела ^{131}I из крови.* Радиоактивный индикатор антител готовили для инъекции путем смешивания биспецифического антитела ^{131}I с дополнительным носителем антител до достижения 250 мкг (1,19 нмоль) на дозу. Все заборы крови и инъекции производились через хвостовую вену. Здоровым мышам (n = 15) при $t = 0$ внутривенно вводили 250 мкг (1,19 нмоль) биспецифического антитела ^{131}I , а также либо несущую среду (физиологический раствор; n = 3), либо 25 мкг очищающего агента (приготовленного в 250 мкл физиологического раствора; n = 12) при $t = 24$ ч. Для исследования несущей среды брали пробы крови (30-40 мкл; n = 3 на пробу) при $t = 1, 2, 3, 4, 24, 25, 26, 27$ и 28 часов. Для исследования очищающего агента брали пробы крови (30-

40 мкл; n = 3 на пробу) при $t = 1, 2, 3, 4, 24, 24,1$ (5 минут после введения очищающего агента), 24,3 (15 минут после введения очищающего агента), 24,5, 25, 26, 27 и 28 ч. Концентрации радиоактивности определяли для каждого образца путем подсчета на гамма-счетчике (PerkinElmer Life Sciences Wallac Wizard 3). Скорости счета были скорректированы с учетом фона и затухания, преобразованы в активности с применением коэффициента калибровки системы, специфичного для изотопа, нормированы на введенную активность и выражены в процентах введенной дозы/г (ВД/г). Процентные изменения активности крови по сравнению с исходным уровнем (т.е. непосредственно перед введением очищающего агента; y_1) через интервалы времени после инъекции очищающего агента (y_2) рассчитывали по формуле $((y_2 - y_1) / y_1) * 100$.

[00116] *Оптимизация дозы очищающего агента на основе дендронов CCA-16-DOТА- Y^{3+} при DOТА-ПРИТ.* Группам мышей с опухолью (n = 4 в группе) вводили биспецифическое антитело (250 мкг, 1,19 нмоль; $t = 28$ ч) с последующим введением различных количеств CCA-16-DOТА- Y^{3+} (0-25 мкг; 0-2,76 нмоль; $t = 4$ ч). Дополнительной группе животных с опухолью для сравнения вводили очищающий агент на основе дендронов (Y)DOТА (62,5 мкг; 0,125 нмоль; 7,625 нмоль) вместо очищающего агента на основе дендронов CCA-16-DOТА- Y^{3+} . Через 4 часа после введения очищающего агента мышам вводили ^{177}Lu -DOТА-Вп (150-167 мкКи; 30-33 пмоль). Мышей умерщвляли через 48 часов после введения ^{177}Lu ; органы изымали для анализа концентраций радиоактивности согласно способу, описанному выше. Эти органы включали кровь, опухоль, сердце, печень, селезенку, желудок, тонкий кишечник, толстый кишечник, почки, мышцы, кости и хвост (место инъекции). Также были рассчитаны отношения поглощения опухолью к поглощению неопухолевыми тканями в процентах введенной дозы на грамм.

[00117] *Получение [^{111}In] Proteus-DOТА.* На ФИГ. 8 показана структура Proteus-DOТА (химическая формула: $\text{C}_{50}\text{H}_{80}\text{LuN}_{11}\text{O}_{19}\text{S}^{3-}$; точная масса: 1345,48; молекулярная масса: 1346,28). См. также заявку на патент США № 18/40911, поданную 5 июля 2018 г., содержание которой полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки. Для исследований ПРИТ с хелатором DOТА [^{111}In] Proteus-DOТА был приготовлен с применением изотопа [^{111}In] хлорида индия (153 МБк [4,14 мКи]) и 1 мкл Proteus-DOТА с концентрацией 10 мг/мл (10 мкг; 7,42 нмоль). Выход [^{111}In] Proteus-DOТА составил 44%, а результирующая удельная активность (УА) составила 7178 ГБк/г [194 Ки/г] или 9,67 Е6 ГБк/моль [2,61 Е5 Ки/моль]. [^{111}In] Proteus-DOТА очищали с помощью картриджа Strata™ -X перед введением мышам (полимерная обращенная фаза С-18, 33 мкм, 30 мг/1 мл # 8В-S100-ТАК, компания Phenomenex® Inc., г. Торранс, штат Калифорния, США), и

радиохимическая чистота была оценена >98% либо с помощью анализа связывания *in vitro* с избытком биспецифического антитела, либо с помощью аналитической ВЭЖХ с обращенной фазой в сочетании с радиодетекцией.

[00118] *Статистический анализ.* Различия между средними значениями определяли с помощью непарных параметрических t-критериев Стьюдента.

[00119] *ОФЭКТ/КТ визуализация.* Для ОФЭКТ/КТ визуализации и исследований биораспределения после направленного действия *in vivo* анти-GPA33-ДОТА-ПРИТ с введением [¹¹¹In] Proteus-ДОТА у мышей с опухолью SW1222, которые получали инъекции биспецифического антитела huA33-C825 и CCA-16-ДОТА-Y³⁺ ; 25 мкг; 2,76 нмоль) вводили 172 пмоль/1,67 МБк [45 мкКи] [¹¹¹In] 1 (n = 4) или 790 пмоль/7,66 МБк [207 мкКи] [¹¹¹In] 1 (n = 1). На следующий день единственную мышь, получившую более высокую введенную активность [¹¹¹In] Proteus-ДОТА исследовали с помощью ОФЭКТ/КТ через 20 часов после введения, и всех животных умерщвляли через 24 часов после введения для оценки биораспределения.

Пример 3. Улучшение выведения из крови радиомеченого биспецифического антитела (BsAb) in vivo с помощью очищающих агентов согласно настоящему изобретению

[00120] *Оценка выведения биспецифического антитела ¹³¹I из крови (¹³¹I-huA33-C825).* Эксперименты *in vivo* проводили на здоровых (без опухолей) бестимусных мышах с целью оценки влияния однократной избыточной дозы очищающего агента на основе дендронов согласно настоящему изобретению на выведение биспецифического антитела ¹³¹I из крови.

[00121] Первоначально группам животных вводили 250 мкг биспецифического антитела ¹³¹I (дозу биспецифического антитела, ранее оптимизированную для ПРИТ с хелатором ДОТА). Спустя 24 часа мышам вводили очищающий агент на основе дендронов согласно настоящему изобретению (25 мкг, 2,76 нмоль) или несущую среду. Серийный сбор крови выполняли в разное время вплоть до 4 часов после введения очищающего агента (или 28 часов после введения биспецифического антитела ¹³¹I), и концентрацию активности ¹³¹I определяли в каждом образце с помощью анализа на гамма-счетчике.

[00122] Как показано на ФИГ. 1, изначально не проявлялось значительных различий в активности ¹³¹I в крови на исходном уровне (через 24 часа после введения) между группами очищающего агента и несущей среды. Очищающий агент показал эффективность выведения из крови циркулирующего биспецифического антитела ¹³¹I, поскольку средняя концентрация активности в крови значительно снизилась на 64% через 5 минут после

введения с 6,7% ВД/г до 2,4% ВД/г. Через 1 час после введения очищающего агента или несущей среды средняя активность крови составляла 5,8 (-13%) или 1,3% ВД/г (-81%), соответственно.

[00123] Данные результаты показывают, что очищающие агенты согласно настоящему изобретению могут быть применимы в способах повышения чувствительности опухоли к лучевой терапии и/или лечения рака у нуждающегося в этом субъекта.

Пример 4. Применимость очищающих агентов настоящего изобретения при ПРИТ с хелатором DOTA

[00124] Результаты предварительно направленного действия на опухоль, достигнутые с применением различных доз ССА-16-DOTA- Y^{3+} , показаны на ФИГ. 2. Доза очищающего агента на основе дендронов 5-25 мкг приводила к среднему поглощению ^{177}Lu -DOTA-Вп опухолью 27-41%. ВД/г через 24 часа после инъекции активности ^{177}Lu , которая была сопоставима с поглощением ^{177}Lu -DOTA-Вп опухолью, наблюдаемым в случае с группами очищающего агента на основе декстрана и несущей среды (~35% ВД/г). Доза 25 мкг очищающего агента на основе дендронов (ССА-16-DOTA- Y^{3+}) давала такое отношение поглощения опухолью к поглощению кровью, которое было сравнимо с наблюдаемым при дозе 62,5 мкг очищающего агента на основе декстрана. Влияние очищающего агента на основе дендронов N-ацетилгалактозамина ССА-16-DOTA- Y^{3+} на поглощение опухолью зависело от дозы (см. ФИГ. 3). Кроме того, на ФИГ. 4 показано сравнение результатов предварительно направленного действия на опухоль, полученных с применением очищающего агента согласно настоящему изобретению, с результатами, полученными без применения очищающего агента (несущая среда), а также с конъюгатом очищающий агент на основе декстрана и очищающий агент на основе гаптена DOTA в количестве 500 кДа. Величины отношения поглощения опухолью к поглощению здоровыми тканями, полученные с применением ССА-16-DOTA- Y^{3+} , были сравнимы с таковыми, полученными с применением очищающего агента на основе декстрана.

[00125] Чтобы продемонстрировать применимость [^{225}Ac] Proteus-DOTA в комбинации с ПРИТ с хелатором DOTA с целью эффективного предварительно направленного действия на опухоль *in vivo*, группе бестимусных мышей со вживленными GPA33 экспрессирующими ксенотрансплантатами SW1222 вводили внутривенно биспецифическое антитело huA33-C825 (250 мкг; 1,19 нмоль) за 28 ч до введения [^{225}Ac] Proteus-DOTA, а также вводили внутривенно очищающий агент (62,5 мкг; 0,125 нмоль декстрана; 7,625 нмоль (Y)DOTA) за 4 часа до введения [^{225}Ac] Proteus-DOTA (182 пмоль,

1,85 кБк [50 нКи]). Этим мышам умерщвляли через 24 часа после введения [^{225}Ac] Proteus-DOТА для оценки биораспределения. Это исследование было также повторено с применением [^{111}In] Proteus-DOТА (172 пмоль/1,67 МБк [45 мкКи] [^{111}In] Proteus-DOТА (n = 4) или 790 пмоль/7,66 МБк [207 мкКи] [^{111}In] Proteus-DOТА (n = 1) с применением ССА-16-DOТА- Y^{3+} (25 мкг; 2,76 нмоль)). На следующий день единственную мышь, получившую большую введенную активность [^{111}In] Proteus-DOТА, исследовали с помощью ОФЭКТ/КТ через 20 часов после введения, и всех животных умерщвляли через 24 часа после введения для оценки биораспределения.

[00126] Как показано на ФИГ. 5А, для тех животных, которые проходили предварительно направленную радиоиммунотерапию с [^{225}Ac] Proteus-DOТА, поглощение кровью, опухолью и почками (как процент введенной активности на грамм ткани; % ВД/г) через 24 ч после введения составляли $0,94 \pm 0,26$, $16,71 \pm 2,95$ и $1,08 \pm 0,55$ соответственно, что соответствовало отношениям активности в опухоли к активности в органах примерно 18:1 и 16:1 для крови и почек, соответственно. Поглощение [^{111}In] Proteus-DOТА кровью, опухолью и почками через 24 часа после введения составляло $0,76 \pm 0,09$, $13,18 \pm 0,97$ и $1,02 \pm 0,06$, соответственно, что соответствует отношениям активности в опухоли к активности в органах примерно 17:1 и 13:1 для крови и почек, соответственно. Никаких существенных различий между применением [^{225}Ac] Proteus-DOТА и [^{111}In] Proteus-DOТА не наблюдалось, за исключением поглощения печенью, которое было примерно в 3 раза выше при применении [^{225}Ac] Proteus-DOТА ($1,40 \pm 0,47$ и $0,46 \pm 0,05$ при применении [^{225}Ac] Proteus-DOТА или [^{111}In] Proteus-DOТА, соответственно; $P < 0,05$) и поглощением костями, которое было выше при применении [^{111}In] Proteus-DOТА (нет данных и $0,15 \pm 0,01$ для [^{225}Ac] Proteus-DOТА или [^{111}In] Proteus-DOТА соответственно; $P < 0,001$). Эти отношения активности в опухоли к активности в органах аналогичны предыдущим исследованиям биораспределения, проведенным с применением анти-GP33-DOТА с использованием радиоактивного индикатора ^{177}Lu -DOТА-Bn или ^{86}Y -DOТА-Bn на той же животной модели, в которой среднее поглощение опухолью для обоих гаптенов DOТА составляли ~8% ВД/г ((1,85-8,8 МБк; 10-50 пмоль для любого гаптена M-DOТА-Bn) через 24 часа после введения (см. Cheal, S. M. *et al. Eur J Nucl Med Mol Imaging* 43:925-937 (2016)), предполагая, что аффинность С825 к [^{225}Ac] Proteus-DOТА была аналогичной (см. ФИГ. 5Б).

[00127] На ФИГ. 6А показаны результаты предварительно направленного действия на опухоль, полученные в группе животных, которым вводили 172 пмоль/1,67 МБк [45 мкКи] [^{111}In] Proteus-DOТА (n = 4) или 790 пмоль/7,66 МБк [207 мкКи] [^{111}In] Proteus-DOТА (n = 1). Отношение поглощения опухолью к поглощению здоровой тканью обычно было выше

у животных, получавших более высокую дозу [^{111}In] Proteus-DOТА (см. ФИГ. 6А и ФИГ. 7).

[00128] Как показано на ФИГ. 6Б, результаты ПРИТ с применением анти-GP33-DOТА, полученные с введением [^{225}Ac] Proteus-DOТА (применяют в комбинации с очищающим агентом на основе декстрана) и [^{111}In] Proteus-DOТА (применяют в комбинации с очищающим агентом на основе дендронов ССА-16-DOТА- Y^{3+}) были сопоставимы.

[00129] Данные результаты показывают, что очищающие агенты согласно настоящему изобретению могут быть применимы в способах повышения чувствительности опухоли к лучевой терапии и/или лечения рака у нуждающегося в этом субъекта.

Пример 5. Применение очищающего агента на основе дендронов N-ацетилгалактозамина в предварительно направленной радиоиммунотерапии с хелатором DOТА

[00130] Была проверена основная гипотеза о том, что анти-GP33 ПРИТ с введением ^{177}Lu -аминобензилDOТА ([^{177}Lu] LuDOТА-Bn), включая очищающий агент на основе дендронов ССА-16-DOТА- Y^{3+} , можно применять для достижения высоких терапевтических индексов (ТИ) вместо очищающих агентов на основе декстрана. Терапевтический индекс определяется в данном случае как расчетное отношение дозы, поглощенной опухолью, к дозе, поглощенной здоровыми тканями.

[00131] *Оценки поглощенных доз для ПРИТ с введением [^{177}Lu] LuDOТА-Bn, включая очищающий агент на основе дендронов ССА-16-DOТА- Y^{3+} .* Для расчета поглощенных доз для ПРИТ с введением [^{177}Lu] LuDOТА-Bn, включая очищающий агент на основе дендронов (очищающий агент согласно настоящему изобретению) группам бестимусных мышей с вживленными GP33-экспрессирующими ксенотрансплантатами SW1222 (n = 5 на группу), вводили внутривенно биспецифическое антитело huA33-C825 (250 мкг; 1,19 нмоль) за 28 ч до введения, а также вводили внутривенно очищающий агент на основе дендронов, ССА-16-DOТА- Y^{3+} (25 мкг; 2,76 нмоль) за 4 ч до введения [^{177}Lu] LuDOТА-Bn (20 пмоль, 3,7 МБк [100 мкКи]). Мышей умерщвляли через 1, 4, 24 или 48 ч после введения [^{177}Lu] LuDOТА-Bn для анализа биораспределения. Для каждой ткани зависимости концентрации активности от времени без корректировки по распаду были аппроксимированы с помощью Excel к однокомпонентной, двухкомпонентной или более сложной экспоненциальной функции, в зависимости от ситуации, и аналитически интегрированы для расчета активности накопленной концентрации на единицу введенной активности (МБк·ч/г на МБк). Константа равновесной дозы ^{177}Lu для непроникающего

излучения (8,49 г·сГр/МБк·ч) использовалась для оценки от опухоли к опухоли и выбора самопоглощаемых доз от органа к органу, предполагая полное локальное поглощение только ^{177}Lu β -лучей, и игнорируя вклад γ -лучей и других доз. Данные, полученные в результате этих исследований, показаны на ФИГ. 9.

[00132] Кривая зависимости активности от времени с корректировкой по распаду через 48 часов после введения [^{177}Lu] LuDOTA-Vn для опухоли, крови, печени, селезенки, почек и мышц, показана на ФИГ. 10. На ФИГ. 11 показаны поглощенные дозы (сГр/МБк) и терапевтические индексы для различных тканей. Как показано на ФИГ. 11, расчетные поглощенные дозы [^{177}Lu] LuDOTA-Vn для крови, опухоли, печени, селезенки и почек составляли 11,7, 468,4, 9,97, 5,49 и 13,3 сГр/МБк соответственно. Отношение оценок поглощенной дозы опухоли к оценкам поглощенной дозы выбранными здоровыми тканями (т.е. ТИ) варьировалось от примерно 40 (например, для крови и почек) до примерно 550 для мышц (ФИГ. 11).

[00133] Для оптимизированного ПРИТ с введением [^{177}Lu] LuDOTA-Vn, включая очищающий агент на основе декстрана, расчетные поглощенные дозы (сГр/МБк) опухоли, кровью, печенью, селезенкой и почками за один цикл составляли 65,8, 0,9 (ТИ 73), 6,3 (ТИ 10), 6,6 (ТИ 10) и 5,3 (ТИ 12) соответственно. См. Cheal *et al.*, *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 43: 925 (2016). Было продемонстрировано, что эффективное лечение без каких-либо серьезных токсических эффектов, связанных с лечением (например, 111,0 МБк, доставленные в качестве фракционированной дозы, вызывают полную ремиссию со 100% частотой, включая выживаемость более 140 дней у двух из девяти мышей; поглощенные дозы 7304,100 и 588 сГр опухолью, кровью и почками). Cheal *et al.*, *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 43: 925 (2016).

[00134] Основываясь на оценках переносимости дозы излучения здоровых тканей человека, полученных из клинических наблюдений (Marks, *et al.*, *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 76:S10–9 (2010)), максимально переносимые дозы (MTD) составляют 250 сГр для костного мозга, 1500 сГр для легких, 3000 сГр для печени и 2000 сГр для почек. Следовательно, для оптимизированной ПРИТ с введением [^{177}Lu] LuDOTA-Vn, включая очищающий агент на основе декстрана, максимальная переносимая предварительно направленная активность [^{177}Lu] LuDOTA-Vn составляет 278 МБк, с костным мозгом в качестве ограничивающего дозу органа. При этой активности предполагаемая поглощенная доза, доставленная в опухоль, составляет 18292 сГр (183 Гр), из которых 250 сГр приходится на кровь (костный мозг) и 1473 сГр приходится на почки.

[00135] Для вышеприведенного примера ПРИТ с введением [^{177}Lu] LuDOTA-Bn, включая очищающий агент на основе дендронов CCA-16-DOTA- Y^{3+} , максимальная переносимая предварительно направленная активность [^{177}Lu] LuDOTA-Bn составляет 21 МБк для костного мозга, применяемого в качестве дозолимитирующего органа. При этой активности расчетная поглощенная доза, доставленная в опухоль, составляет 9836 сГр (98 Гр), из которых 246 сГр приходится на кровь (костный мозг) и 280 сГр – на почки. Таким образом, эффективная и безопасная терапия колоректальной карциномы прогнозируется в ксенотрансплантатах у мышей, учитывая поглощенную опухолью дозу ~ 73 Гр, которая может быть достигнута при введенной активности 15,6 МБк (183 сГр для крови (костный мозг) и 207 сГр для почек).

[00136] В конечном итоге, данные показывают, что очищающий агент на основе дендронов может быть применен для лечения колоректальной карциномы человека (например, 70 Гр на опухоль) на мышинных моделях с меньшей введенной активностью ^{177}Lu по сравнению с очищающим агентом на основе декстрана с различиями в дозиметрии для критических тканей (например, с уменьшением дозы для почек).

[00137] Данные результаты показывают, что очищающие агенты согласно настоящему изобретению могут быть применимы в способах повышения чувствительности опухоли к лучевой терапии и/или лечения рака у нуждающегося в этом субъекта.

ЭКВИВАЛЕНТЫ

[00138] Настоящее изобретение не должно ограничиваться конкретными вариантами реализации, описанными в настоящей заявке, которые предназначены как отдельные иллюстрации отдельных аспектов настоящего изобретения. Многие модификации и вариации настоящего изобретения могут быть выполнены без отступления от ее существа и объема, что будет очевидно специалистам в данной области техники. Функционально эквивалентные способы и устройства в рамках настоящего изобретения, в дополнение к перечисленным в настоящей заявке, будут очевидны специалистам в данной области техники из предшествующего описания. Предполагается, что такие модификации и вариации входят в объем настоящего изобретения. Следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными способами, реагентами, соединениями, композициями или биологическими системами, которые, очевидно, могут варьироваться. Также следует понимать, что применяемая в настоящей заявке терминология предназначена только для описания конкретных вариантов реализации и не претендует на то, чтобы быть ограничивающей.

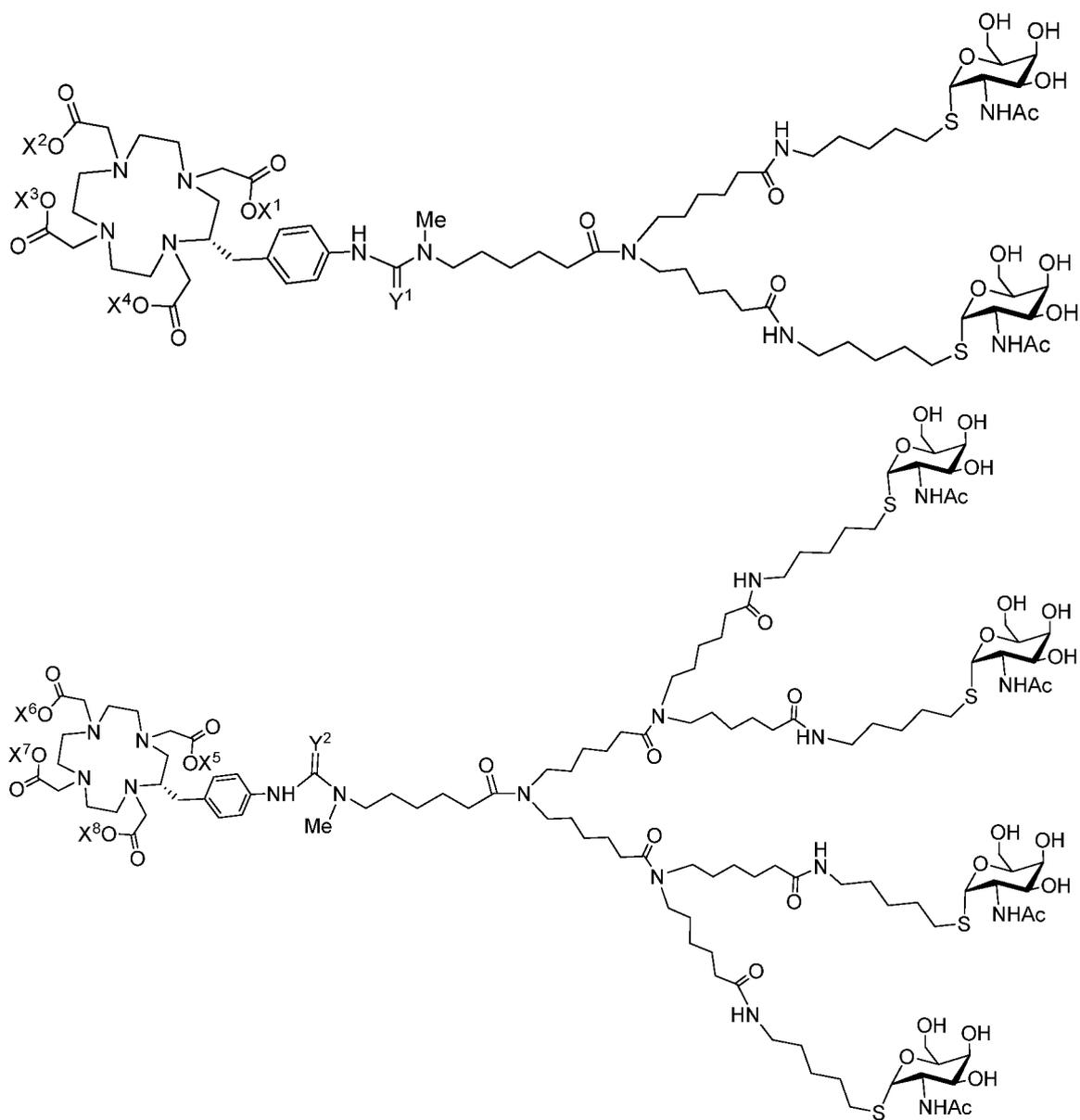
[00139] Кроме того, если признаки или аспекты раскрытия описаны в терминах групп Маркуша, специалисты в данной области техники поймут, что признаки или аспекты раскрытия также описаны в терминах любого отдельного члена или подгруппы членов группы Маркуша.

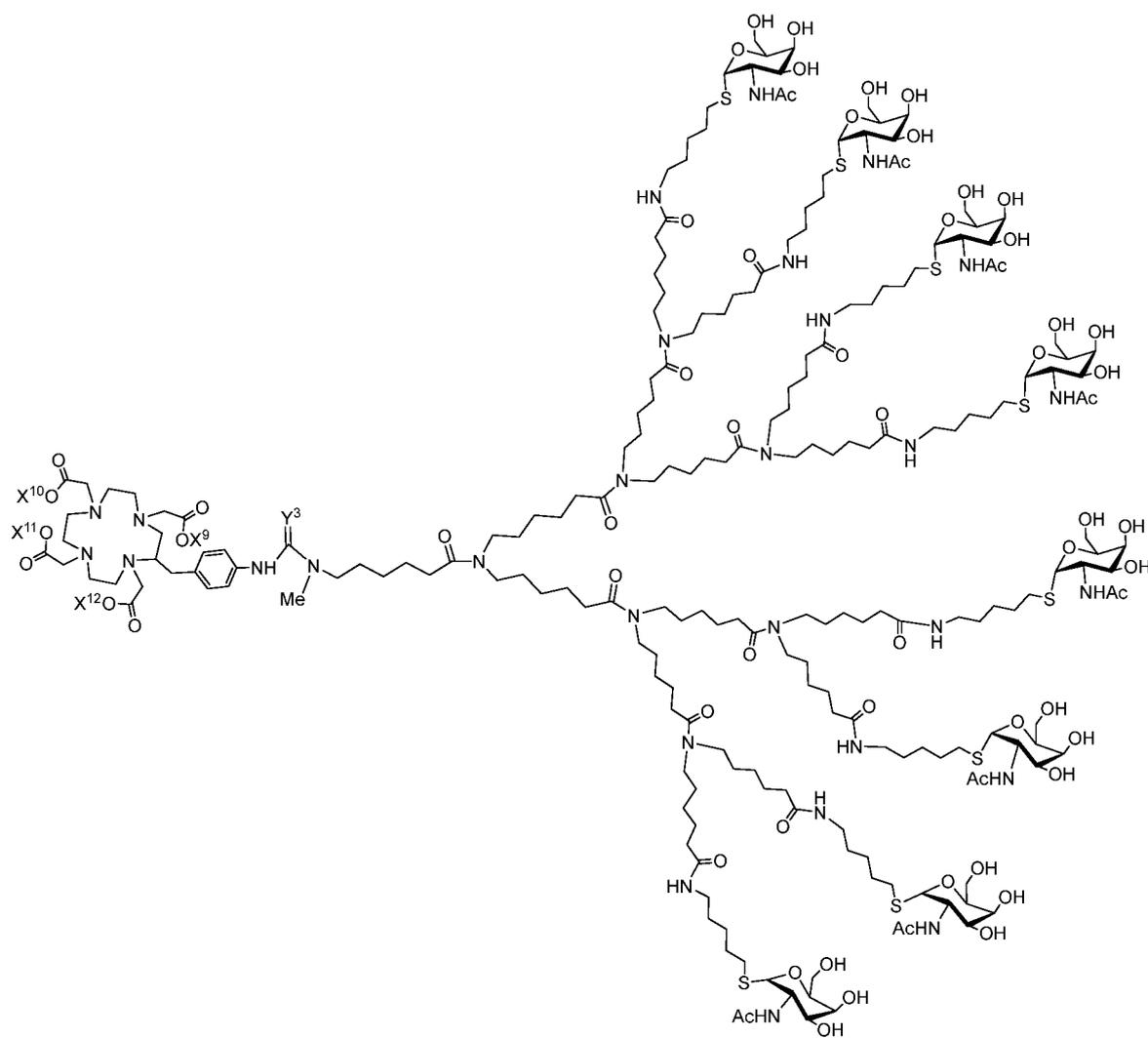
[00140] Как будет понятно специалисту в данной области техники, по всем вопросам, особенно с точки зрения предоставления письменного описания, все диапазоны, раскрытые в настоящей заявке, также охватывают любые и все возможные поддиапазоны и их комбинации. Любой указанный диапазон можно легко охарактеризовать как достаточно описывающий и позволяющий разбить один и тот же диапазон, по меньшей мере, на равные половины, трети, четверти, пятые, десятые и т. д. В качестве неограничивающего примера каждый обсуждаемый в настоящей заявке диапазон может быть легко разбит на нижнюю треть, среднюю треть, верхнюю треть и т. д. Как будет также понятно специалисту в данной области техники, все термины, такие как «до», «по меньшей мере», «более чем», «менее чем» и т.д., включают указанное число и относятся к диапазонам, которые впоследствии могут быть разбиты на поддиапазоны, как описано выше. Наконец, как будет понятно специалисту в данной области техники, диапазон включает каждый отдельный элемент. Таким образом, например, группа, имеющая 1-3 клетки, относится к группам, имеющим 1, 2 или 3 клетки. Аналогичным образом группа, имеющая 1-5 клеток, относится к группам, имеющим 1, 2, 3, 4 или 5 клеток и т. п.

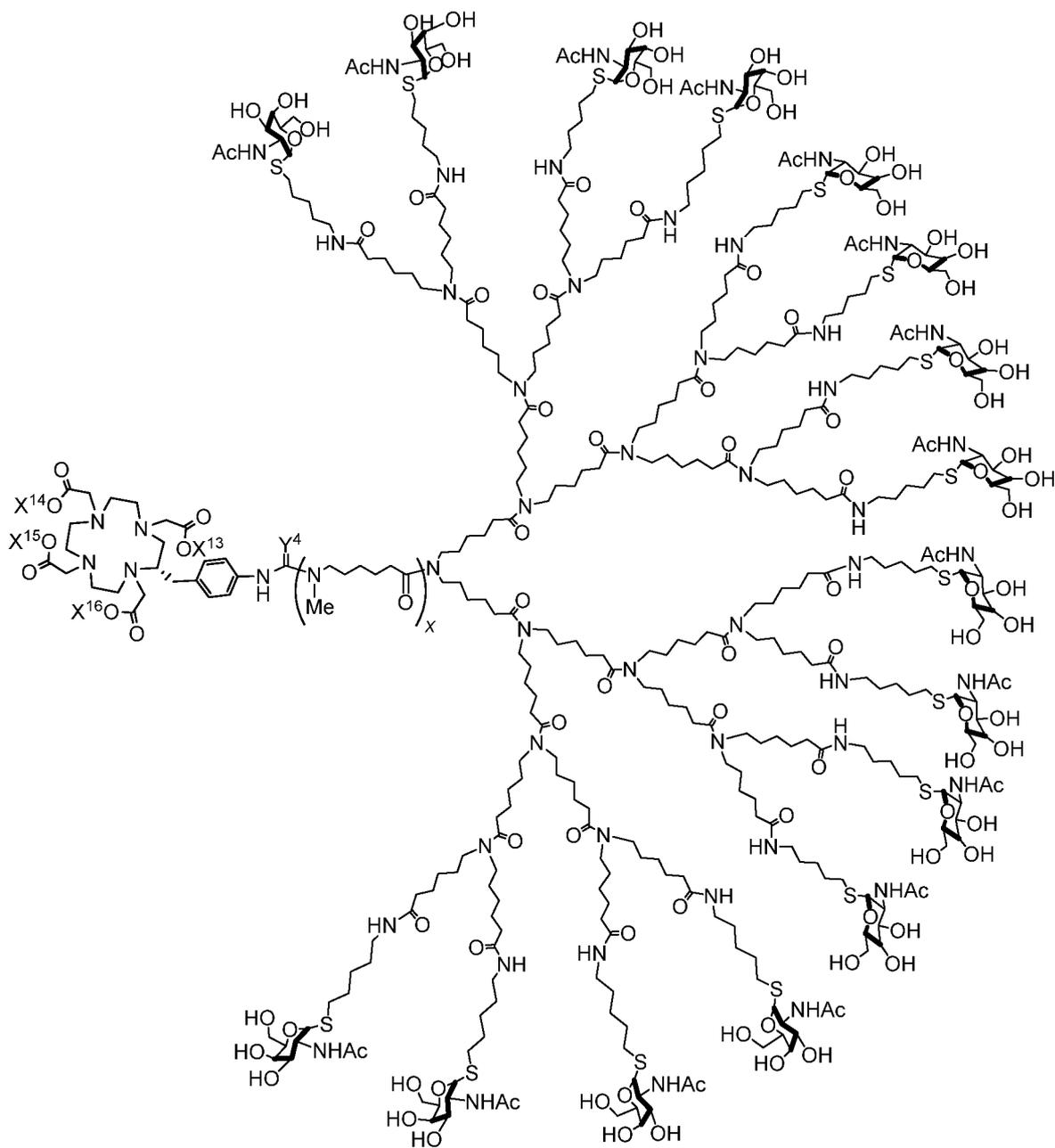
[00141] Все патенты, заявки на патенты, предварительные заявки и публикации, на которые имеется ссылка или цитируемые в настоящей заявке, полностью включены посредством ссылки, включая все фигуры и таблицы, в той степени, в которой они не противоречат явным идеям данного описания.

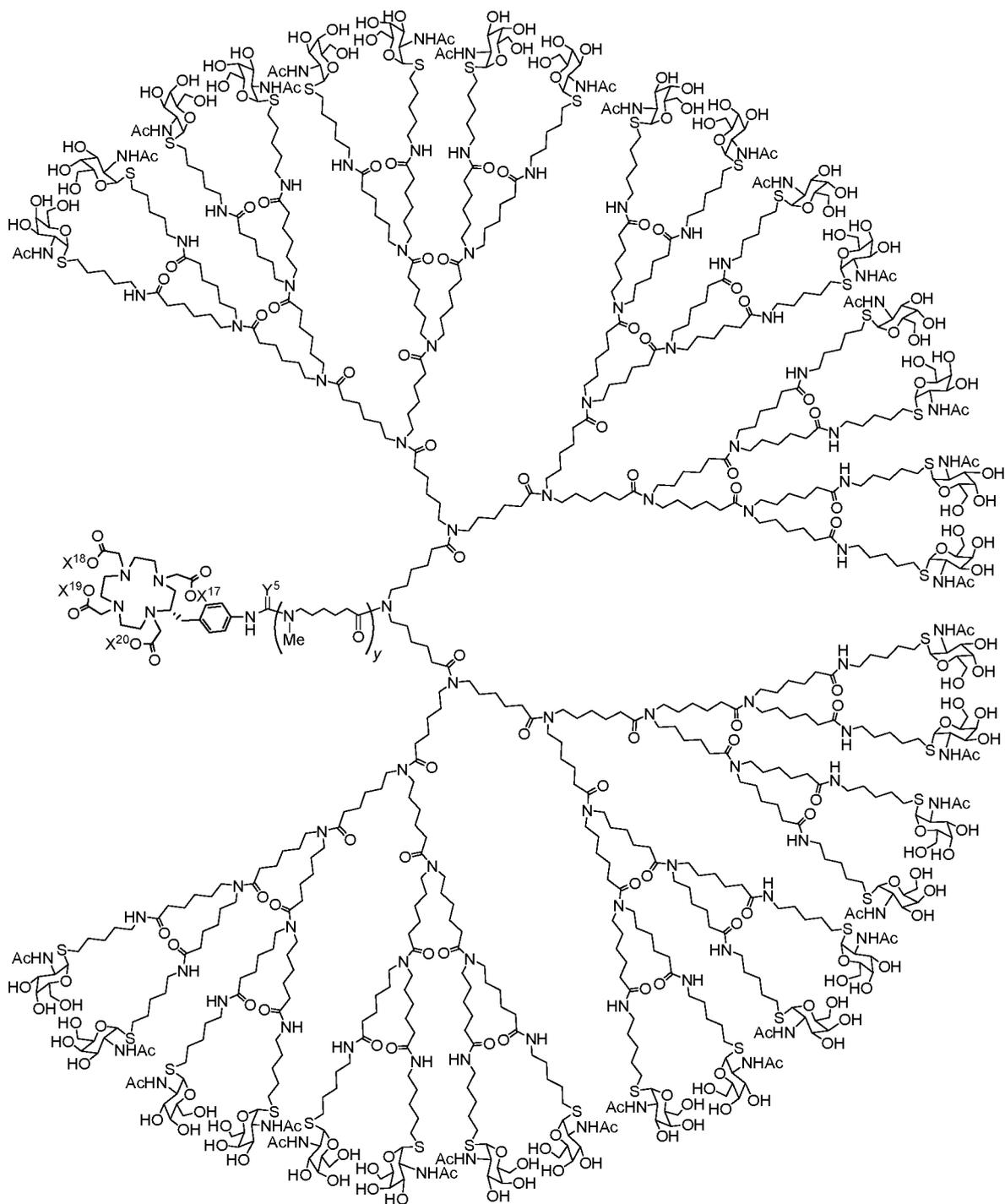
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение вида









или его фармацевтически приемлемая соль и/или сольват, в котором

$X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}, X^{12}, X^{13}, X^{14}, X^{15}, X^{16}, X^{17}, X^{18}, X^{19}$,

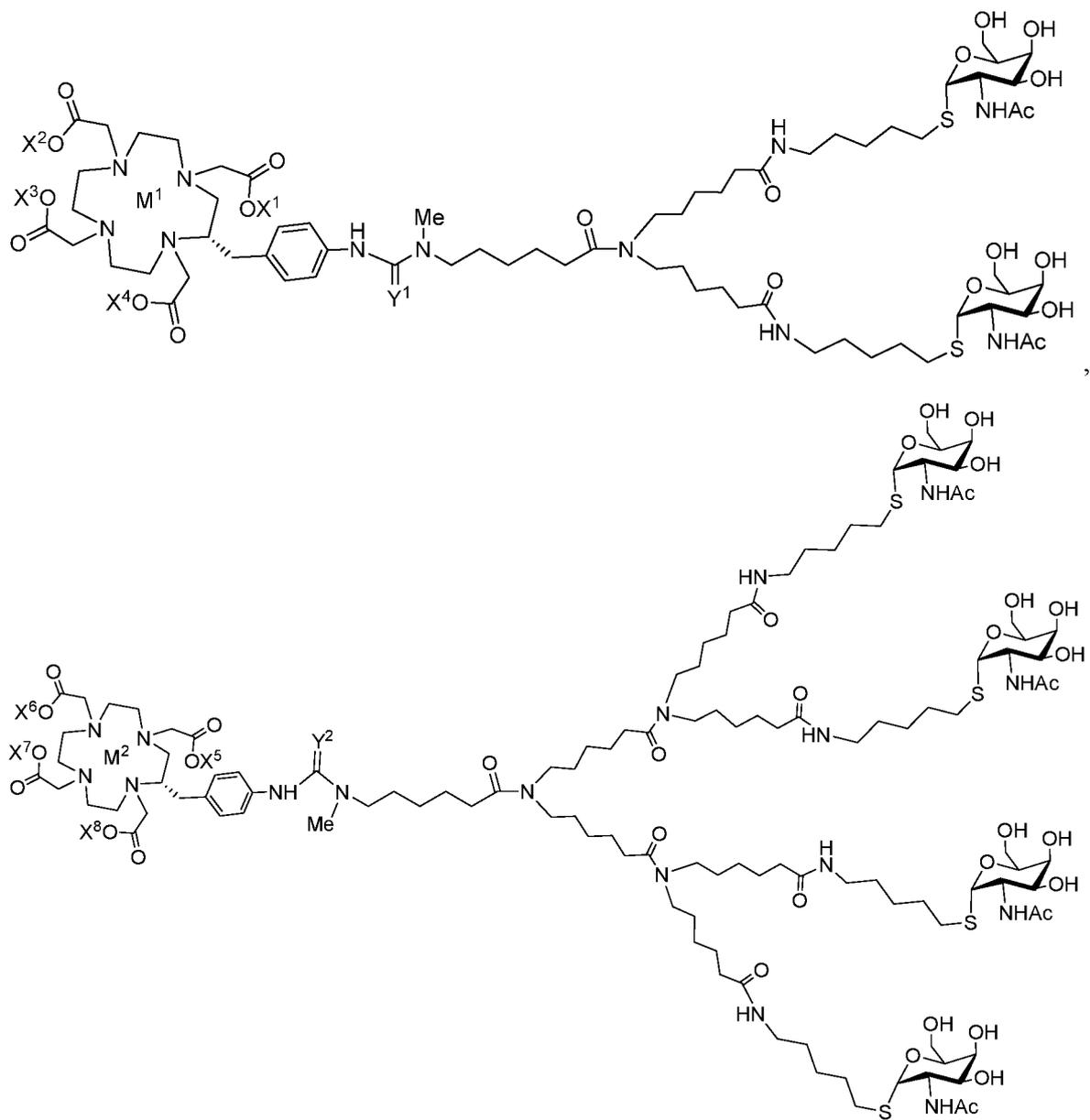
X^{20} каждый независимо представляет собой Н или неподеленную пару электронов (т.е. обеспечивает анион кислорода);

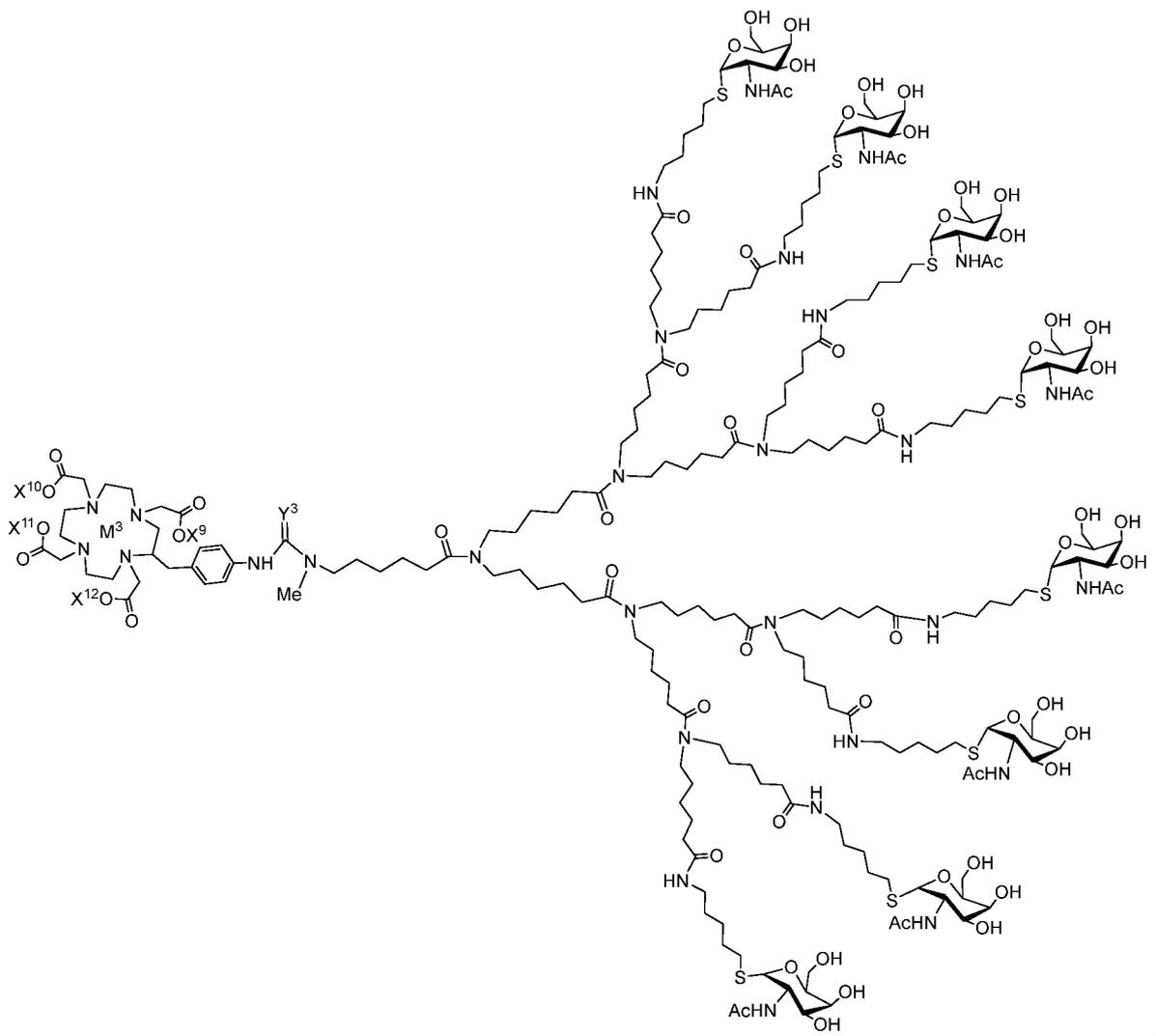
Y^1, Y^2, Y^3, Y^4, Y^5 каждый независимо представляет собой О или S;

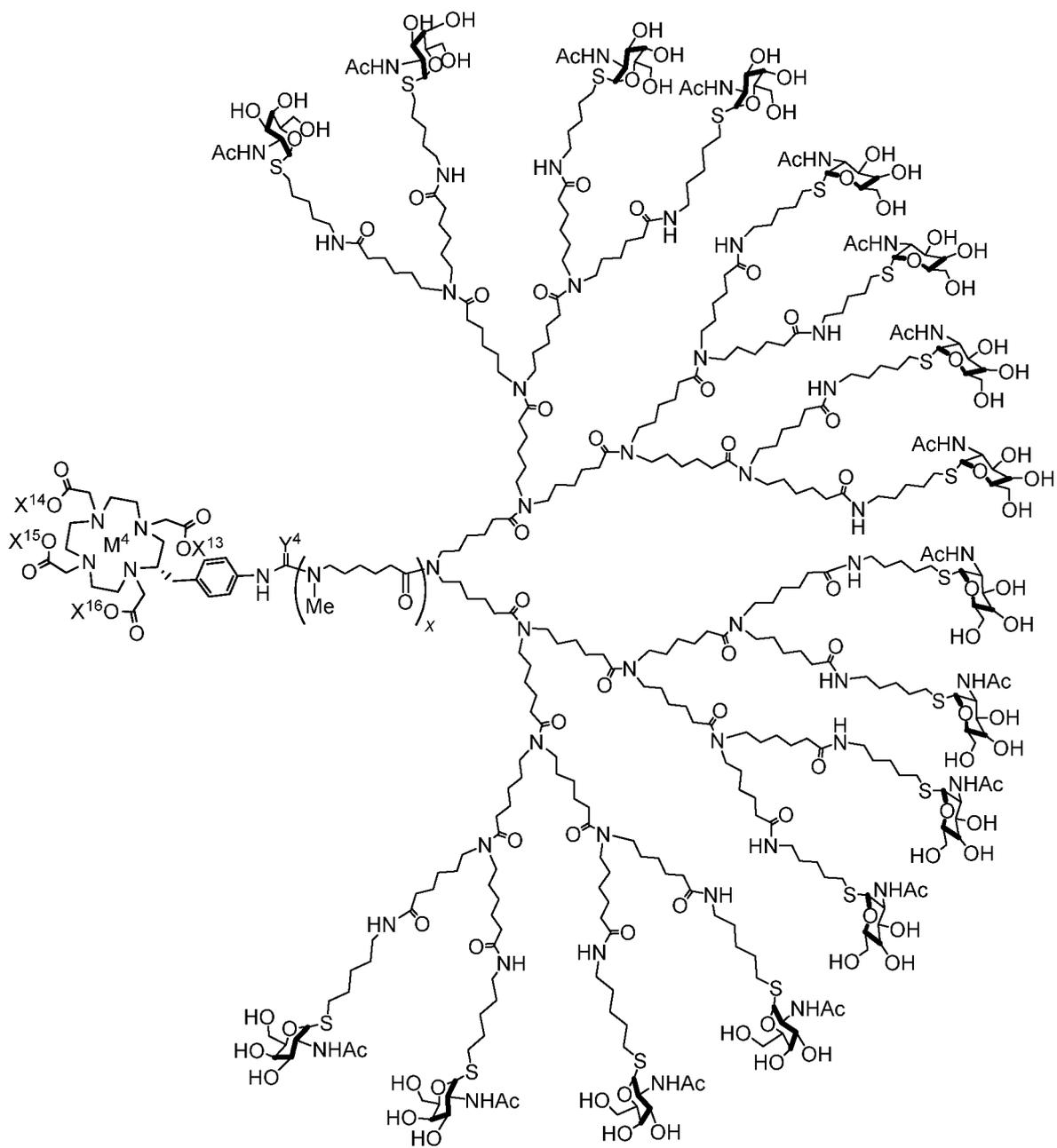
x равен 1, 2, или 3;

y равен 1, 2, 3, или 4.

2. Соединение очищающего агента вида







3

3. Соединение по п.2, в котором M^1, M^2, M^3, M^4, M^5 каждый независимо не является радионуклидом.
4. Соединение по любому из пп.1-3, в котором Y^1, Y^2, Y^3, Y^4, Y^5 каждый независимо представляет собой S.
5. Соединение по любому из пп. 1-4, в котором x равен 1 или 2.
6. Соединение по любому из пп. 1-5, в котором y равен 2 или 3.
7. Композиция, содержащая соединение по любому из пп. 1-6 и фармацевтически приемлемый носитель.
8. Способ увеличения чувствительности опухоли к лучевой терапии у субъекта с диагнозом рак, включающий:
 - (а) введение субъекту в эффективном количестве биспецифического антитела анти-DOТА, причем биспецифическое антитело анти-DOТА выполнено с возможностью локализации в опухоли, экспрессирующей мишень опухолевого антигена;
 - (б) введение субъекту в эффективном количестве очищающего агента по любому из пп. 2-7;
 - (в) введение субъекту в эффективном количестве радиомеченого гаптена DOТА, причем гаптен DOТА выполнен с возможностью образования комплекса с биспецифическим антителом анти-DOТА.
9. Способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий:
 - (а) введение субъекту в эффективном количестве биспецифического антитела анти-DOТА, причем биспецифическое антитело анти-DOТА выполнено с возможностью локализации в опухоли, экспрессирующей мишень опухолевого антигена;
 - (б) введение субъекту в эффективном количестве очищающего агента по любому из пп. 2-7;
 - (в) введение субъекту в эффективном количестве радиомеченого гаптена DOТА, причем гаптен DOТА выполнен с возможностью образования комплекса с биспецифическим антителом анти-DOТА.
10. Способ по п.9, дополнительно включающий последовательное, раздельное или одновременное введение субъекту по меньшей мере одного

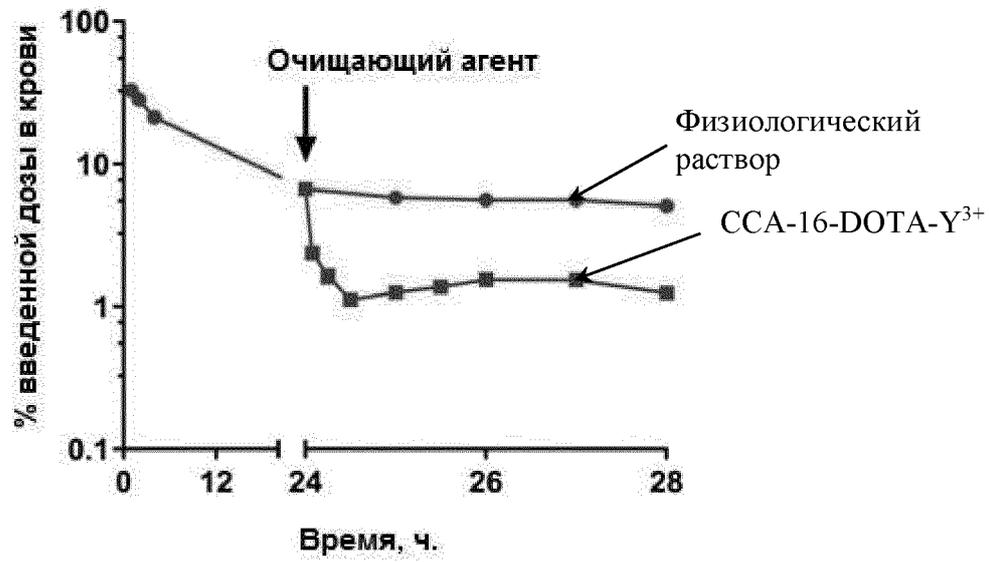
химиотерапевтического агента, выбранного из группы, состоящей из азотистых ипритов, производных этиленмина, алкилсульфонатов, нитрозомочевин, гемцитабина, триазенов, аналогов фолиевой кислоты, антрациклинов, таксанов, ингибиторов ЦОГ-2, аналогов пиримидина, аналогов пурина, антибиотиков, ингибиторов ферментов, эпиподофиллотоксинов, координационных комплексов платины, алкалоидов барвинка, замещенных мочевины, производных метилгидразина, адrenomокартикальных супрессоров, антагонистов гормонов, эндостатина, таксолов, камптотецинов, SN-38, доксорубицина, аналогов доксорубицина, антиметаболитов, алкилирующих агентов, антимитотиков, антиангиогенных агентов, ингибиторов тирозинкиназы, ингибиторов mTOR, ингибиторов белка теплового шока (HSP90), ингибиторов протеасом, ингибиторов HDAC, проапоптотических агентов, метотрексата, CPT-11.

11. Способ по любому из пп. 8-10, отличающийся тем, что мишень опухолевого антигена выбрана из группы, состоящей из GPA33, HER2/neu, GD2, MAGE-1, MAGE-3, BAGE, GAGE-1, GAGE-2, MUM-1, CDK4, N-ацетилглюкозаминилтрансферазы, p15, gp75, бета-катенина, ErbB2, ракового антигена 125 (CA-125), карциноэмбрионального антигена (CEA), RAGE, MART (антигена меланомы), MUC-1, MUC-2, MUC-3, MUC-4, MUC-5ac, MUC-16, MUC-17, тирозиназы, Pmel 17 (gp100), последовательности интрона GnT-V подтипа V (последовательности V интрона N-ацетилглюкозаминилтрансферазы подтипа V), рака простаты psm, PRAME (антигена меланомы), β -катенина, EBNA (ядерного антигена вируса Эпштейна-Барра) 1-6, p53, белка устойчивости рака легких к противоопухолевым препаратам (LRP) Bcl-2, простатоспецифического антигена (PSA), Ki-67, CEACAM6, специфического антигена-р толстой кишки (CSAp), HLA-DR, CD40, CD74, CD138, EGFR, EGP-1, EGP-2, VEGF, PlGF, инсулиноподобного фактора роста (ILGF), тенасцина, тромбоцитарного фактора роста, IL-6, CD20, CD19, PSMA, CD33, CD123, MET, DLL4, Ang-2, HER3, IGF-1R, CD30, TAG-72, SPEAP, CD45, L1-CAM, антигена Льюиса Y (Le^y), E-кадгерина, V-кадгерина, EpCAM.
12. Способ по любому из пп. 8-11, отличающийся тем, что биспецифическое антитело анти-DOТА вводят внутривенно, внутримышечно, внутриартериально, интратекально, интракапсулярно, внутриглазнично, внутрикожно, внутрибрюшинно, транстрахеально, подкожно, интрацеребровентрикулярно, перорально или интраназально.

13. Способ по любому из пп. 8-12, отличающийся тем, что радиомеченый гаптен DOTA вводят внутривенно, внутримышечно, внутриартериально, интратекально, интракапсулярно, внутриглазнично, внутрикожно, внутрибрюшинно, транстрахеально, подкожно, интрацеребровентрикулярно, перорально или интраназально.
14. Способ по любому из пп. 8-13, отличающийся тем, что очищающий агент вводят внутривенно, внутримышечно, внутриартериально, интратекально, интракапсулярно, внутриглазнично, внутрикожно, внутрибрюшинно, транстрахеально, подкожно, интрацеребровентрикулярно, перорально или интраназально.
15. Способ по любому из пп. 8-14, отличающийся тем, что рак выбран из группы, состоящей из рака груди, колоректального рака, рака шейки матки, рака яичников, рака печени, рака мочевого пузыря, гепатомы, гепатоцеллюлярной карциномы, рака мозга, рака легких, рака желудочно-кишечного тракта или рака желудка, рака поджелудочной железы, рака щитовидной железы, рака матки или рака почек, рака простаты, меланомы, саркомы, карциномы, опухоли Вильмса, рака эндометрия, глиобластомы, плоскоклеточного рака, астроцитомы, карциномы слюнной железы, рака вульвы, карциномы полового члена, рака головы и шеи.
16. Способ по п.15, отличающийся тем, что рак головного мозга представляет собой аденому гипофиза, менингиому, нейробластому или краниофарингиому.
17. Способ по любому из пп. 8-16, отличающийся тем, что комплекс излучает радиоактивные уровни, которые выражены в виде процента введенной дозы на грамм ткани (% ВД/г).
18. Способ по любому из пп. 8-17, отличающийся тем, что субъект демонстрирует отношение поглощения опухолью к поглощению здоровой тканью примерно 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 15:1, 20:1, 25:1, 30:1, 35:1, 40:1, 45:1, 50:1, 55:1, 60:1, 65:1, 70:1, 75:1, 80:1, 85:1, 90:1, 95:1 или 100:1.
19. Способ по любому из пп. 8-18, отличающийся тем, что радиомеченый гаптен DOTA помечен радионуклидом, выбранным из группы, состоящей из ^{213}Bi , ^{211}At , ^{225}Ac , ^{152}Dy , ^{212}Bi , ^{223}Ra , ^{219}Rn , ^{215}Po , ^{211}Bi , ^{221}Fr , ^{217}At , ^{255}Fm , ^{86}Y , ^{90}Y , ^{89}Sr , ^{165}Dy , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{177}Lu , ^{67}Cu , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{51}Cr , ^{58}Co , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, $^{103\text{m}}\text{Rh}$, $^{195\text{m}}\text{Pt}$, ^{119}Sb , ^{161}Ho , $^{189\text{m}}\text{Os}$, ^{192}Ir , ^{201}Tl , ^{203}Pb , ^{68}Ga , ^{227}Th , ^{64}Cu .

20. Способ по п.19, отличающийся тем, что радиомеченый гаптен DOTA включает один или несколько компонентов из Proteus-DOTA, *S*-2- (*R*-аминобензил) -1,4,7,10-тетраазаацетилдодекантетрауксусная кислота (DOTA-Bn), DOTA-Bn-биотин, BAD (((*S*)-2-(4-(2-бром)-ацетиламино)-бензил)-DOTA), NBD (((*S*)-2-(4-нитробензил)-DOTA), DOTA-RGD, DOTA-PEG-E(c(RGDyK))₂, DOTA-8-AOC-BBN, *p*-NO₂-Bn-DOTA, DOTA-PESIN, DOTA-биотин-саркозин (DOTA-биотин), моно 1,4,7,10-тетраазаацетилдодекан-1,4,7,10-тетрауксусной кислоты (сложный эфир *N*-гидроксисукцинимид) (DOTA-NHS) или DOTATyrLysDOTA.
21. Набор, содержащий соединение по любому из пп. 1-7 и инструкции по применению.
22. Набор по п.21, дополнительно содержащий по меньшей мере одно биспецифическое антитело анти-DOTA.
23. Набор по п. 22, отличающийся тем, что по меньшей мере одно биспецифическое антитело анти-DOTA связывается с мишенью опухолевого антигена, выбранного из группы, состоящей из GpA33, HER2/neu, GD2, MAGE-1, MAGE-3, BAGE, GAGE-1, GAGE-2, MUM-1, CDK4, *N*-ацетилглюкозаминилтрансферазы, *p*15, *gp*75, бета-катенина, ErbB2, ракового антигена 125 (CA-125), карциноэмбрионального антигена (CEA), RAGE, MART (антигена меланомы), MUC-1, MUC-2, MUC-3, MUC-4, MUC-5ac, MUC-16, MUC-17, тирозиназы, Pmel 17 (*gp*100), последовательности интрона GnT-V подтипа V (последовательности V интрона *N*-ацетилглюкозаминилтрансферазы подтипа V), рака простаты *psm*, PRAME (антигена меланомы), β-катенина, EBNA (ядерного антигена вируса Эпштейна-Барра) 1-6, *p*53, белка устойчивости рака легких к противоопухолевым препаратам (LRP) Vcl-2, простатоспецифического антигена (PSA), Ki-67, CEACAM6, специфического антигена-*p* толстой кишки (CSAp), HLA-DR, CD40, CD74, CD138, EGFR, EGP-1, EGP-2, VEGF, PlGF, инсулиноподобного фактора роста (ILGF), тенасцина, тромбоцитарного фактора роста, IL-6, CD20, CD19, PSMA, CD33, CD123, MET, DLL4, Ang-2, HER3, IGF-1R, CD30, TAG-72, SPEAP, CD45, L1-CAM, антигена Льюиса Y (Le^y), E-кадгерина, V-кадгерина, EpCAM.
24. Набор по любому из пп. 21-23, дополнительно содержащий гаптен DOTA, который необязательно помечен одним или несколькими радионуклидами.
25. Набор по п.24, в котором один или несколько радионуклидов выбраны из группы, состоящей из ²¹³Bi, ²¹¹At, ²²⁵Ac, ¹⁵²Dy, ²¹²Bi, ²²³Ra, ²¹⁹Rn, ²¹⁵Po, ²¹¹Pb, ²²¹Fr, ²¹⁷At, ²⁵⁵Fm, ⁸⁶Y, ⁹⁰Y, ⁸⁹Sr, ¹⁶⁵Dy, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁷⁷Lu, ⁶⁷Cu, ¹¹¹In, ⁶⁷Ga, ⁵¹Cr, ⁵⁸Co, ^{99m}Tc, ^{103m}Rh, ^{195m}Pt, ¹¹⁹Sb, ¹⁶¹Ho, ^{189m}Os, ¹⁹²Ir, ²⁰¹Tl, ²⁰³Pb, ⁶⁸Ga, ²²⁷Th, ⁶⁴Cu.

ФИГ. 1



ФИГ. 2

Доза ССА-16-ДОТА- Y^{3+}	n	Кровь (%ВД/г)	Опухоль (%ВД/г)	Опухоль/Кровь
0 мкг несущая среда	4	11,9 ± 0,36	34,7 ± 4,04	2,9 ± 0,4
2,5 мкг/0,276 нмоль	4	11,1 ± 1,15	32,5 ± 1,76	2,9 ± 0,3
5 мкг/0,552 нмоль	4	9,47 ± 0,28***	41,2 ± 3,55	4,4 ± 0,4
10 мкг/1,10 нмоль	4	6,42 ± 1,25**	31,5 ± 6,34	4,9 ± 1,4
15 мкг/1,65 нмоль	4	1,27 ± 0,21***	33,3 ± 4,42	26,3 ± 5,5
20 мкг/2,21 нмоль	4	0,46 ± 0,13***	27,2 ± 5,17	59,2 ± 20,0
25 мкг/2,76 нмоль	3	0,40 ± 0,18***	30,8 ± 5,07	76,4 ± 36,2
ОА на основе декстрана 62,5 мкг/0,125 нмоль декстран/7,625 нмоль (Y)ДОТА	4	0,45 ± 0,09***	34,6 ± 4,50	77,3 ± 19,2

*** $P < 0,001$ в сравнении с несущей средой

** $P < 0,01$ в сравнении с несущей средой

* $P < 0,05$ в сравнении с несущей средой

ОА – очищающий агент

ФИГ. 3

Доза ССА-16-ДОТА- Y^{3+}	n	Кровь (%ВД/г)	Опухоль (%ВД/г)	Опухоль/Кровь
25 мкг	4	$0,60 \pm 0,04$	$18,9 \pm 2,23$	$31,3 \pm 4,3$
30 мкг	3	$0,62 \pm 0,15$	$15,4 \pm 1,78$	$24,7 \pm 6,4$
35 мкг	3	$0,34 \pm 0,03^{**}$	$17,0 \pm 1,82$	$50,1 \pm 7,2$
40 мкг	3	$0,28 \pm 0,03^{**}$	$13,8 \pm 1,16$	$49,3 \pm 7,4$

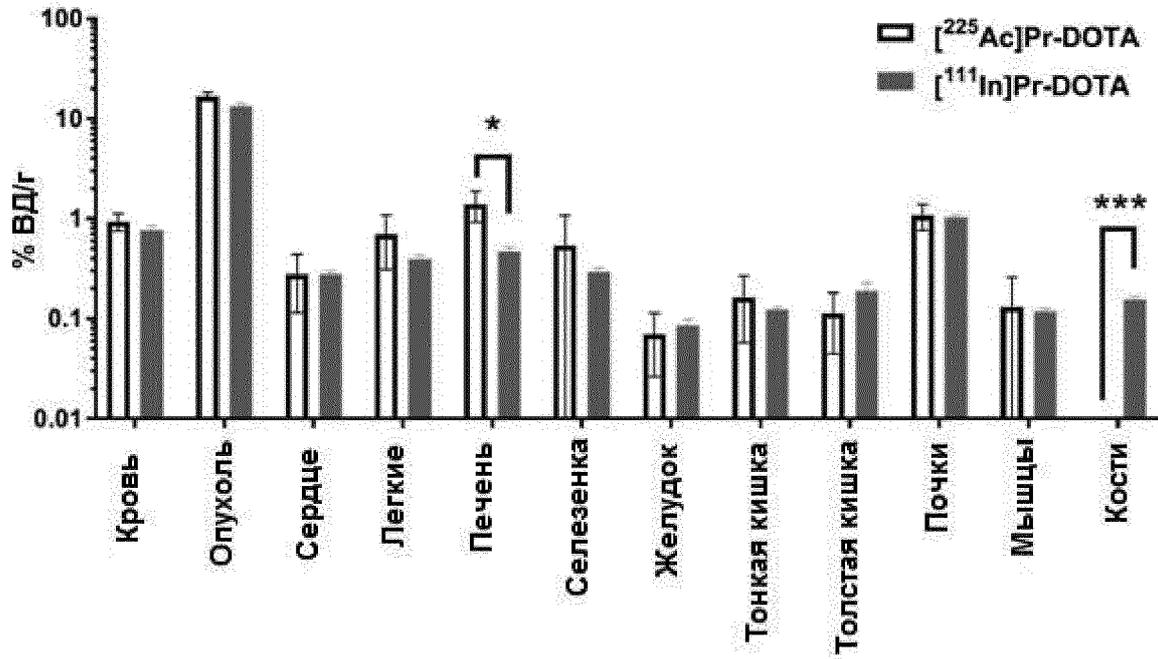
ФИГ. 4

Орган	0 мкг, несущая среда (<i>n</i> = 4), 24 ч п.в.	25 мкг, ОА на основе дендронов (<i>n</i> = 3), 24 ч п.в.	62,5 мкг, ОА на основе декстрана (<i>n</i> = 4), 24 ч п.в.
Кровь	11,89 ± 0,36	0,40 ± 0,18	0,45 ± 0,09
Опухоль SW1222	34,69 ± 4,04	30,80 ± 5,07	34,60 ± 4,50
Сердце	3,93 ± 0,26	0,16 ± 0,07	0,10 ± 0,05
Легкие	3,18 ± 0,46	0,39 ± 0,06	0,51 ± 0,07
Печень	5,31 ± 0,80	0,31 ± 0,11	0,51 ± 0,09
Селезенка	3,42 ± 0,47	0,10 ± 0,07	0,52 ± 0,17
Желудок	1,17 ± 0,14	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00
Тонкая кишка	1,34 ± 0,11	0,07 ± 0,02	0,06 ± 0,02
Толстая кишка	0,97 ± 0,21	0,13 ± 0,02	0,15 ± 0,01
Почки	2,86 ± 0,81	0,69 ± 0,14	0,63 ± 0,09
Мышцы	0,97 ± 0,36	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,05
Кости	1,93 ± 0,14	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

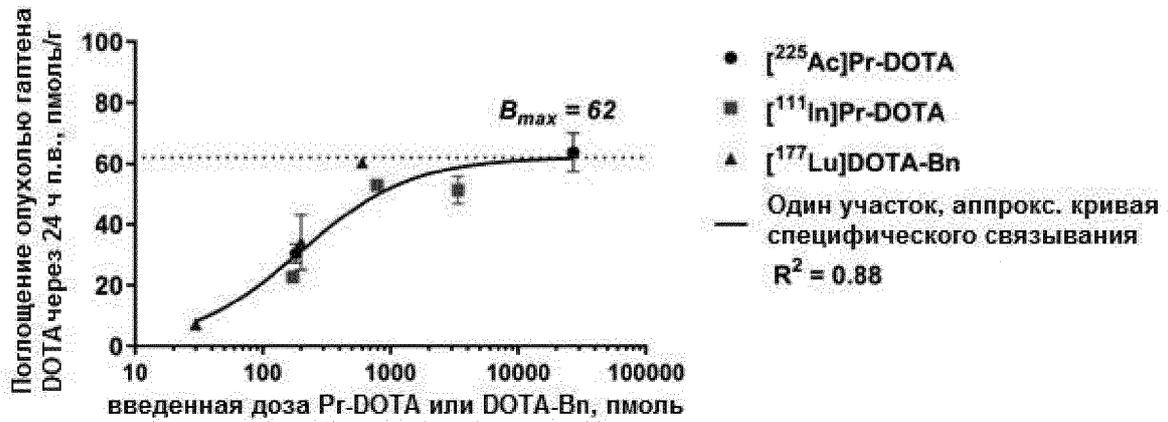
*Отношение опухоли**к ткани*

Кровь	2,9 ± 0,4	76,4 ± 36,2	77,3 ± 19,2
Сердце	8,8 ± 1,2	189 ± 91,2	364 ± 212
Легкие	10,9 ± 2,0	79,7 ± 17,4	67,8 ± 12,5
Печень	6,5 ± 1,2	99,4 ± 38,0	67,5 ± 15,1
Селезенка	10,1 ± 1,8	298 ± 220	66,5 ± 23,4
Желудок	29,6 ± 4,9	1320 ± 435	3460 ± 1482
Тонкая кишка	25,9 ± 3,7	440,0 ± 120,3	602 ± 225
Толстая кишка	35,8 ± 8,9	236,9 ± 47,9	231 ± 34,3
Почки	12,1 ± 2,2	44,9 ± 12,0	54,7 ± 10,3
Мышцы	35,9 ± 7,9		494 ± 355
Кости	20,3 ± 2,6		

ФИГ. 5А



ФИГ. 5Б



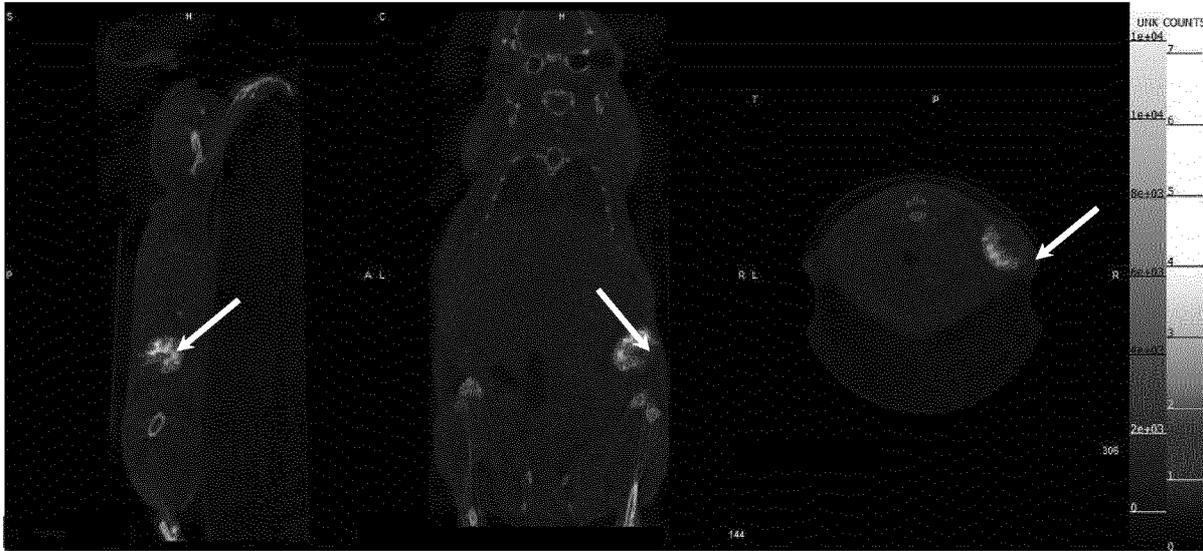
ФИГ. 6А

Орган	Предварительно направленный [¹¹¹ In]1 (<i>n</i> = 4), 172 пмоль/1,67 МБк [45 мкКи], 24 ч п.в.	Предварительно направленный [¹¹¹ In]1 (<i>n</i> = 1), 790 пмоль/7,67 МБк [207 мкКи], 24 ч п.в.
Кровь	0,76 ± 0,19	0,16
Опухоль SW1222	13,19 ± 1,94	6,70
Сердце	0,28 ± 0,04	0,09
Легкие	0,40 ± 0,07	0,17
Печень	0,47 ± 0,10	0,22
Селезенка	0,29 ± 0,06	0,10
Желудок	0,09 ± 0,03	0,03
Тонкая кишка	0,12 ± 0,02	0,06
Толстая кишка	0,19 ± 0,08	0,06
Почки	1,02 ± 0,19	0,65
Мышцы	0,12 ± 0,02	0,04
Кости	0,16 ± 0,03	0,05
<i>Отношение опухоли к ткани</i>		
Кровь	17,3 ± 4,4	41,1
Сердце	47,5 ± 12,1	75,3
Легкие	33,4 ± 8,5	40,5
Печень	28,4 ± 7,2	31,2
Селезенка	45,1 ± 11,4	65,8
Желудок	155,1 ± 39,8	229
Тонкая кишка	107,6 ± 27,5	110
Толстая кишка	70,3 ± 18,9	119
Почки	12,9 ± 3,3	10
Мышцы	112,2 ± 28,5	162
Кости	85,1 ± 21,7	127

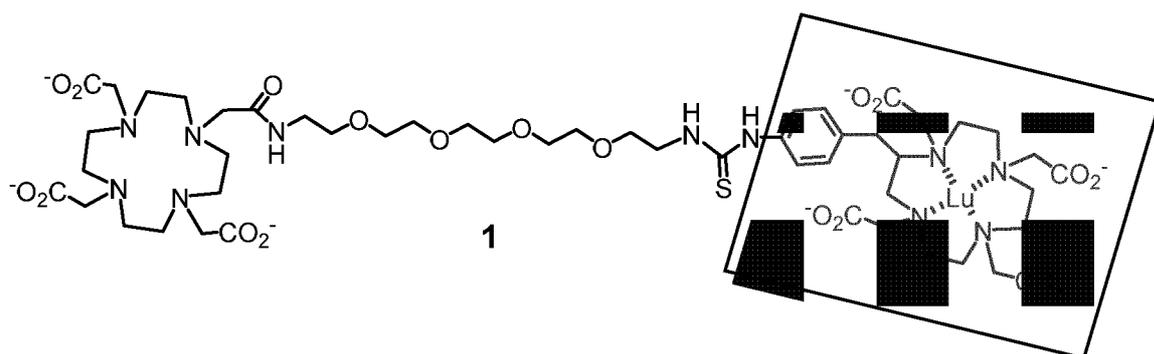
ФИГ. 6Б

Орган	Предварительно направленный [^{225}Ac]1 (n = 3), 182 пмоль/1,85 кБк [50 нКи]	Предварительно направленный [^{111}In]1 (n = 4), 172 пмоль/1,67 МБк [45 мкКи]	Значение <i>p</i>
Кровь	0,94 ± 0,26 ^a	0,76 ± 0,19	0,385
Опухоль SW1222	16,71 ± 2,95	13,19 ± 1,94	0,475
Сердце	0,28 ± 0,28	0,28 ± 0,04	0,242
Легкие	0,70 ± 0,67	0,40 ± 0,07	0,202
Печень	1,40 ± 0,82	0,47 ± 0,10	0,066
Селезенка	0,54 ± 0,93	0,29 ± 0,06	0,256
Желудок	0,07 ± 0,08	0,09 ± 0,03	0,448
Тонкая кишка	0,16 ± 0,18	0,12 ± 0,02	0,305
Толстая кишка	0,11 ± 0,12	0,19 ± 0,08	0,264
Почки	1,08 ± 0,55	1,02 ± 0,19	0,374
Мышцы	0,13 ± 0,23	0,12 ± 0,02	0,378
Кости	^b	0,16 ± 0,03	

ФИГ. 7



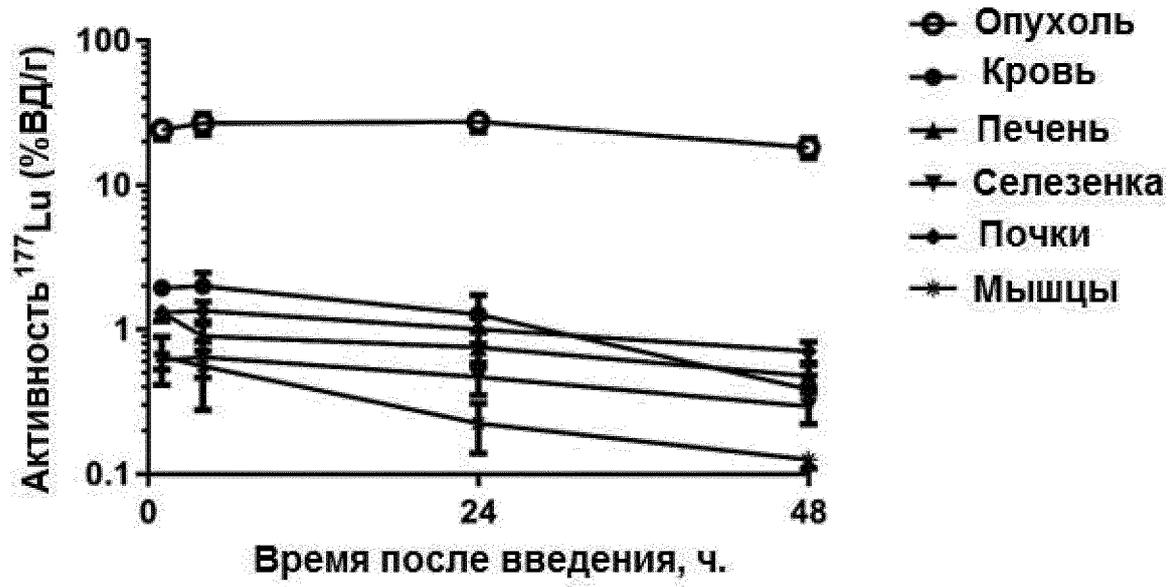
ФИГ. 8



ФИГ. 9

Ткань	Активность ^{177}Lu через 1 ч п.в. (%ВД/г)	Активность ^{177}Lu через 4 ч п.в. (%ВД/г)	Активность ^{177}Lu через 24 ч п.в. (%ВД/г)	Активность ^{177}Lu через 48 ч п.в. (%ВД/г)
Кровь	$1,93 \pm 0,17$	$1,99 \pm 0,47$	$1,27 \pm 0,45$	$0,39 \pm 0,10$
Опухолевая	$24,22 \pm 3,50$	$26,87 \pm 4,53$	$27,40 \pm 4,17$	$18,24 \pm 2,89$
Сердечно- мышечная	$0,94 \pm 0,22$	$0,81 \pm 0,13$	$0,51 \pm 0,17$	$0,26 \pm 0,16$
Легочная	$1,43 \pm 0,23$	$1,40 \pm 0,30$	$0,97 \pm 0,33$	$0,53 \pm 0,24$
Печеночная	$1,31 \pm 0,17$	$0,90 \pm 0,19$	$0,75 \pm 0,20$	$0,48 \pm 0,09$
Селезеночная	$0,61 \pm 0,08$	$0,64 \pm 0,18$	$0,47 \pm 0,12$	$0,29 \pm 0,07$
Желудочная	$0,73 \pm 1,21$	$0,12 \pm 0,04$	$0,13 \pm 0,04$	$0,06 \pm 0,03$
Тонкокишечная	$0,87 \pm 0,51$	$0,23 \pm 0,04$	$0,19 \pm 0,04$	$0,08 \pm 0,01$
Толстокишечная	$0,11 \pm 0,02$	$0,83 \pm 0,13$	$0,24 \pm 0,02$	$0,16 \pm 0,01$
Почечная	$1,31 \pm 0,11$	$1,35 \pm 0,21$	$1,00 \pm 0,20$	$0,70 \pm 0,12$
Мышечная	$0,65 \pm 0,24$	$0,56 \pm 0,28$	$0,22 \pm 0,08$	$0,13 \pm 0,02$
Костная	$0,56 \pm 0,16$	$0,24 \pm 0,05$	$0,25 \pm 0,07$	$0,12 \pm 0,03$

ФИГ. 10



ФИГ. 11

Ткань	Поглощенная доза (сГр/МБк)	Терапевтический индекс
Кровь	11,7	40
Опухолевая	468,4	---
Сердечно-мышечная	2,66	176
Легочная	10,7	44
Печеночная	9,97	47
Селезеночная	5,49	85
Желудочная	0,86	545
Тонкокишечная	1,16	404
Толстокишечная	1,87	250
Почечная	13,3	35
Мышечная	3,73	126
Костная	3,68	127