

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202292082** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2023.02.20**

(51) Int. Cl. *A61K 51/04* (2006.01)  
*C07D 257/02* (2006.01)  
*A61P 37/02* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2021.01.08**

---

(54) **МАКРОЦИКЛИЧЕСКИЕ ХЕЛАТЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

---

(31) **62/959,665**

(32) **2020.01.10**

(33) **US**

(86) **PCT/US2021/012697**

(87) **WO 2021/142258 2021.07.15**

(71) Заявитель:  
**ФБЮЖН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ  
ИНК. (СА)**

(72) Изобретатель:

**Мэхони Стюарт Дж., Йохансен  
Майкл Б., Моран Мэттью Д., Шассе  
Мелисса, Симмс Райан У., Бьюрак  
Эрик С., Вэллиант Джон Ф. (СА)**

(74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

---

(57) Изобретение относится к макроциклическим хелатам, включающим макроциклический хелатирующий фрагмент его комплекса с металлом, бифункциональный линкер и терапевтический или нацеливающий фрагмент. Также описаны способы их получения и их применение.

**A1**

**202292082**

**202292082**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-575163EA/019

### МАКРОЦИКЛИЧЕСКИЕ ХЕЛАТЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

#### СВЯЗАННАЯ ЗАЯВКА

По настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной заявки на патент США № 62/959665, поданной 10 января 2020 г.; все содержание которой настоящим включено посредством ссылки для всех целей.

#### ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Радиоконъюгаты или радиоактивно меченные нацеливающие фрагменты широко используются в тераностических применениях. Обычно они содержат хелат, способный образовывать комплексы с радионуклидом, линкером и нацеливающим фрагментом или сшивающей группой. Радиоконъюгаты обычно получают с использованием бифункционального хелатора для добавления радиоактивной метки к биологической молекуле при сохранении аффинности к мишени.

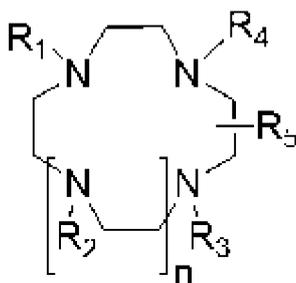
Одной из основных проблем, связанных с радиоконъюгатами, остается идентификация хелатной структуры сложных тераностических пар металлов, таких как цирконий (Zr) и актиний (Ac), атомы которых обладают различными свойствами. Например, Zr и Ac имеют разные размеры, их ионный радиус составляет 0,59 Å и 1,12 Å, соответственно (*Acta Crystallogr. Sect. A* 1976, 32, 751-767), и они имеют разные заряды, 4<sup>+</sup> и 3<sup>+</sup>, соответственно. Кроме того, известные в настоящее время радиоконъюгаты часто не обладают достаточной стабильностью *in vivo*, что ограничивает их медицинское применение. Кроме того, некоторые хелаты в процессе мечения радиоактивным изотопом требуют повышенных температурных условий, что несовместимо с наличием нацеливающего фрагмента (например, повышенная температура может повредить структурную целостность нацеливающего фрагмента антитела) или сшивающей группы, предварительно конъюгированной с бифункциональным хелатором, что является еще одним фактором, ограничивающим их использование в соответствующих областях.

Существует необходимость в разработке новых хелатов, которые в мягких условиях образуют стабильные комплексы как металлов, подходящих для визуализации (например, <sup>89</sup>Zr), так и металлов, подходящих для терапии (например, <sup>225</sup>Ac), для тераностических применений.

#### СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к макроциклическим хелатам, которые в мягких условиях неожиданно образуют стабильные комплексы как с <sup>89</sup>Zr для визуализации (например, для позитронно-эмиссионной томографии или PET), так и с <sup>225</sup>Ac для терапии (например, для лечения рака).

Один аспект данного изобретения включает некоторые соединения, имеющие структурную формулу (I), показанную ниже, или их комплексы с металлами, или их фармацевтически приемлемые соли:



(I),

где

$R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой -L-U,  $R_4$  представляет собой -X-W и  $R_5$  представляет собой H, -L-U или -X-W; или  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  и  $R_4$ , каждый, независимо, представляют собой -L-U и  $R_5$  представляет собой -X-W; и

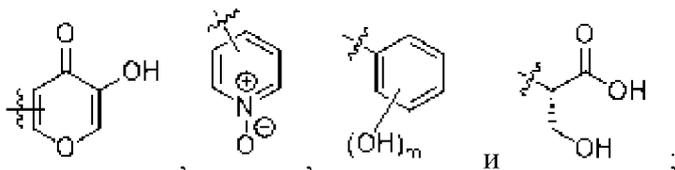
$n$  обозначает целое число 0-3,

где

L представляет собой необязательно замещенный  $C_{1-3}$  алкилен;

U представляет собой необязательно замещенную карбоновую кислоту или необязательно замещенную фосфоновую кислоту;

W представляет собой способную координироваться с радиометаллом донорную группу, в которой донорный фрагмент представляет собой необязательно замещенный гидроксипиридинон или группу, выбранную из группы, включающей



$m$  обозначает целое число 1-3; и

X представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где R представляет собой H, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный гетероалкил или  $-L^3-Z_2-B$ ,

где

$L^1$  и  $L^2$ , каждый, независимо, представляют собой связь, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  алкилен или необязательно замещенный  $C_1-C_6$  гетероалкилен;

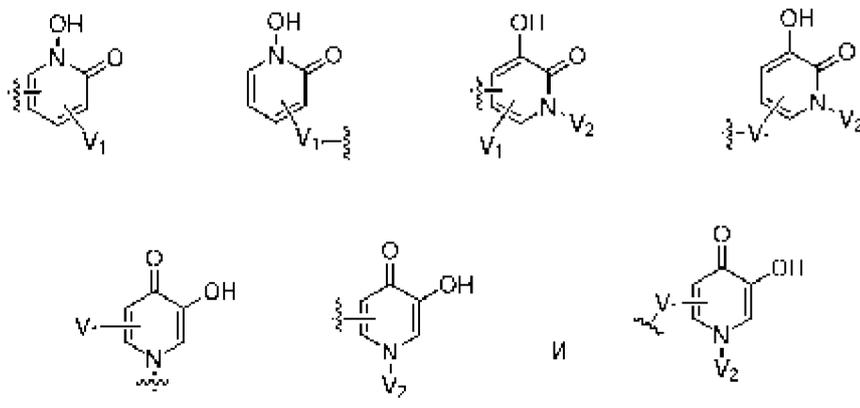
$L^3$  представляет собой необязательно замещенный  $C_1-C_{50}$  алкилен или необязательно замещенный  $C_1-C_{50}$  гетероалкилен или  $C_5-C_{20}$  полиэтиленгликоль;

$Z_1$  представляет собой связь,  $C=O(NR^4)$ ,  $C=S(NR^4)$ ,  $OC=O(NR^4)$ ,  $NR^4C=O(O)$ ,  $NR^4C=O(NR^4)$ ,  $-CH_2PhC=O(NR^4)$ ,  $-CH_2Ph(NR^4)C=O$  или  $-CH_2Ph(NH)C=S(NR^4)$ , каждый  $R^4$  независимо представляет собой H, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  алкил, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  гетероалкил или необязательно замещенный арил или гетероарил;

$Z_2$  представляет собой  $C=O$ ,  $-NR'-C(=O)-$  или  $-NR'-C(=O)-R''$ , где  $R'$  представляет собой H или  $C_1-C_6$  алкил и  $R''$  представляет собой  $C_1-C_{20}$  алкилен,  $C_2-C_{20}$  гетероалкилен или арилен; и

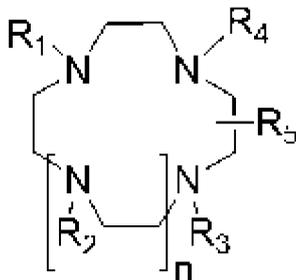
В представляет собой терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или поперечно-связывающую группу.

В некоторых вариантах осуществления изобретения W представляет собой необязательно замещенный гидроксипиридинон, имеющий одну из структур, показанных ниже:



в которой  $V_1$  отсутствует или представляет собой конденсированный арил или гетероарил, конденсированный карбоцикл или гетероцикл, алкил, простой эфир, спирт, кислоту, сложный эфир, амид, фосфонат или сульфонат; и  $V_2$  представляет собой H, алкил или ацил.

Другой аспект данного изобретения включает некоторые соединения, имеющие структурную формулу (I), показанную ниже, или их комплексы с металлами, или их фармацевтически приемлемые соли:



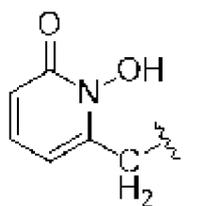
(I),

где

$R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой -L-U,  $R_4$  представляет собой -X-W и  $R_5$  представляет собой H, -L-U или -X-W; или  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  и  $R_4$ , каждый, независимо, представляют собой -L-U и  $R_5$  представляет собой -X-W; и

$n$  обозначает целое число 0-3, когда  $n$  обозначает 0 и  $R_5$  представляет собой H,  $R_1$ ,  $R_3$

и  $R_4$ , все, не являются



где

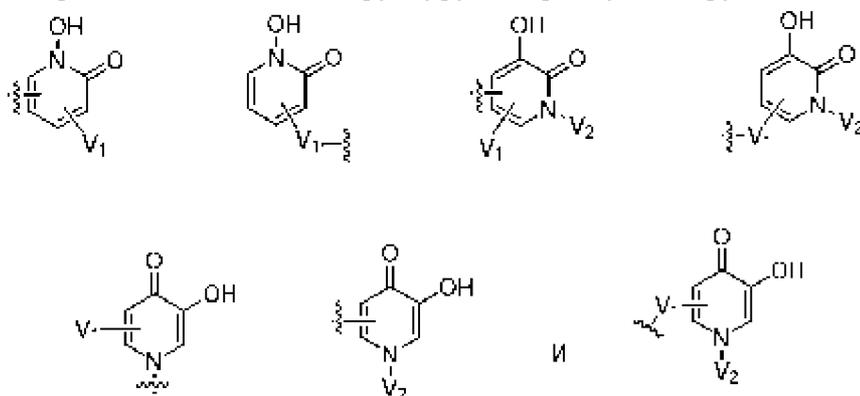
L представляет собой C=O или -CH(R)-, где R представляет собой H, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный гетероалкил или -L<sup>1</sup>-Z<sub>1</sub>-L<sup>2</sup>-Z<sub>2</sub>-B;

U представляет собой необязательно замещенный арил, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенную карбоновую кислоту или необязательно замещенную фосфовую кислоту; или -L-U представляет собой -L<sup>1</sup>-Z<sub>1</sub>-L<sup>2</sup>-Z<sub>2</sub>-B;

по меньшей мере один из R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> содержит U в виде необязательно замещенного гетероарила;

X представляет собой C=O или необязательно замещенный C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилен; и

W представляет собой донорную группу, способную координироваться с радиометаллом, где донорная группа представляет собой необязательно замещенный гидроксипиридинон, имеющий структуру, выбранную из группы, включающей



в которой V<sub>1</sub> отсутствует или представляет собой конденсированный арил или гетероарил, конденсированный карбоцикл или гетероцикл, алкил, простой эфир, спирт, кислоту, сложный эфир, амид, фосфонат или сульфонат; и V<sub>2</sub> представляет собой H, алкил или ацил,

где

L<sup>1</sup> представляет собой связь, необязательно замещенный C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен или необязательно замещенный C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> гетероалкилен;

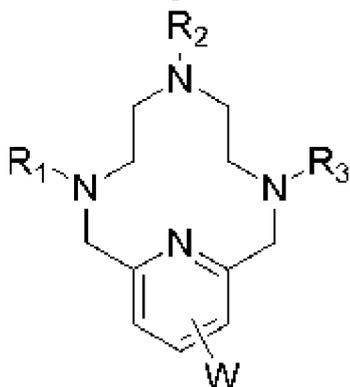
Z<sub>1</sub> представляет собой связь, C=O(NR<sup>4</sup>), C=S(NR<sup>4</sup>), OC=O(NR<sup>4</sup>), NR<sup>4</sup>C=O(O), NR<sup>4</sup>C=O(NR<sup>4</sup>), -CH<sub>2</sub>PhC=O(NR<sup>4</sup>), -CH<sub>2</sub>Ph(NR<sup>4</sup>)C=O или -CH<sub>2</sub>Ph(NH)C=S(NR<sup>4</sup>), каждый R<sup>4</sup> независимо представляет собой H, необязательно замещенный C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил, необязательно замещенный C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> гетероалкил или необязательно замещенный арил или гетероарил;

L<sup>2</sup> представляет собой необязательно замещенный C<sub>1</sub>-C<sub>50</sub> алкилен или необязательно замещенный C<sub>1</sub>-C<sub>50</sub> гетероалкилен или C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> полиэтиленгликоль;

Z<sub>2</sub> представляет собой C=O, -NR'-(C=O)- или -NR'-(C=O)-R'', где R' представляет собой H или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкил и R'' представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> алкилен, C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub> гетероалкилен или арилен; и

B представляет собой терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или поперечно-связывающую группу.

Следующий аспект данного изобретения включает некоторые соединения, имеющие структурную формулу (II), показанную ниже, или их комплексы с металлами, или их фармацевтически приемлемые соли:



(II),

где

$R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой  $-L-U$  и  $W$  представляет собой  $H$  или  $-L^1-Z_1-L^2-Z_2-V$ ,

где

$L$  представляет собой  $C=O$  или  $-CH(R)-$ , где  $R$  представляет собой  $H$ , необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный гетероалкил или  $-L^1-Z_1-L^2-Z_2-V$ ;

$U$  представляет собой необязательно замещенный арил, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенную карбоновую кислоту или необязательно замещенную фосфоновую кислоту; или  $-L-U$  представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-Z_2-V$ ;

по меньшей мере один из  $R_1-R_3$  содержит  $U$  в виде необязательно замещенного гетероарила;

где

$L^1$  представляет собой связь, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  алкилен или необязательно замещенный  $C_1-C_6$  гетероалкилен;

$Z_1$  представляет собой связь,  $C=O(NR^4)$ ,  $C=S(NR^4)$ ,  $OC=O(NR^4)$ ,  $NR^4C=O(O)$ ,  $NR^4C=O(NR^4)$ ,  $-CH_2PhC=O(NR^4)$ ,  $-CH_2Ph(NR^4)C=O$  или  $-CH_2Ph(NH)C=S(NR^4)$ , каждый  $R^4$  независимо представляет собой  $H$ , необязательно замещенный  $C_1-C_6$  алкил, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  гетероалкил или необязательно замещенный арил или гетероарил;

$L^2$  представляет собой необязательно замещенный  $C_1-C_{50}$  алкилен или необязательно замещенный  $C_1-C_{50}$  гетероалкилен или  $C_5-C_{20}$  полиэтиленгликоль;

$Z_2$  представляет собой  $C=O$ ,  $-NR'-(C=O)-$  или  $-NR'-(C=O)-R''$ , где  $R'$  представляет собой  $H$  или  $C_1-C_6$  алкил и  $R''$  представляет собой  $C_1-C_{20}$  алкилен,  $C_2-C_{20}$  гетероалкилен или арилен; и

$V$  представляет собой терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или поперечно-связывающую группу.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения, описанные выше, включают переменную группу  $V$  в виде терапевтического фрагмента или нацеливающего

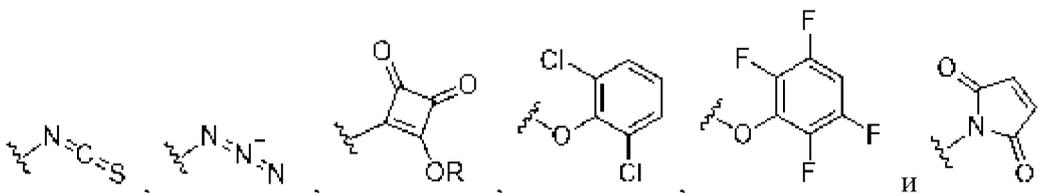
фрагмента. Терапевтический фрагмент или нацеливающий фрагмент могут представлять собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает инсулиноподобный рецептор фактора роста 1 (IGF-1R).

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения, описанные выше, включают переменную группу В в виде поперечно-связывающей группы. Поперечно-связывающая группа может быть выбрана из аминореактивной поперечно-связывающей группы, метионинреактивной поперечно-связывающей группы и тиолреактивной поперечно-связывающей группы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения поперечно-связывающая группа содержит фрагмент, выбранный из активированного сложного эфира, имидата, ангидрида, тиола, дисульфида, малеимида, азиды, алкина, напряженного алкина, напряженного алкена, галогена, сульфоната, галоацетила, амина, гидразида, диазирина, фосфина, тетразина, изотиоцианата и оксазиридина. Каждый из этих фрагментов относится к химической группе, обычно используемой в данной области и известной специалисту в данной области. Например, активированный сложный эфир может представлять собой сложный эфир гидроксисукцинимиды, сложный эфир 2,3,5,6-тетрафторфенола, сложный эфир 2,6-дихлорфенола или сложный эфир 4-нитрофенола.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения содержат переменную группу В в виде поперечно-связывающей группы, выбранной из группы, включающей:



В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения, описанные выше, включают комплекс металла, который содержит металл, выбранный из группы, включающей Bi, Pb, Y, Mn, Cr, Fe, Co, Zn, Ni, In, Ga, Cu, Re, Sm, лантанид и актинид.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения, описанные выше, включают комплекс металла, который содержит радионуклид, выбранный из группы, включающей  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{55}\text{Co}$ ,  $^{60}\text{Cu}$ ,  $^{61}\text{Cu}$ ,  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Ga}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{82}\text{Rb}$ ,  $^{86}\text{Y}$ ,  $^{87}\text{Y}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{117\text{m}}\text{Sn}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{52}\text{Mn}$ ,  $^{149}\text{Tb}$ ,  $^{152}\text{Tb}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{199}\text{Au}$ ,  $^{201}\text{Tl}$ ,  $^{203}\text{Pb}$ ,  $^{212}\text{Pb}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{213}\text{Bi}$ ,  $^{225}\text{Ac}$ ,  $^{223}\text{Ra}$  и  $^{227}\text{Th}$ .

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения, описанные выше, включают радионуклид  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{111}\text{In}$  или  $^{225}\text{Ac}$ .

В еще другом аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей любое из вышеуказанных соединений и фармацевтически приемлемый эксципиент (взаимозаменяемо указываемый как «фармацевтически приемлемый носитель»).

Кроме того, данное изобретение охватывает способ планирования лучевой терапии и/или лучевой терапии, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций.

В объем настоящего изобретения также входит способ лечения иммунорегуляторной аномалии у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение указанному субъекту одного из вышеуказанных соединений в количестве, эффективном для лечения указанной иммунорегуляторной аномалии (например, рака).

В некоторых вариантах осуществления изобретения изобретение относится к способу обнаружения и/или лечения рака, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, первой дозы любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций в количестве, эффективном для планирования лучевой терапии, с последующим введением последующих доз любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций в терапевтически эффективном количестве.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение или композиция, вводимая в первой дозе, и соединение или композиция, вводимые во второй дозе, или последующих дозах, являются одними и теми же.

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

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

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

Рак для лечения по данному изобретению может быть образован из клеток, выбранных из клеток рака молочной железы, клеток немелкоклеточного рака легкого, клеток мелкоклеточного рака легкого, клеток рака поджелудочной железы, клеток рака головы и шеи, клеток рака предстательной железы, клеток колоректального рака, клеток рака щитовидной железы, клеток саркомы, аденокарциномы, клеток саркомы Юинга, клеток мультиформной глиобластомы, клеток рака печени, клеток нейроэндокринной опухоли, клеток рака мочевого пузыря, раковых клеток желудка и желудочно-пищеводного соединения, клеток меланомы, клеток множественной миеломы и клеток острого миелоидного лейкоза.

В некоторых вариантах осуществления изобретения вышеуказанные способы дополнительно включают введение антипролиферативного агента, радиационного сенсibilизатора или иммунорегуляторного или иммуномодулирующего агента.

В некоторых вариантах осуществления изобретения любое из вышеуказанных соединений или их композиций и антипролиферативное средство или сенсibilизатор излучения вводят в течение 28 дней (например, в течение 14, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 дня) друг за другом.

В некоторых вариантах осуществления изобретения любое из вышеописанных соединений или их композиций и иммунорегуляторное или иммуномодулирующее средство вводят в течение 90 дней (например, в пределах 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5, 4, 3, 2 или 1 дня) друг за другом.

В другом аспекте изобретение относится к способу получения радиоконъюгата (например, радиоиммуноконъюгата, описанного ниже), где способ включает следующие стадии: (а) конъюгирование бифункционального хелата с биологической молекулой, (b) очистку конъюгата, полученного на стадии (а), и (с) хелатирование одного или нескольких радионуклидов (например, одного или нескольких радионуклидов  $^{225}\text{Ac}$ ) с очищенным конъюгатом на стадии (b) при температуре менее  $35^{\circ}\text{C}$  (например,  $20\text{-}30^{\circ}\text{C}$ ) для получения радиоконъюгата (например, радиоконъюгата актиния).

В другом аспекте изобретение относится к способу получения радиоконъюгата (например, радиоиммуноконъюгата, описанного ниже), где способ включает следующие стадии: (а) комплексообразование одного из радионуклидов (например,  $^{225}\text{Ac}$  радионуклида) с бифункциональным хелатом, (b) необязательно, очистку меченого радиоактивным изотопом бифункционального хелата, полученного на стадии (а), (с) конъюгирование меченого радиоактивным изотопом бифункционального хелата с биологической молекулой с получением радиоконъюгата (например, радиоконъюгата актиния) и (d) необязательно очистку продукта конъюгата меченого радиоактивным изотопом антитела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения радиоконъюгат представляет собой радиоиммуноконъюгат (например, какой-либо из радиоиммуноконъюгатов, описанных в настоящем документе).

В некоторых вариантах осуществления изобретения температура реакционной смеси стадии конъюгирования (с) составляет  $20\text{-}34^{\circ}\text{C}$  (например,  $21^{\circ}\text{C}$ ,  $22^{\circ}\text{C}$ ,  $23^{\circ}\text{C}$ ,  $24^{\circ}\text{C}$ ,  $25^{\circ}\text{C}$ ,  $26^{\circ}\text{C}$ ,  $27^{\circ}\text{C}$ ,  $28^{\circ}\text{C}$ ,  $29^{\circ}\text{C}$ ,  $30^{\circ}\text{C}$ ,  $31^{\circ}\text{C}$ ,  $32^{\circ}\text{C}$ ,  $33^{\circ}\text{C}$  или  $34^{\circ}\text{C}$ ).

В некоторых вариантах осуществления изобретения pH реакционной смеси стадии конъюгирования (а) составляет 5,0-10,0 (например, 5,0-6,0, 6,0-7,0, 7,0-8,0, 8,0-9,0 или 9,0-10,0)

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

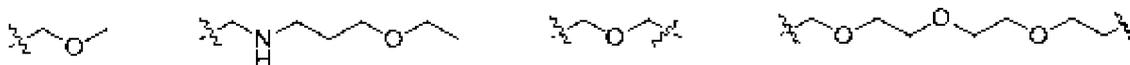
В некоторых вариантах осуществления изобретения pH реакционной смеси стадии хелатирования (с) находится в диапазоне 5,5 и 7,0 (например, 5,5-6,0, 6,0-6,5 или 6,5-7,0).

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

### Определения

Как используется в настоящем документе, термин «алкил» или «алкилен» относится к насыщенному, линейному или разветвленному углеводородному фрагменту, такому как метил, метилен, этил, этилен, пропил, пропилен, бутил, бутилены, пентил, пентилен, гексил, гексилен, гептил, гептилен, октил, октилен, нонил, нонилен, децил, децилен, ундецил, ундецилен, додецил, додецилен, тридецил, тридецилен, тетрадецил, тетрадецилен, пентадецил, пентадецилен, гексадецил, гексадецилен, гептадецил, гептадецилен, октадецил, октадецилен, нонадецил, нонадецилен, икозил, икосилен, триаконтил и триакотилен.

Как используется в настоящем документе, термин «гетероалкил» или «гетероалкилен» относится к алифатической группе (например, алкил или алкилен), содержащей по меньшей мере один гетероатом, выбранный из N, O, P, B, S, Si, Sb, Al, Sn, As, Se и Ge. Примеры «гетероалкила» или «гетероалкилена» включают, но этим не ограничиваются, следующие группы:



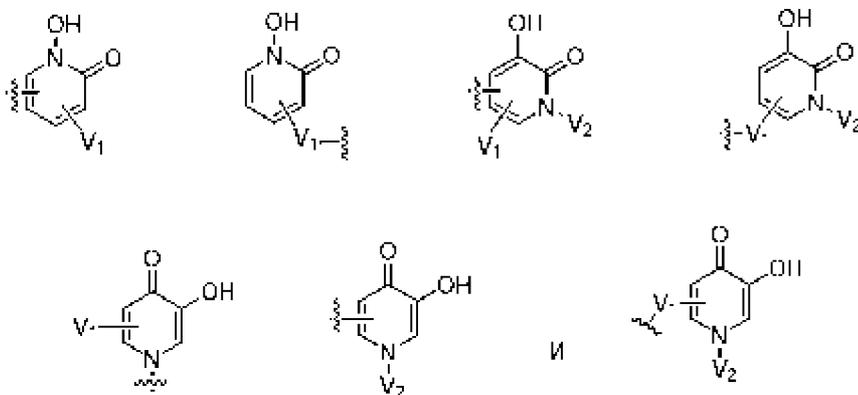
Как используется в настоящем документе, термин «арил» или «арилен» в настоящем документе относится к  $C_6$  моноциклической,  $C_{10}$  бициклической,  $C_{14}$  трициклической,  $C_{20}$  тетрациклической или  $C_{24}$  пентациклической ароматической кольцевой системе. Примеры арильных или ариленовых групп включают фенил, фенилен, нафтил, нафтилен, антраценил, антраценилен, пиренил и пиренилен.

Как используется в настоящем документе, термин «гетероарил» или «гетероарилен» относится к ароматической 5-8-членной моноциклической, 8-12-членной бициклической, 11-14-членной трициклической и 15-20-членной тетрациклической кольцевой системе, содержащей один или несколько гетероатомов (таких как O, N, S или Se). Примеры гетероарильных или гетероариленовых групп включают фурил, фурилен, флуоренил, флуоренилен, пирролил, пирролилен, тиенил, тиенилен, оксазолил, оксазолилен, имидазолил, имидазолилен, бензимидазолил, бензимидазолилен, тиазолил, тиазолилен, пиридил, пиридилен, пиримидинил, пиримидинилен, хиназолинил, хиназолинилен, хинолинил, хинолинилен, изохинолил, изохинолилен, индолил и индолилен.

Если не указано иное, алкил, алкилен, гетероалкил, гетероалкилен, арил, арилен, гетероарил и гетероарилен, упомянутые в настоящем документе, включают как замещенные, так и незамещенные фрагменты. Возможные заместители алкила, алкилена, гетероалкила, гетероалкилена, арила, арилена, гетероарила и гетероарилена включают, но этим не ограничиваются,  $C_1$ - $C_{10}$  алкил,  $C_2$ - $C_{10}$  алкенил,  $C_2$ - $C_{10}$  алкинил,  $C_1$ - $C_{20}$  алкокси,  $C_3$ - $C_{20}$  циклоалкил,  $C_3$ - $C_{20}$  циклоалкенил,  $C_3$ - $C_{20}$  гетероциклоалкил,  $C_3$ - $C_{20}$  гетероциклоалкенил,  $C_1$ - $C_{10}$  алкокси, арил, арилокси, гетероарил, гетероарилокси, amino,  $C_1$ - $C_{10}$  алкиламино,  $C_2$ - $C_{20}$  диалкиламино, ариламино, диариламино,  $C_1$ - $C_{10}$  алкилсульфонамино, арилсульфонамино,  $C_1$ - $C_{10}$  алкилимино, арилимино,  $C_1$ - $C_{10}$

алкилсульфонимино, арилсульфонимино, гидроксил, галоген, оксо, тио, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> алкилтио, арилтио, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> алкилсульфонил, арилсульфонил, ациламино, аминоксил, аминотиоацил, амидо, амидино, гуанидин, уреидо, тиоуреидо, циано, нитро, нитрозо, азидо, ацил, тиоацил, ацилокси, карбоксил и сложный эфир карбоновой кислоты. Каждая из этих групп или фрагментов относится к заместителю, обычно используемому в данной области, и известна специалисту в данной области. Кроме того, циклоалкил, циклоалкилен, циклоалкенил, циклоалкенилен, гетероциклоалкил, гетероциклоалкилен, гетероциклоалкенил, гетероциклоалкенилен, арил и гетероарил могут быть также конденсированы друг с другом.

Например, некоторые соединения формулы (I) содержат R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> и R<sub>3</sub>, каждый из которых представляет собой, независимо, группу -L-U, в которой L представляет собой C=O или -CH(R)- и U представляет собой необязательно замещенный гетероарил, где необязательно замещенный гетероарил представляет собой необязательно замещенный гидроксипиридинон, имеющий одну из структур, показанных ниже:

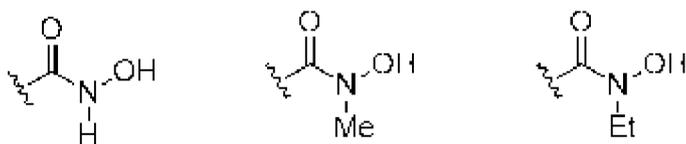


в которой V<sub>1</sub> отсутствует или представляет собой конденсированный арил или гетероарил, конденсированный карбоцикл или гетероцикл, алкил, простой эфир, спирт, кислоту, сложный эфир, амид, фосфонат или сульфонат; и V<sub>2</sub> представляет собой H, алкил или ацил.

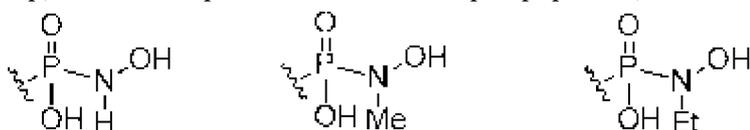
Например, некоторые соединения формулы (I) содержат R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> и R<sub>4</sub>, каждый из которых представляет собой, независимо, группу -L-U, в которой L представляет собой C=O или -CH(R)- и U представляет собой необязательно замещенный арил, необязательно замещенный гетероарил или необязательно замещенную карбоновую кислоту или необязательно замещенную фосфоновую кислоту, где R представляет собой необязательно замещенный гетероалкил (замена углерода на оксо), выбранный из:



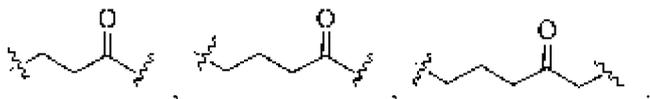
Как используется в настоящем документе, термин «необязательно замещенная карбоновая кислота» относится к карбоновой кислоте или ее производному, которое может включать амид, полученный из соответствующей карбоновой кислоты. Например, U может представлять собой амид, показанный ниже:



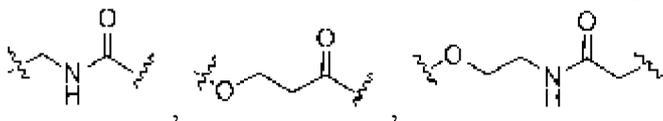
Как используется в настоящем документе, термин «необязательно замещенная фосфоновая кислота» относится к фосфоновой кислоте или ее производному, которое может включать фосфорамид, полученный из соответствующей фосфоновой кислоты. Например, U может представлять собой фосфорамид, показанный ниже:



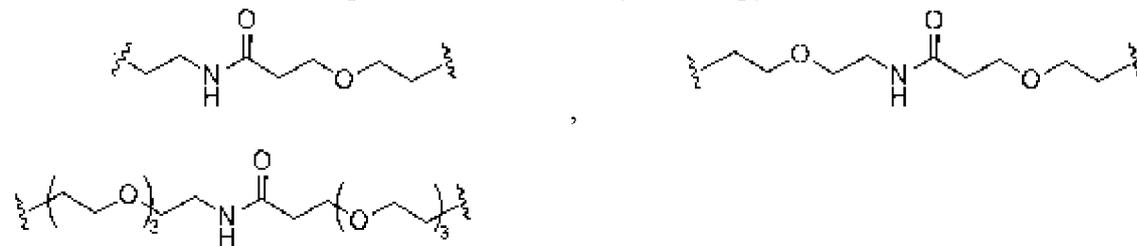
Как используется в настоящем документе, термин «необязательно замещенный C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилен» относится к C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилену или его производному, которое может включать C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкиленовую группу, имеющую один или несколько атомов углерода, замещенных оксогруппой. Примеры замещенного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> алкилена включают, но этим не ограничиваются, следующие группы:



Как используется в настоящем документе, термин «необязательно замещенный C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> гетероалкилен» относится к C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> гетероалкилену или его производному, которое может включать C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> гетероалкиленовую группу, содержащую один или несколько атомов углерода, замещенных оксогруппой. Примеры замещенного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> гетероалкилена включают, но этим не ограничиваются, следующие группы:



Как используется в настоящем документе, термин «необязательно замещенный C<sub>1</sub>-C<sub>50</sub> гетероалкилен» относится к C<sub>1</sub>-C<sub>50</sub> гетероалкилену или его производному, которое может включать гетероалкиленовую группу, содержащую один или несколько атомов углерода, замещенных оксогруппой. Примеры замещенного C<sub>1</sub>-C<sub>50</sub> гетероалкилена включают, но этим не ограничиваются, следующие группы:



Как используется в настоящем документе, термин «вводимый в комбинации» или «комбинированное введение» означает, что два или более агента вводятся субъекту

одновременно или с интервалом, так что может иметь место перекрывание воздействия каждого агента на пациента. В некоторых вариантах осуществления изобретения их вводят в течение 90 дней (например, в течение 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5, 4, 3, 2 или 1 дня), в течение 28 дней (например, через 4, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 дня), в течение 24 часов (например, в пределах 12, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 часа, или около 60, 30, 15, 10, 5 или 1 минуты друг за другом). В некоторых вариантах осуществления изобретения введение агентов осуществляется достаточно близко друг к другу, так что достигается комбинаторный (например, синергический) эффект.

Как используется в настоящем документе, «антитело» относится к полипептиду, аминокислотная последовательность которого включает иммуноглобулины и их фрагменты, которые специфически связываются с указанным антигеном, или к его фрагментам. Антитела в соответствии с настоящим изобретением могут быть любого типа (например, IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4). Специалистам в данной области будет понятно, что типичная последовательность или часть антитела может включать аминокислоты, присутствующие в одной или нескольких областях антитела (например, переменная область, гиперпеременная область, константная область, тяжелая цепь, легкая цепь и их комбинации). Более того, специалистам в данной области должно быть понятно, что типичная последовательность или часть антитела может включать одну или несколько полипептидных цепей и может включать элементы последовательности, присутствующие в одной и той же полипептидной цепи или в разных полипептидных цепях.

Как используется в настоящем документе, «антигенсвязывающий фрагмент» относится к части антитела, которая сохраняет характеристики связывания исходного антитела.

Термины «бифункциональный хелат» или «бифункциональный конъюгат», используемые в настоящем документе взаимозаменяемо, относятся к соединению формулы (I), которое содержит хелатирующую группу или ее комплекс с металлом, линкерную группу и антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

Термин «рак» относится к виду рака, вызванного пролиферацией злокачественных неопластических клеток, таких как опухоли, новообразования, карциномы, саркомы, лейкемии и лимфомы. «Рак солидной опухоли» представляет собой рак, включающий аномальную массу ткани, например, саркомы, карциномы и лимфомы. «Гематологический рак» или «гемобластозы», используемые в настоящем документе взаимозаменяемо, представляют собой рак, присутствующий в жидкости организма, например, лимфомы и лейкемии.

Термин «хелат», как используется в настоящем документе, относится к органическому соединению или его части, которые могут быть связаны с центральным атомом металла или радиометалла в двух или более точках.

Термин «конъюгат», как используется в настоящем документе, относится к молекуле, которая содержит хелатирующую группу или комплекс с металлом, линкерную

группу, и которая необязательно содержит антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

Как используется в настоящем документе, термин «соединение» включает все стереоизомеры, геометрические изомеры и таутомеры изображенных структур.

Соединения, описанные в настоящем документе, могут быть асимметричными (например, иметь один или несколько стерических оцетров). Предполагаются все стереоизомеры, такие как энантиомеры и диастереомеры, если не указано иное. Соединения по настоящему изобретению, которые содержат асимметрично замещенные атомы углерода, могут быть выделены в оптически активных или рацемических формах. В данной области техники известны способы получения оптически активных форм из оптически активных исходных материалов, такие как разделение рацемических смесей или стереоселективный синтез.

Как используется в настоящем документе, «детектирующий агент» относится к молекуле или атому, которые могут быть использованы при диагностике заболевания путем обнаружения клеток, содержащих антиген. В данной области известны различные способы мечения полипептидов детектирующими агентами. Примеры детектирующих агентов включают, но не ограничиваются ими, радиоизотопы и радионуклиды, красители (например, с комплексом биотин-стрептавидин), контрастные вещества, люминесцентные вещества (например, изотиоцианат флуоресцеина или FITC, родамин, люминофоры лантанидов, цианин и сходные ИК-красители) и магнитные агенты, такие как хелаты гадолиния.

Как используется в настоящем документе, термин «радионуклид» относится к атому, способному к радиоактивному распаду (например,  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{55}\text{Co}$ ,  $^{60}\text{Cu}$ ,  $^{61}\text{Cu}$ ,  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Ga}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{82}\text{Rb}$ ,  $^{86}\text{Y}$ ,  $^{87}\text{Y}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{117\text{m}}\text{Sn}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{52}\text{Mn}$ ,  $^{149}\text{Tb}$ ,  $^{152}\text{Tb}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{199}\text{Au}$ ,  $^{201}\text{Tl}$ ,  $^{203}\text{Pb}$ ,  $^{212}\text{Pb}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{213}\text{Bi}$ ,  $^{225}\text{Ac}$ ,  $^{223}\text{Ra}$  и  $^{227}\text{Th}$ ). Термины радиоактивный нуклид, радиоизотоп или радиоактивный изотоп также могут использоваться для описания радионуклида. Как описано выше, в качестве детектирующих агентов можно использовать радионуклиды. В некоторых вариантах осуществления радионуклид может представлять собой альфа-излучающий радионуклид.

Термин «эффективное количество» агента (например, любого из вышеперечисленных конъюгатов), используемый в настоящем документе, представляет собой количество, достаточное для достижения благоприятных или желаемых результатов, таких как клинические результаты, и, как таковое, «эффективное количество» зависит от контекста, в котором оно используется.

Термин «иммуноконъюгат», как используется в настоящем документе, относится к конъюгату, который включает нацеливающий компонент, такой как антитело (или его антигенсвязывающий фрагмент). В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат содержит в среднем по меньшей мере 0,10 конъюгатов на нацеливающий фрагмент (например, в среднем по меньшей мере 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 4, 5 или 8 конъюгатов на нацеливающую группу).

Термин «радиоконъюгат», как используется в настоящем документе, относится к конъюгату, который включает радиоизотоп или радионуклид, такой как любой из радиоизотопов или радионуклидов, описанных в настоящем документе.

Термин «радиоиммуноконъюгат», как используется в настоящем документе, относится к радиоконъюгату, который содержит радиоактивную молекулу, присоединенную к иммунному веществу, такому как моноклональное антитело, которое может связываться с раковыми клетками. Радиоиммуноконъюгат может переносить излучение непосредственно и специфически к раковым клеткам, тем самым убивая раковые клетки, не повреждая нормальные клетки. Радиоиммуноконъюгаты также можно использовать с визуализацией, чтобы помочь найти раковые клетки в организме.

Термин «радиоиммунотерапия», как используется в настоящем документе, относится к способу применения радиоиммуноконъюгата для получения терапевтического эффекта. В некоторых вариантах осуществления изобретения радиоиммунотерапия может включать введение радиоиммуноконъюгата субъекту, нуждающемуся в этом, при этом введение радиоиммуноконъюгата вызывает терапевтический эффект у субъекта. В некоторых вариантах осуществления изобретения радиоиммунотерапия может включать введение радиоиммуноконъюгата в клетку, при этом введение радиоиммуноконъюгата убивает клетку. В тех случаях, когда радиоиммунотерапия включает избирательное уничтожение клетки, в некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой раковую клетку у субъекта, страдающего раком.

Термин «фармацевтическая композиция», как используется в настоящем документе, представляет собой композицию, содержащую соединение, описанное в настоящем документе, в составе с фармацевтически приемлемым эксципиентом. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция производится или продается с одобрения государственного регулирующего органа как часть терапевтической схемы лечения заболевания у млекопитающего. Фармацевтические композиции могут быть изготовлены, например, для перорального введения в виде стандартной лекарственной формы (например, таблетки, капсулы, каплет, желатиновой капсулы или сиропа); для местного применения (например, в виде крема, геля, лосьона или мази); для внутривенного введения (например, в виде стерильного раствора, не содержащего частиц эмболов, и в системе растворителей, пригодной для внутривенного введения); или в любой другой композиции, описанной в настоящем документе.

«Фармацевтически приемлемый эксципиент», как используется в настоящем документе, относится к ингредиенту, отличному от соединений, описанных в настоящем документе (например, носитель, способный суспендировать или растворять активное соединение) и обладающему свойствами нетоксичности и невоспалительности у пациента. Эксципиенты могут включать, например: антиадгезивы, антиоксиданты, связующие вещества, покрытия, компрессионные добавки, разрыхлители, краски (красители), смягчающие средства, эмульгаторы, наполнители (разбавители), пленкообразователи или покрытия, ароматизаторы, отдушки, глиданты (усилители текучести), смазывающие

вещества, консерванты, печатные краски, радиозащитные средства, сорбенты, суспендирующие или диспергирующие агенты, подсластители или гидратационную воду. Примеры эксципиентов включают, но этим не ограничиваются: аскорбиновую кислоту, гистидин, фосфатный буфер, бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), карбонат кальция, фосфат кальция (двухосновный), стеарат кальция, кроскармеллозу, сшитый поливинилпирролидон, лимонную кислоту, кросповидон, цистеин, этилцеллюлозу, желатин, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, лактозу, стеарат магния, мальтит, маннит, метионин, метилцеллюлозу, метилпарабен, микрокристаллическую целлюлозу, полиэтиленгликоль, поливинилпирролидон, повидон, прежелатинизированный крахмал, пропилпарабен, ретинилпальмитат, шеллак, диоксид кремния, карбоксиметилцеллюлозу натрия, цитрат натрия, крахмалгликолят натрия, сорбит, крахмал (кукуруза), стеариновую кислоту, сахарозу, тальк, диоксид титана, витамин А, витамин Е, витамин С и ксилит.

Термин «фармацевтически приемлемая соль» в настоящем документе представляет те соли описанных в настоящем документе соединений, которые подходят для применения при контакте с тканями человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения или аллергической реакции. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области. Например, фармацевтически приемлемые соли описаны в работах: Berge et al., *J. Pharmaceutical Sciences* 66:1-19, 1977, и *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (Eds. P.H. Stahl and C.G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008. Соли могут быть получены *in situ* в процессе окончательного выделения и очистки описанных в настоящем документе соединений или отдельно путем взаимодействия группы свободного основания с подходящей органической кислотой.

Соединения по изобретению могут содержать ионизируемые группы, чтобы их можно было получать в виде фармацевтически приемлемых солей. Эти соли могут быть кислотнo-аддитивными солями, включающими неорганические или органические кислоты, или соли, в случае кислых форм соединений по изобретению, могут быть получены из неорганических или органических оснований. Часто соединения получают или используют в виде фармацевтически приемлемых солей, полученных в виде продуктов присоединения фармацевтически приемлемых кислот или оснований. Подходящие фармацевтически приемлемые кислоты и основания хорошо известны в данной области техники, такие как хлористоводородная, серная, бромистоводородная, уксусная, молочная, лимонная или винная кислоты для образования кислотнo-аддитивных солей, а также гидроксид калия, гидроксид натрия, гидроксид аммония, кофеин, различные амины для образования основных солей. Способы получения соответствующих солей хорошо известны в данной области.

Типичные кислотнo-аддитивные соли включают ацетат, адипат, альгинат, аскорбат, аспарат, бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, фумарат, глюкогептонат, глицерофосфат, гемисульфат, гептонат,

гексаноат, гидробромид, гидрохлорид, гидройодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пикрат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, толуолсульфонат, ундеканоат, валератные соли и другие. Типичные соли оснований включают соли щелочных или щелочноземельных металлов, таких как натрий, литий, калий, кальций и магний, а также нетоксичных катионов аммония, четвертичного аммония и амина, включая, но не ограничиваясь ими, аммоний, тетраметиламмоний, тетраэтиламмоний, метиламин, диметиламин, триметиламин, триэтиламин и этиламин.

Термин «полипептид», как используется в настоящем документе, относится к цепочке из по меньшей мере двух аминокислот, соединенных друг с другом пептидной связью. В некоторых вариантах осуществления полипептид может включать по меньшей мере 3-5 аминокислот, каждая из которых соединена с другой посредством по меньшей мере одной пептидной связи. Специалистам в данной области понятно, что полипептиды могут включать одну или несколько «неприродных» аминокислот или других соединений, которые, тем не менее, способны интегрироваться в полипептидную цепь. В некоторых вариантах осуществления изобретения один «полипептид» (например, полипептид антитела) может содержать две или более отдельных полипептидных цепей, которые в некоторых случаях могут быть связаны друг с другом, например, одной или более дисульфидными связями или другими способами.

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

Под «существенной идентичностью» или «по существу идентичным» подразумевается полипептидная последовательность, которая имеет такую же полипептидную последовательность, соответственно, что и эталонная последовательность, или имеет определенный процент аминокислотных остатков, соответственно, которые являются одинаковыми в соответствующем месте в пределах эталонной последовательности, когда две последовательности оптимально выровнены. Например, аминокислотная последовательность, которая «по существу идентична» эталонной последовательности, имеет по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности эталонной аминокислотной последовательности. Идентичность последовательности может быть измерена с использованием программного обеспечения для анализа последовательности с настройками по умолчанию (например, пакет программного обеспечения для анализа последовательности компьютерной группы Genetics, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, WI 53705). Такое программное обеспечение может сопоставлять сходные последовательности, присваивая степени гомологии различным заменам, делециям и другим модификациям.

Как используется в настоящем документе и как хорошо понятно специалисту в данной области, термин «лечить» состояние или «лечение» состояния (например, состояний, описанных в настоящем документе, таких как рак) представляет собой подход для получения благоприятных или желаемых результатов, таких как клинические результаты. Благоприятные или желаемые результаты могут включать, но этим не ограничиваются, облегчение или улучшение одного или нескольких симптомов или состояний; уменьшение степени заболевания, расстройства или состояния; стабилизированное (то есть не ухудшающееся) состояние болезни, расстройства или состояния; предотвращение распространения болезни, расстройства или состояния; задержка или замедление прогрессирования заболевания, расстройства или состояния; улучшение или временное облегчение заболевания, расстройства или состояния; и ремиссию (частичную или полную), определяемую или неопределяемую. «Смягчение» заболевания, расстройства или состояния означает, что степень и/или нежелательные клинические проявления заболевания, расстройства или состояния уменьшаются и/или временная динамика прогрессирования замедляется или удлиняется по сравнению со степенью или временной динамикой при отсутствии лечения.

Подробности одного или нескольких вариантов осуществления изобретения изложены в описании ниже. Другие признаки, цели и преимущества изобретения будут очевидны из приведенных далее чертежа, описания и формулы изобретения.

#### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖА**

На фигуре 1 показано исследование биораспределения  $^{89}\text{Zr}$ -соединения Y.

#### **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ**

Фрагменты для нацеливания с радиоактивной меткой (также известные как радиоко́нъюгаты) предназначены для нацеливания на белок или рецептор, который активируется в болезненном состоянии, чтобы доставить радиоактивную нагрузку для повреждения и уничтожения интересующих клеток (радиоиммунотерапия). В процессе доставки такой полезной нагрузки посредством радиоактивного распада образуются альфа-, бета- или гамма-частицы или Оже-электроны, которые могут оказывать прямое воздействие на ДНК (например, одно- или двухцепочечные разрывы ДНК) или косвенные эффекты, такие как побочные или взаимовлияющие эффекты.

Радиоиммуноко́нъюгаты обычно содержат молекулу биологического нацеливания (например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент), радиоизотоп и молекулу, которая их связывает. Конъюгаты образуются, когда бифункциональный хелат присоединяется к биологической молекуле-мишени, так что структурные изменения минимальны при сохранении сродства к мишени. После мечения радиоактивным изотопом образуется конечный радиоиммуноко́нъюгат.

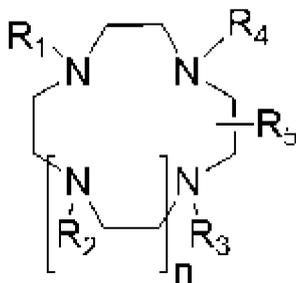
Бифункциональные хелаты структурно содержат хелат, линкер и нацеливающий фрагмент (например, антитело). При разработке новых бифункциональных хелатов основное внимание уделяется хелатирующей части молекулы. Описано несколько примеров бифункциональных хелатов с различными циклическими и ациклическими

структурами, конъюгированными с целевым фрагментом. См., например, *Bioconjugate Chem.* 2000, 11, 510-519; *Bioconjugate Chem.* 2012, 23, 1029–1039; *Mol. Imaging Biol.* 2011, 13, 215-221; и *Bioconjugate Chem.* 2002, 13, 110–115.

Обычно используемым хелатом для  $^{89}\text{Zr}$  PET-визуализации *in vivo* был десферриоксамин («DFO»), отчасти из-за его исторического прецедента, а также мягких и эффективных условий мечения радиоактивным изотопом. Однако из-за проблем со стабильностью были предприняты значительные усилия для повышения стабильности *in vivo* радиоконъюгатов, содержащих хелат DFO, для уменьшения распада комплексов металлов. См., например, *Chem. Comm.* 2014, 50, 11523-11525; *Chem. Comm.* 2016, 52, 11889-11892.

Варианты осуществления настоящего изобретения относятся к структурной идентификации некоторых макроциклических хелатов, которые образуют комплексы радиометаллов с высокой стабильностью, например, тераностической пары  $^{89}\text{Zr}$  и  $^{225}\text{Ac}$ , в мягких условиях мечения радиоактивным изотопом и в составе радиоиммуноконъюгатов. Структурное исследование проводили путем модификации макроциклических хелатов в линкерной области проксимальной донорной группой или разумной заменой макроциклического ядра, включая использование гидроксипиридинонов.

Как обсуждалось выше в разделе «Сущность изобретения», одним из признаков настоящего изобретения является первое подмножество соединений, имеющих структурную формулу (I), показанную ниже, или их комплексы с металлами, или их фармацевтически приемлемые соли:



(I),

где

$R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой -L-U,  $R_4$  представляет собой -X-W и  $R_5$  представляет собой H, -L-U или -X-W; или  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  и  $R_4$ , каждый, независимо, представляют собой -L-U и  $R_5$  представляет собой -X-W; и

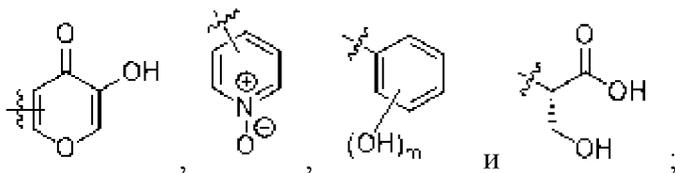
$n$  обозначает целое число 0-3,

где

L представляет собой необязательно замещенный  $\text{C}_{1-3}$  алкилен;

U представляет собой необязательно замещенную карбоновую кислоту или необязательно замещенную фосфоновую кислоту;

W представляет собой способную координироваться с радиометаллом донорную группу, в которой донорный фрагмент представляет собой необязательно замещенный гидроксипиридинон или группу, выбранную из группы, включающей

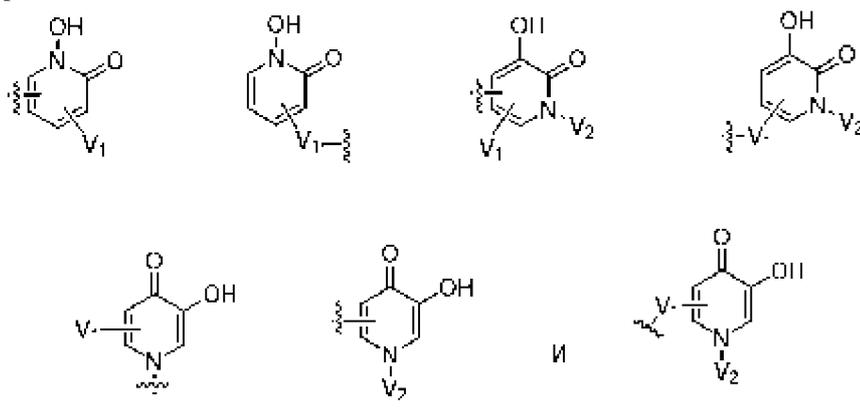


m обозначает целое число 1-3; и

X представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где R представляет собой H, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный гетероалкил или  $-L^3-Z_2-B$ .

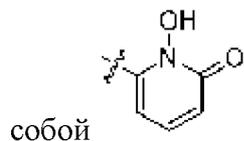
Что касается переменных X,  $L^1$  и  $L^2$ , каждая, независимо, представляют собой связь, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  алкилен или необязательно замещенный  $C_1-C_6$  гетероалкилен;  $L^3$  представляет собой необязательно замещенный  $C_1-C_{50}$  алкилен или необязательно замещенный  $C_1-C_{50}$  гетероалкилен или  $C_5-C_{20}$  полиэтиленгликоль;  $Z_1$  представляет собой  $C=O(NR^4)$ ,  $C=S(NR^4)$ ,  $OC=O(NR^4)$ ,  $NR^4C=O(O)$ ,  $NR^4C=O(NR^4)$ ,  $-CH_2PhC=O(NR^4)$ ,  $-CH_2Ph(NR^4)C=O$  или  $-CH_2Ph(NH)C=S(NR^4)$ , каждый  $R^4$  независимо представляет собой H, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  алкил, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  гетероалкил или необязательно замещенный арил или гетероарил;  $Z_2$  представляет собой  $C=O$ ,  $-NR'-(C=O)-$  или  $-NR'-(C=O)-R''$ , где  $R'$  представляет собой H или  $C_1-C_6$  алкил и  $R''$  представляет собой  $C_1-C_{20}$  алкилен,  $C_2-C_{20}$  гетероалкилен или арилен; и B представляет собой терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или поперечно-связывающую группу.

В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества W представляет собой необязательно замещенный гидроксипиридинон, имеющий одну из структур, показанных ниже:



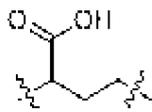
в которой  $V_1$  отсутствует или представляет собой конденсированный арил или гетероарил, конденсированный карбоцикл или гетероцикл, алкил, простой эфир, спирт, кислоту, сложный эфир, амид, фосфонат или сульфонат; и  $V_2$  представляет собой H, алкил

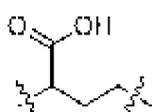
или ацил. Например, некоторые соединения характеризуются тем, что W представляет

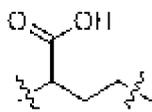


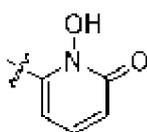
В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой -L-U, где L представляет собой необязательно замещенный  $C_1$  алкил (например,  $CH_2$ ) и U представляет собой  $-CO_2H$ .

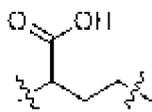
Также некоторые соединения вышеуказанных вариантов осуществления имеют структурную формулу (I), в которой n обозначает 1.

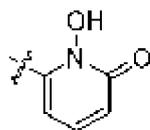
В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества X представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где  $L^1$  представляет собой  и R представляет собой H.

В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества X представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где  $L^1$  представляет собой  и R представляет собой H; и каждый из  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$  представляет собой -L-U, где L представляет собой  $CH_2$  и U представляет собой  $-CO_2H$ .

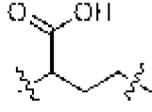
В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества X представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где  $L^1$  представляет собой  и R

представляет собой H; и W представляет собой 

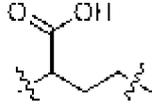
В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества X представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где  $L^1$  представляет собой  и R представляет собой H; каждый из  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$  представляет собой -L-U, где L представляет

с собой  $CH_2$  и U представляет собой  $-CO_2H$ ; и W представляет собой 

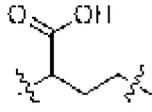
В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества X

представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где  $L^1$  представляет собой  и R представляет собой  $-L^3-Z_2-B$ .

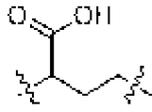
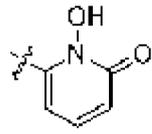
В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества X

представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где  $L^1$  представляет собой  и R представляет собой  $-L^3-Z_2-B$ , где  $L^3$  представляет собой  $C_5-C_{20}$  полиэтиленгликоль и  $Z_2$  представляет собой  $-NR'-(C=O)-R''$ , где R' представляет собой H и R'' представляет собой арилен.

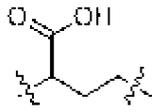
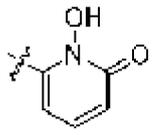
В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества X

представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где  $L^1$  представляет собой  и R представляет собой  $-L^3-Z_2-B$ ; и каждый из  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$  представляет собой  $-L-U$ , где L представляет собой  $CH_2$  и U представляет собой  $-CO_2H$ .

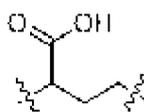
В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества X

представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где  $L^1$  представляет собой  и R представляет собой  $-L^3-Z_2-B$ ; и W представляет собой .

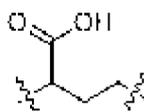
В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества X

представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где  $L^1$  представляет собой  и R представляет собой  $-L^3-Z_2-B$ ; W представляет собой ; каждый из  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$  представляет собой  $-L-U$ , где L представляет собой  $CH_2$  и U представляет собой  $-CO_2H$ ;  $L^3$  представляет собой  $C_5-C_{20}$  полиэтиленгликоль; и  $Z_2$  представляет собой  $-NR'-(C=O)-R''$ , где R' представляет собой H и R'' представляет собой арилен.

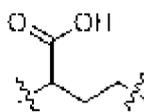
В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества X

представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где  $L^1$  представляет собой  и R представляет собой  $-L^3-Z_2-B$ , где B представляет собой терапевтический фрагмент или нацеливающий фрагмент.

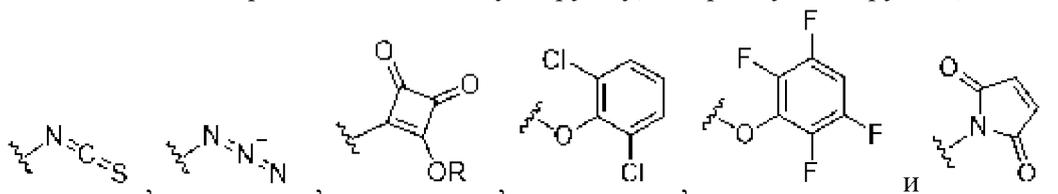
В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества X

представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где  $L^1$  представляет собой  и R представляет собой  $-L^3-Z_2-B$ , где B представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает инсулиноподобный рецептор фактора роста 1 (IGF-1R).

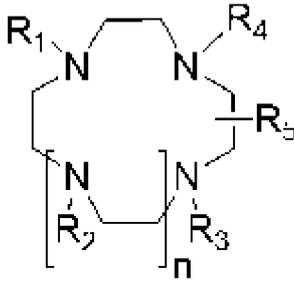
В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества X

представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где  $L^1$  представляет собой  и R представляет собой  $-L^3-Z_2-B$ , где B представляет собой поперечно-связывающую группу, выбранную из группы, включающей аминореактивную поперечно-связывающую группу, метионинреактивную поперечно-связывающую группу и тиолреактивную поперечно-связывающую группу. В некоторых вариантах осуществления изобретения поперечно-связывающая группа содержит активированный сложный эфир, имидат, ангидрид, тиол, дисульфид, малеимид, азид, алкин, напряженный алкин, напряженный алкен, галоген, сульфонат, галогенацетил, амин, гидразид, диазирин, фосфин, тетразин, изотиоцианат или оксазирин, где активированный сложный эфир может представлять собой сложный эфир гидроксисукцинимида, сложный эфир 2,3,5,6-тетрафторфенола, сложный эфир 2,6-дихлорфенола или сложный эфир 4-нитрофенола.

В некоторых вариантах осуществления изобретения первого подмножества B представляет собой поперечно-связывающую группу, выбранную из группы, включающей:



Другой аспект данного изобретения включает второе подмножество соединений, имеющих структурную формулу (I), показанную ниже, или их комплексы с металлами, или их фармацевтически приемлемые соли:

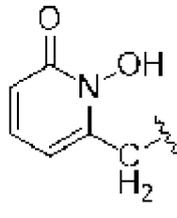


(I),

где

$R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой -L-U,  $R_4$  представляет собой -X-W и  $R_5$  представляет собой H, -L-U или -X-W; или  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  и  $R_4$ , каждый, независимо, представляют собой -L-U и  $R_5$  представляет собой -X-W; и

$n$  обозначает целое число 0-3, когда  $n$  обозначает 0 и  $R_5$  представляет собой H,  $R_1$ ,  $R_3$



и  $R_4$ , все, не являются

где

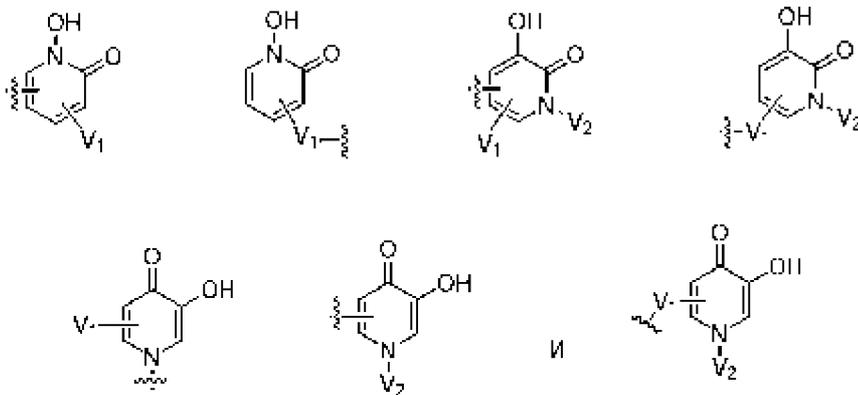
L представляет собой C=O или -CH(R)-, где R представляет собой H, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный гетероалкил или -L<sup>1</sup>-Z<sub>1</sub>-L<sup>2</sup>-Z<sub>2</sub>-B;

U представляет собой необязательно замещенный арил, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенную карбоновую кислоту или необязательно замещенную фосфоновую кислоту; или -L-U представляет собой -L<sup>1</sup>-Z<sub>1</sub>-L<sup>2</sup>-Z<sub>2</sub>-B;

по меньшей мере один из  $R_1$ - $R_3$  содержит U в виде необязательно замещенного гетероарила;

X представляет собой C=O или необязательно замещенный C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилен; и

W представляет собой донорную группу, способную координироваться с радиометаллом, где донорная группа представляет собой необязательно замещенный гидроксипиридинон, имеющий структуру, выбранную из группы, включающей



в которой  $V_1$  отсутствует или представляет собой конденсированный арил или гетероарил, конденсированный карбоцикл или гетероцикл, алкил, простой эфир, спирт, кислоту, сложный эфир, амид, фосфонат или сульфонат; и  $V_2$  представляет собой H, алкил или ацил.

Что касается линкера L, представляющего собой  $-\text{CH}(\text{R})-$ , то, когда R представляет собой  $-\text{L}^1-\text{Z}_1-\text{L}^2-\text{Z}_2-\text{B}$ , каждая из переменных  $\text{L}^1$ ,  $\text{Z}_1$ ,  $\text{L}^2$ ,  $\text{Z}_2$  и B определяется следующим образом:

$\text{L}^1$  необязательно представляет собой связь,  $\text{C}_1-\text{C}_6$  алкилен или необязательно замещенный  $\text{C}_1-\text{C}_6$  гетероалкилен;

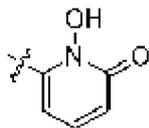
$\text{Z}_1$  представляет собой связь,  $\text{C}=\text{O}(\text{NR}^4)$ ,  $\text{C}=\text{S}(\text{NR}^4)$ ,  $\text{OC}=\text{O}(\text{NR}^4)$ ,  $\text{NR}^4\text{C}=\text{O}(\text{O})$ ,  $\text{NR}^4\text{C}=\text{O}(\text{NR}^4)$ ,  $-\text{CH}_2\text{PhC}=\text{O}(\text{NR}^4)$ ,  $-\text{CH}_2\text{Ph}(\text{NR}^4)\text{C}=\text{O}$  или  $-\text{CH}_2\text{Ph}(\text{NH})\text{C}=\text{S}(\text{NR}^4)$ , каждый  $\text{R}^4$  независимо представляет собой H, необязательно замещенный  $\text{C}_1-\text{C}_6$  алкил, необязательно замещенный  $\text{C}_1-\text{C}_6$  гетероалкил или необязательно замещенный арил или гетероарил;

$\text{L}^2$  представляет собой необязательно замещенный  $\text{C}_1-\text{C}_{50}$  алкилен или необязательно замещенный  $\text{C}_1-\text{C}_{50}$  гетероалкилен или  $\text{C}_5-\text{C}_{20}$  полиэтиленгликоль;

$\text{Z}_2$  представляет собой  $\text{C}=\text{O}$ ,  $-\text{NR}'-(\text{C}=\text{O})-$  или  $-\text{NR}'-(\text{C}=\text{O})-\text{R}''$ , где  $\text{R}'$  представляет собой H или  $\text{C}_1-\text{C}_6$  алкил и  $\text{R}''$  представляет собой  $\text{C}_1-\text{C}_{20}$  алкилен,  $\text{C}_2-\text{C}_{20}$  гетероалкилен или арилен; и

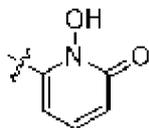
B представляет собой терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или поперечно-связывающую группу.

В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества W представляет собой необязательно замещенный гидроксипиридинон, имеющий структуру:



В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества X представляет собой  $\text{C}_1-\text{C}_3$  алкилен.

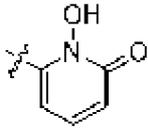
В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества W представляет собой необязательно замещенный гидроксипиридинон, имеющий структуру:



, и X представляет собой  $\text{CH}_2$ .

В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества соединения формулы (I) имеют переменную n равную 1.

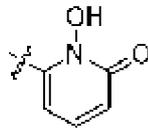
В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества W представляет собой необязательно замещенный гидроксипиридинон, имеющий структуру:



, X представляет собой  $\text{CH}_2$ , и n обозначает 1.

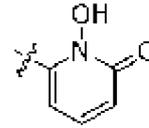
В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой группу -L-U, в которой L представляет собой -CH(R)-, где R представляет собой H.

В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой группу -L-U, в которой L представляет собой -CH(R)-, где R представляет собой H, и U представляет собой необязательно замещенный

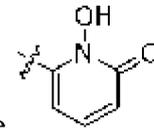


гетероарил (например, ) или необязательно замещенную карбоновую кислоту (например,  $\text{CO}_2\text{H}$  или  $\text{CO}(\text{NMeOH})$ ).

В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой группу -L-U, в которой L представляет собой

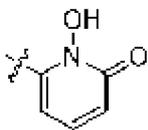


-CH(R)-, где R представляет собой H, и U представляет собой  $\text{CO}_2\text{H}$ , или

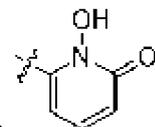


$\text{CO}(\text{NMeOH})$ , и по меньшей мере один из  $R_1$ - $R_3$  содержит U в виде

В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой группу -L-U, в которой L представляет собой -CH(R)-, где R представляет собой H, и по меньшей мере один из  $R_1$ - $R_3$  содержит U в виде

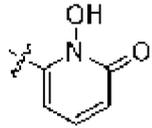


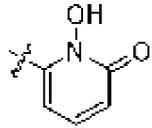
В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой группу -L-U, в которой L представляет собой



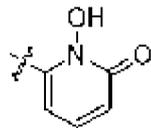
-CH(R)-, где R представляет собой H, и каждый из  $R_1$ - $R_3$  содержит U в виде

В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой группу -L-U, в которой L представляет собой

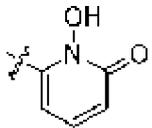
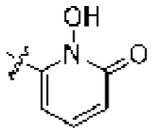
-CH(R)-, где R представляет собой H, и каждый из R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> содержит U в виде  ; W

представляет собой  ; и X представляет собой CH<sub>2</sub>.

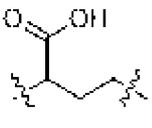
В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества X

представляет собой C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилен и каждый из R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> содержит U в виде .

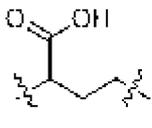
В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества каждый

из R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> содержит U в виде , W представляет собой  и X представляет собой CH<sub>2</sub>.

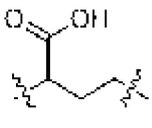
В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> и R<sub>3</sub>, каждый, независимо, представляют собой группу -L-U, в которой L представляет собой

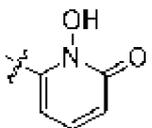
-CH(R)-, где R представляет собой -L<sup>1</sup>-Z<sub>1</sub>-L<sup>2</sup>-Z<sub>2</sub>-В и L<sup>1</sup> представляет собой .

В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> и R<sub>3</sub>, каждый, независимо, представляют собой группу -L-U, в которой L представляет собой

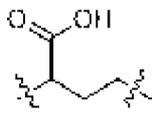
-CH(R)-, где R представляет собой -L<sup>1</sup>-Z<sub>1</sub>-L<sup>2</sup>-Z<sub>2</sub>-В, где L<sup>1</sup> представляет собой , L<sup>2</sup> представляет собой C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> полиэтиленгликоль и Z<sub>2</sub> представляет собой -NR'-C(=O)-R'', где R' представляет собой H и R'' представляет собой арилен.

В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> и R<sub>3</sub>, каждый, независимо, представляют собой группу -L-U, в которой L представляет собой

-CH(R)-, где R представляет собой -L<sup>1</sup>-Z<sub>1</sub>-L<sup>2</sup>-Z<sub>2</sub>-В и L<sup>1</sup> представляет собой , по

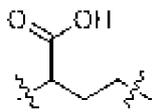
меньшей мере один из R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> содержит U в виде .

В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> и R<sub>3</sub>, каждый, независимо, представляют собой группу -L-U, в которой L представляет собой

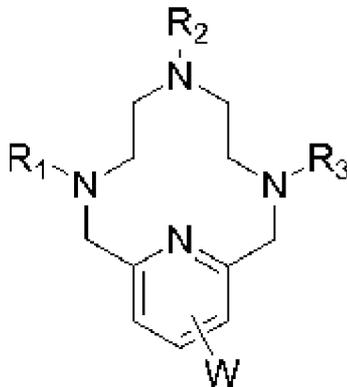
-CH(R)-, где R представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-Z_2-B$ , где  $L^1$  представляет собой , и B представляет собой терапевтический фрагмент или нацеливающий фрагмент.

Обычно терапевтический фрагмент или нацеливающий фрагмент в этом подмножестве соединений представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает IGF-1R.

В некоторых вариантах осуществления изобретения второго подмножества  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой группу  $-L-U$ , в которой L представляет собой

-CH(R)-, где R представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-Z_2-B$ , где  $L^1$  представляет собой , и B представляет собой поперечно-связывающую группу, выбранную из группы, включающей аминокреактивную поперечно-связывающую группу, метионинреактивную поперечно-связывающую группу и тиолреактивную поперечно-связывающую группу.

Следующий аспект данного изобретения включает третье подмножество соединений, имеющих структурную формулу (II), показанную ниже, или их комплексы с металлами, или их фармацевтически приемлемые соли:



(II),

где

$R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой  $-L-U$  и W представляет собой H или  $-L^1-Z_1-L^2-Z_2-B$ ,

где

L представляет собой C=O или -CH(R)-, где R представляет собой H, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный гетероалкил или  $-L^1-Z_1-L^2-Z_2-B$ ;

U представляет собой необязательно замещенный арил, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенную карбоновую кислоту или необязательно замещенную фосфовую кислоту; или  $-L-U$  представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-Z_2-B$ ;

по меньшей мере один из  $R_1$ - $R_3$  содержит U в виде необязательно замещенного гетероарила;

где

$L^1$  представляет собой связь, необязательно замещенный  $C_1$ - $C_6$  алкилен или необязательно замещенный  $C_1$ - $C_6$  гетероалкилен;

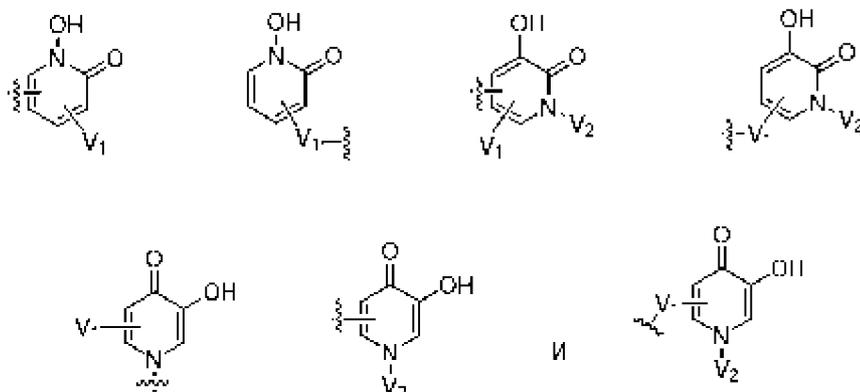
$Z_1$  представляет собой связь,  $C=O(NR^4)$ ,  $C=S(NR^4)$ ,  $OC=O(NR^4)$ ,  $NR^4C=O(O)$ ,  $NR^4C=O(NR^4)$ ,  $-CH_2PhC=O(NR^4)$ ,  $-CH_2Ph(NR^4)C=O$  или  $-CH_2Ph(NH)C=S(NR^4)$ , каждый  $R^4$  независимо представляет собой H, необязательно замещенный  $C_1$ - $C_6$  алкил, необязательно замещенный  $C_1$ - $C_6$  гетероалкил или необязательно замещенный арил или гетероарил;

$L^2$  представляет собой необязательно замещенный  $C_1$ - $C_{50}$  алкилен или необязательно замещенный  $C_1$ - $C_{50}$  гетероалкилен или  $C_5$ - $C_{20}$  полиэтиленгликоль;

$Z_2$  представляет собой  $C=O$ ,  $-NR'-(C=O)-$  или  $-NR'-(C=O)-R''$ , где  $R'$  представляет собой H или  $C_1$ - $C_6$  алкил и  $R''$  представляет собой  $C_1$ - $C_{20}$  алкилен,  $C_2$ - $C_{20}$  гетероалкилен или арилен; и

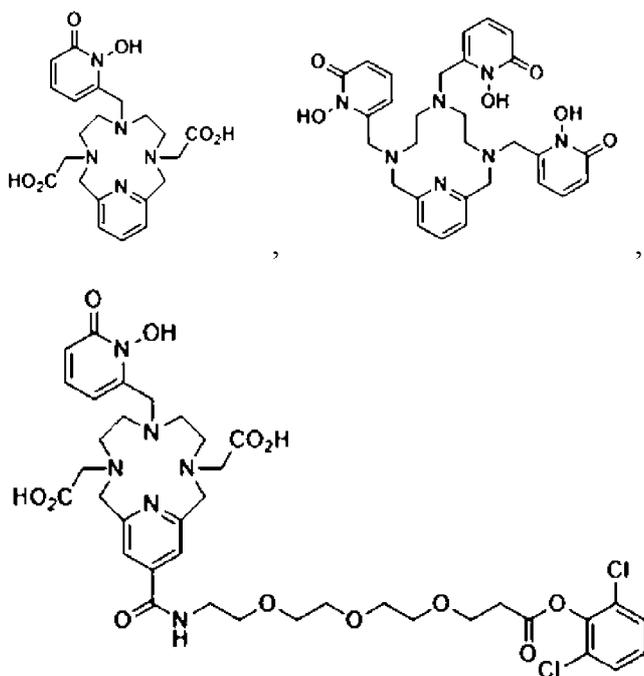
V представляет собой терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или поперечно-связывающую группу.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения формулы (II), приведенные выше, характеризуются тем, что U представляет собой донорскую группу, способную координироваться с радиометаллом, где донорная группа представляет собой необязательно замещенный гидроксипиридинон, имеющий структуру, выбранную из группы, включающей

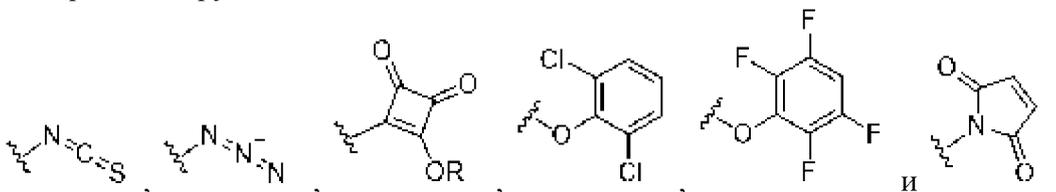


в которой  $V_1$  отсутствует или представляет собой конденсированный арил или гетероарил, конденсированный карбоцикл или гетероцикл, алкил, простой эфир, спирт, кислоту, сложный эфир, амид, фосфонат или сульфонат; и  $V_2$  представляет собой H, алкил или ацил.

Примеры третьего подмножества соединений формулы (II) включают, но этим не ограничиваются, следующие:



Обычно поперечно-связывающая группа в подмножествах соединений, описанных выше, содержит активированный сложный эфир, имидат, ангидрид, тиол, дисульфид, малеимид, азид, алкин, напряженный алкин, напряженный алкен, галоген, сульфонат, галогенацетил, амин, гидразид, диазирин, фосфин, тетразин, изотиоцианат или оксазиридин, где активированный сложный эфир может представлять собой сложный эфир гидроксисукцинимиды, сложный эфир 2,3,5,6-тетрафторфенола, сложный эфир 2,6-дихлорфенола или сложный эфир 4-нитрофенола. Примеры поперечно-связывающей группы выбраны из группы, включающей:



В вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, были идентифицированы бифункциональные хелаты при присоединении к определенным антителам (например, IGF-1R), которые обеспечивают снижение общей радиоактивности организма, тем самым минимизируя токсичность, за счет повышения стабильности радиоиммуноконъюгатов *in vivo*. Взятые в целом, эти варианты осуществления обеспечивают достижение желаемых свойств радиоиммуноконъюгатов за счет снижения радиоактивности в организме человека при сохранении целевой активности.

#### *Терапевтические фрагменты и нацеливающие фрагменты*

Терапевтические или нацеливающие фрагменты включают любую молекулу или любую часть молекулы, которая обеспечивает терапевтический эффект. В некоторых вариантах осуществления терапевтическая часть представляет собой белок или полипептид, например, антитело, его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых

вариантах осуществления изобретения терапевтический фрагмент представляет собой небольшую молекулу. Целевые группы включают любую молекулу или любую часть молекулы, которая связывается с данной мишенью.

#### *Антитела*

Антитела обычно содержат две идентичные легкие полипептидные цепи и две идентичные тяжелые полипептидные цепи, связанные вместе дисульфидными связями. Первый домен, расположенный на amino-конце каждой цепи, имеет переменную аминокислотную последовательность, обеспечивающую специфичность связывания антител каждого отдельного антитела. Они известны как переменные тяжелые (VH) и переменные легкие (VL) области. Другие домены каждой цепи относительно инвариантны в аминокислотной последовательности и известны как константные тяжелые (CH) и константные легкие (CL) области. Легкие цепи обычно содержат одну переменную область (VL) и одну константную область (CL). Тяжелая цепь IgG включает переменную область (VH), первую константную область (CH1), шарнирную область, вторую константную область (CH2) и третью константную область (CH3). В антителах IgE и IgM тяжелая цепь включает дополнительную константную область (CH4).

Антитела, описанные в настоящем документе, могут включать, например, моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела, человеческие антитела, гуманизированные антитела, верблюжьи антитела, химерные антитела, одноцепочечные Fv (scFv), дисульфид-связанные Fv (sdFv) и антиидиотипические (анти-Id) антитела и антигенсвязывающие фрагменты любого из вышеперечисленных. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент являются гуманизированными. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент являются химерными. Антитела могут быть любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подкласса.

Термин «антигенсвязывающий фрагмент» антитела, как используется в настоящем документе, относится к одному или нескольким фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином «антигенсвязывающий фрагмент» антитела, включают Fab-фрагмент, F(ab')<sub>2</sub>-фрагмент, Fd-фрагмент, Fv-фрагмент, scFv-фрагмент, dAb-фрагмент (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546), и выделенную определяющую комплементарность область (CDR). В некоторых вариантах осуществления изобретения «антигенсвязывающий фрагмент» содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи. Эти фрагменты антител могут быть получены с использованием обычных методов, известных специалистам в данной области, и фрагменты могут быть подвергнуты скринингу на пригодность таким же образом, как и интактные антитела.

Антитела или фрагменты, описанные в настоящем документе, могут быть получены любым известным в данной области способом синтеза антител (см., например, Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988);

Brinkman et al., 1995, J. Immunol. Methods 182:41-50; WO 92/22324; WO 98/46645). Химерные антитела могут быть получены способами, описанными, например, Morrison, 1985, Science 229:1202, и гуманизированные антитела способами, описанными, например, в патенте США № 6180370.

Дополнительные антитела, описанные в настоящем документе, представляют собой биспецифические антитела и мультивалентные антитела, как описано, например, в работах Segal et al., J. Immunol. Methods 248:1-6 (2001); и Tutt et al., J. Immunol. 147: 60 (1991), или любую из молекул, описанных ниже.

«Авимер» относится к мультимерному связывающему белку или пептиду, сконструированному с использованием, например, перетасовки экзонов *in vitro* и фагового дисплея. Множественные связывающие домены связаны, что приводит к большей аффинности и специфичности по сравнению с доменами иммуноглобулина с одним эпитопом.

«Нанотела» представляют собой фрагменты антител, состоящие из одного мономерного варибельного домена антитела. Нанотела также могут называться однодоменными антителами. Как и антитела, нанотела избирательно связываются с определенным антигеном. Нанотела могут представлять собой варибельные домены тяжелой цепи или домены легкой цепи. Нанотела могут встречаться в природе или быть продуктом биологической инженерии. Нанотела могут быть биологически сконструированы путем направленного мутагенеза или мутагенного скрининга (например, фаговый дисплей, дрожжевой дисплей, бактериальный дисплей, дисплей мРНК, дисплей рибосом). «Аффитела» представляют собой полипептиды или белки, сконструированные для связывания со специфическим антигеном. Таким образом, можно считать, что аффитела имитируют определенные функции антител. Аффитела могут быть сконструированы вариантами В-домена в связывающей иммуноглобулин области стафилококкового белка А. Аффитела могут быть сконструированы вариантами Z-домена, В-домена, который имеет более низкую аффинность к Fab-области. Аффитела могут быть биологически сконструированы путем направленного мутагенеза или мутагенного скрининга (например, фаговый дисплей, дрожжевой дисплей, бактериальный дисплей, дисплей мРНК, дисплей рибосом).

Были созданы молекулы аффител, демонстрирующие специфическое связывание с различными белками (например, инсулином, фибриногеном, трансферрином, фактором некроза опухоли- $\alpha$ , IL-8, gp120, CD28, сывороточным альбумином человека, IgA, IgE, IgM, HER2 и EGFR), демонстрирующие сродство (Kd) в диапазоне от мкМ до пМ. «Диатела» представляют собой фрагменты антител с двумя сайтами связывания антигена, которые могут быть бивалентными или биспецифичными. См., например, Hudson et al., (2003). Одноцепочечные антитела представляют собой фрагменты антител, содержащие весь или часть варибельного домена тяжелой цепи или весь или часть варибельного домена легкой цепи антитела. Фрагменты антител могут быть получены различными способами, включая, помимо прочего, протеолитическое расщепление интактного антитела, а также продукцию

рекомбинантными хозяевами (например, *E. coli* или фагом), как описано в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент являются мультиспецифическими, то есть биспецифическими. Мультиспецифические антитела (или их антигенсвязывающие фрагменты) включают моноклональные антитела (или их антигенсвязывающие фрагменты), которые обладают специфичностью связывания по меньшей мере для двух разных сайтов.

В некоторых вариантах осуществления изобретения рассматриваются варианты аминокислотной последовательности антител или их антигенсвязывающих фрагментов; например, варианты, которые связываются с IGF-1R. Например, может быть желательно улучшить аффинность связывания и/или другие биологические свойства антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Варианты аминокислотной последовательности антитела или его антигенсвязывающего фрагмента могут быть получены путем введения соответствующих модификаций в нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или путем пептидного синтеза. Такие модификации включают, например, делеции и/или вставки и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Любая комбинация делеций, вставок и замен может быть использована для получения конечной конструкции при условии, что конечная конструкция обладает желаемыми характеристиками, то есть связывание антигена.

#### *Полипептиды*

Полипептиды включают, например, любой из множества гематологических агентов (включая, например, эритропоэтин, факторы свертывания крови и т.д.), интерфероны, колониестимулирующие факторы, антитела, ферменты и гормоны. Идентичность конкретного полипептида не предназначена для ограничения настоящего изобретения, и в настоящих способах полипептидом может быть любой интересующий полипептид.

Эталонный полипептид, описанный в настоящем документе, может включать домен связывания мишени, который связывается с представляющей интерес мишенью (например, связывается с антигеном). Например, полипептид, такой как антитело, может связываться с трансмембранным полипептидом (например, рецептором) или лигандом (например, фактором роста). Типичные молекулярные мишени (например, антигены) для описанных в настоящем документе полипептидов (например, антител) включают белки CD, такие как CD2, CD3, CD4, CD8, CD11, CD19, CD20, CD22, CD25, CD33, CD34, CD40, CD52; члены семейства рецепторов ErbB, такие как рецептор EGF (EGFR, HER1, ErbB1), рецептор HER2 (ErbB2), HER3 (ErbB3) или HER4 (ErbB4); рецепторы макрофагов, такие как CR1g; факторы некроза опухоли, такие как TNF $\alpha$  или TRAIL/Apo-2; молекулы клеточной адгезии, такие как интегрин LFA-1, Mac1, p150,95, VLA-4, ICAM-1, VCAM и  $\alpha$ v $\beta$ 3, включая их субъединицы  $\alpha$  или  $\beta$  (например, антитела к CD11a, к CD18 или к CD11b); факторы роста и рецепторы, такие как EGF, FGFR (например, FGFR3) и VEGF; IgE; цитокины, такие как IL1; рецепторы цитокинов, такие как рецептор IL2; антигены группы крови; рецептор flk2/flt3;

рецептор ожирения (OB); рецептор mpl; CTLA-4; протеин C; нейтропилины; эфрины и рецепторы; нетрины и рецепторы; шелевые и рецепторы; хемокины и хемокиновые рецепторы, такие как CCL5, CCR4, CCR5; бета-амилоид; факторы комплемента, такие как фактор комплемента D; липопротеины, такие как окисленные LDL (oxLDL); лимфотоксины, такие как лимфотоксин альфа (LT $\alpha$ ). Другие молекулярные мишени включают Tweak, B7RP-1, пропротеинконвертазу субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9), склеростин, c-kit, Tie-2, c-fms и анти-M1.

#### *Модифицированные полипептиды*

Полипептиды по изобретению могут иметь модифицированную аминокислотную последовательность. Модифицированные полипептиды могут быть по существу идентичны соответствующему эталонному полипептиду (например, аминокислотная последовательность модифицированного полипептида может иметь по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности эталонного полипептида). В некоторых вариантах осуществления модификация не нарушает в значительной степени желаемую биологическую активность (например, связывание с IGF-1R). Модификация может уменьшать (например, по меньшей мере на 5%, 10%, 20%, 25%, 35%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 90% или 95%), может не иметь эффекта или может повышать (например, по меньшей мере на 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, 200%, 500% или 1000%) биологическую активность исходного полипептида. Модифицированный полипептид может иметь или может оптимизировать характеристику полипептида, такую как стабильность *in vivo*, биодоступность, токсичность, иммунологическую активность, иммунологическую идентичность и свойства конъюгации.

Модификации включают модификации с помощью естественных процессов, таких как посттрансляционная обработка, или методы химической модификации, известные в данной области. Модификации могут происходить в любом месте полипептида, включая остов полипептида, боковые цепи аминокислот и amino- или карбоксиконец. Один и тот же тип модификации может быть в той же или различной степени в нескольких сайтах данного полипептида, и полипептид может содержать более одного типа модификации. Полипептиды могут быть разветвленными в результате убиквитинирования, а также они могут быть циклическими, с разветвлениями или без них. Циклические, разветвленные и разветвленные циклические полипептиды могут быть результатом посттрансляционных естественных процессов или могут быть получены синтетическим путем. Другие модификации включают пэгилирование, ацетилирование, ацилирование, добавление ацетомидометильной (Ac $m$ ) группы, ADP-рибозилирование, алкилирование, амидирование, биотинилирование, карбамоилирование, карбоксиэтилирование, этерификацию, ковалентное присоединение к флавину, ковалентное присоединение к фрагменту гема, ковалентное присоединение нуклеотида или производного нуклеотида, ковалентное присоединение лекарственного средства, ковалентное присоединение маркера (например, флуоресцентный или радиоактивный), ковалентное присоединение липида или

производного липида, ковалентное присоединение фосфатидилинозитола, сшивание, циклизацию, образование дисульфидной связи, деметилирование, образование ковалентных поперечных связей, образование цистина, образование пироглутамата, формилирование, гамма-карбоксилирование, гликозилирование, образование якоря GPI, гидрокселирование, йодирование, метилирование, миристоилирование, окисление, протеолитический процессинг, фосфорилирование, пренилирование, рацемизацию, селенилирование, сульфатирование, опосредованное транспортной РНК добавление аминокислот к белкам, такое как аргинилирование и убиквитинирование.

Модифицированный полипептид может также включать аминокислотную вставку, делецию или замену, как консервативную, так и неконсервативную (например, D-аминокислоты, дезаминокислоты) в последовательности полипептида (например, если такие изменения существенно не изменяют биологическую активность полипептида). В частности, добавление одного или нескольких остатков цистеина к амино- или карбоксиконцу какого-либо из полипептидов по изобретению может облегчить конъюгацию этих полипептидов, например, посредством дисульфидной связи. Например, полипептид можно модифицировать, включив один цистеиновый остаток на аминоконце или один цистеиновый остаток на карбоксиконце. Аминокислотные замены могут быть консервативными (то есть когда остаток заменяется другим остатком того же общего типа или группы) или неконсервативными (то есть когда остаток заменяется аминокислотой другого типа). Кроме того, природная аминокислота может быть заменена на не природную аминокислоту (то есть неприродная консервативная аминокислотная замена или неприродная неконсервативная аминокислотная замена).

Полипептиды, полученные синтетическим путем, могут включать аминокислотные замены, которые в природе не кодируются ДНК (например, не встречающиеся в природе или неприродного происхождения аминокислоты). Примеры не встречающихся в природе аминокислот включают D-аминокислоты, N-защищенные аминокислоты, аминокислоту, имеющую ацетиламинометильную группу, присоединенную к атому серы цистеина, пэгелированную аминокислоту, омега-аминокислоты формулы  $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ , где n обозначает 2-6, нейтральные неполярные аминокислоты, такие как саркозин, трет-бутилаланин, трет-бутилглицин, N-метилизолейцин и норлейцин. Фенилглицин может заменить Trp, Tyr или Phe; цитруллин и метионин сульфоксид являются нейтральными неполярными, цистеиновая кислота является кислой, а орнитин является основной. Пролин может быть заменен гидроксипролином и сохранять свойства, придающие конформацию.

Аналоги могут быть созданы путем заместительного мутагенеза и сохранять биологическую активность исходного полипептида. Примеры замен, обозначенных как «консервативные замены», показаны в таблице 1 ниже. Если такие замены приводят к нежелательным изменениям, тогда вводят другие типы замен, называемые «приводимыми в качестве примера заменами» в таблице 1 ниже или как дополнительно описано в настоящем описании в отношении классов аминокислот, и продукты подвергают скринингу.

Таблица 1: Аминокислотные заместители

Исходный остаток	Пример заместителя	Консервативное замещение
Ala (A)	Val, Leu, Ile	Val
Arg (R)	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn (N)	Gln, His, Lys, Arg	Gln
Asp (D)	Glu	Glu
Cys (C)	Ser	Ser
Gln (Q)	Asn	Asn
Glu (E)	Asp	Asp
Gly (G)	Pro	Pro
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Норлейцин	Leu
Leu (L)	Норлейцин, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys (K)	Arg, Gln, Asn	Arg
Met (M)	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala	Leu
Pro (P)	Gly	Gly
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr	Tyr
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val (V)	Ile, Leu, Met, Phe, Ala, Норлейцин	Leu

Существенные модификации функции или иммунологической идентичности достигаются путем выбора замен, которые значительно различаются по своему влиянию на сохранение (а) структуры полипептидного скелета в области замены, например, в виде листа или спирали, (b) заряда или гидрофобности молекулы в целевом сайте или (с) объема боковой цепи.

#### *Детектирующие агенты*

Детектирующий агент представляет собой молекулу или атом, которые вводят в конъюгированном виде с полипептидом, например, антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, и их можно использовать при диагностике заболевания путем обнаружения клеток, содержащих антиген, планирования лучевой терапии или лечения заболевания. Полезные агенты для обнаружения включают, но не ограничиваются ими, радиоизотопы, красители (например, с комплексом биотин-стрептавидин), контрастные агенты, флуоресцентные соединения или молекулы, люминесцентные агенты

и усиливающие агенты (например, парамагнитные ионы) для магнитно-резонансной томографии (MRI). Чтобы нагрузить полипептидный компонент детектирующим агентом, может оказаться необходимым ввести его в реакцию с реагентом, имеющим линкер, к которому присоединен детектирующий агент или несколько детектирующих агентов.

#### *Радиоизотопы и радионуклиды*

Радиоизотопы и радионуклиды, известные в данной области техники благодаря их применению в качестве детектирующих агентов, включают, но не ограничиваются ими,  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{55}\text{Co}$ ,  $^{60}\text{Cu}$ ,  $^{61}\text{Cu}$ ,  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Ga}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{82}\text{Rb}$ ,  $^{86}\text{Y}$ ,  $^{87}\text{Y}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{117\text{m}}\text{Sn}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{52}\text{Mn}$ ,  $^{149}\text{Tb}$ ,  $^{152}\text{Tb}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{199}\text{Au}$ ,  $^{201}\text{Tl}$ ,  $^{203}\text{Pb}$ ,  $^{212}\text{Pb}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{213}\text{Bi}$ ,  $^{225}\text{Ac}$ ,  $^{223}\text{Ra}$  и  $^{227}\text{Th}$ .

#### *Введение и дозировка*

Настоящее изобретение относится также к фармацевтическим композициям, которые содержат терапевтически эффективное количество соединения по изобретению. Композиция может быть составлена для использования в различных системах доставки лекарственных средств. В композицию также могут быть включены один или несколько физиологически приемлемых эксципиентов или носителей для надлежащего состава. Подходящие препараты для использования в настоящем изобретении можно найти в *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed., 1985. Краткий обзор методов доставки лекарств см., например, у Langer (*Science* 1990, 249, 1527-1533).

Фармацевтические композиции предназначены для парентерального, интраназального, местного, перорального или местного введения, такого как трансдермальные средства, для профилактического и/или терапевтического лечения. Фармацевтические композиции можно вводить парентерально (например, путем внутривенной, внутримышечной или подкожной инъекции), или перорально, или путем местного применения, или внутрисуставной инъекции в области, пораженные сосудистыми или раковыми заболеваниями. Дополнительные пути введения включают внутрисосудистый, внутриартериальный, внутриопухольный, внутрибрюшинный, внутрижелудочковый, интраэпидуральный, а также назальный, офтальмологический, интрасклеральный, интраорбитальный, ректальный, местный или аэрозольное ингаляционное введение. Введение с замедленным высвобождением также специально включено в изобретение с помощью таких средств, как инъекции депо или разрушаемых имплантатов или компонентов. Таким образом, изобретение относится к композициям для парентерального введения, которые включают, среди прочего, указанные выше агенты, растворенные или суспендированные в приемлемом носителе, предпочтительно, в водном носителе, например, в воде, забуференной воде, физиологическом растворе или PBS. Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, требуемые для приближения к физиологическим условиям, такие как, среди прочих, агенты, регулирующие pH и буферные вещества, агенты, регулирующие тоничность, смачивающие агенты или детергенты. Изобретение также относится к композициям для

перорального введения, которые могут содержать инертные ингредиенты, такие как связующие вещества или наполнители, для приготовления стандартной лекарственной формы, такой как таблетка или капсула. Кроме того, в данное изобретении предложены композиции для местного введения, которые могут содержать инертные ингредиенты, такие как растворители или эмульгаторы, для приготовления крема, мази, геля, пасты или глазных капель.

Эти композиции могут быть стерилизованы обычными методами стерилизации или могут быть подвергнуты стерилизующей фильтрации. Полученные водные растворы могут быть упакованы для использования в чистом виде или лиофилизированы, при этом перед введением лиофилизированный препарат смешивают со стерильным водным носителем. рН препаратов обычно составляет от 3 до 11, более предпочтительно, от 5 до 9 или от 6 до 8 и, наиболее предпочтительно, от 6 до 7, например, от 6 до 6,5. Полученные композиции в твердой форме могут быть расфасованы в несколько единиц разовой дозы, каждая из которых содержит фиксированное количество вышеупомянутого агента или агентов, например, в запечатанной упаковке таблеток или капсул. Композиция в твердой форме также может быть упакована в контейнер для мягкого вещества, например, в выдавливаемый тубик, предназначенный для крема или мази для местного применения.

Композиции, содержащие эффективное количество, можно вводить для планирования лучевой терапии, диагностики или терапевтического лечения. При введении для планирования лучевой терапии или в диагностических целях конъюгат вводят субъекту в диагностически эффективной дозе и/или в количестве, эффективном для определения терапевтически эффективной дозы. В терапевтических целях композиции вводят субъекту (например, человеку), уже страдающему заболеванием (например, раком), в количестве, достаточном для излечения или, по меньшей мере, частичного купирования симптомов расстройства и его осложнений. Количество, достаточное для достижения этой цели, определяется как «терапевтически эффективное количество», количество соединения, достаточное для существенного улучшения по меньшей мере одного симптома, связанного с заболеванием или состоянием здоровья. Например, при лечении рака терапевтически эффективным будет агент или соединение, которое уменьшает, предотвращает, задерживает, подавляет или останавливает любой симптом заболевания или состояния. Терапевтически эффективное количество агента или соединения не требуется для излечения заболевания или состояния, но обеспечивает лечение заболевания или состояния таким образом, что отсрочивает, препятствует или предотвращает начало заболевания или состояния, или облегчает заболевание или состояние симптомы, или изменяет течение заболевания или состояния, или, например, делает его менее тяжелым, или ускоряет выздоровление индивидуума. Конъюгаты по изобретению можно использовать для лечения рака путем введения субъекту первой дозы любого из вышеуказанных конъюгатов или композиций в количестве, эффективном для планирования лучевой терапии, с последующим введением второй дозы любого из вышеуказанных конъюгатов. или композиции в терапевтически эффективном количестве.

Количества, эффективные для этих применений, могут зависеть от тяжести заболевания или состояния, веса и общего состояния здоровья субъекта. Терапевтически эффективное количество композиций по настоящему изобретению и используемых в способах по настоящему изобретению применительно к млекопитающим (например, людям) может быть определено обычным специалистом в данной области техники с учетом индивидуальных различий в возрасте, весе и состоянии млекопитающего. Поскольку некоторые конъюгаты по изобретению проявляют повышенную способность нацеливаться на раковые клетки и образовывать остаточное количество, дозировка соединений по изобретению может быть ниже (например, меньше или равна около 90%, 75%, 50%, 40%, 30%, 20%, 15%, 12%, 10%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% или 0,1%) от эквивалентной дозы необходимого для терапевтического эффекта неконъюгированного и/или немеченого радиоактивным изотопом агента. Агенты по изобретению вводят субъекту (например, млекопитающему, такому как человек) в эффективном количестве, которое представляет собой количество, дающее желаемый результат у субъекта, которого лечат. Терапевтически эффективные количества также могут быть определены эмпирически специалистами в данной области.

Однократное или многократное введение композиций по изобретению, включая эффективное количество, может осуществляться с уровнями доз и режимом, выбранными лечащим врачом. Доза и схема введения могут быть определены и скорректированы на основе тяжести заболевания или состояния у субъекта, которое можно контролировать на протяжении всего курса лечения в соответствии со способами, обычно практикуемыми клиницистами, или методами, описанными в настоящем документе.

Конъюгаты по настоящему изобретению можно использовать в сочетании либо с обычными способами лечения или терапии, либо их можно использовать отдельно от обычных способов лечения или терапии.

Когда соединения по данному изобретению вводят в комбинированной терапии с другими агентами, их можно вводить индивидууму последовательно или одновременно. Альтернативно, фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут состоять из комбинации соединения по настоящему изобретению в сочетании с фармацевтически приемлемым эксципиентом, описанным в настоящем документе, и другим терапевтическим или профилактическим средством, известным в данной области.

Без дальнейшего уточнения полагают, что специалист в данной области техники может, основываясь на вышеприведенном описании, использовать настоящее изобретение в его самой полной степени. Поэтому следующие конкретные примеры следует рассматривать только как иллюстративные и никоим образом не ограничивающие остальную часть изобретения.

### **Примеры**

#### **Пример 1: Материалы и общие методы**

Актиний-225 ( $^{225}\text{Ac}$ ) был поставлен Программой изотопов Министерства энергетики США в Управлении науки ядерной физики. Лютеций-177 ( $^{177}\text{Lu}$ ) был получен от ITG Isotope Technologies Garching GmbH, а цирконий-89 ( $^{89}\text{Zr}$ ) был получен от 3D Imaging.

MALDI-TOF-MS (положительный ион) использовали для определения соотношения хелат-антитело в иммуноконъюгатах. Времяпролетную масс-спектрометрию с лазерной десорбцией/ионизацией с использованием матрицы (MALDI-TOF-MS) проводили с использованием спектрометра MALDI Bruker Ultraflextreme. Насыщенный раствор синапиновой кислоты готовили в растворителе TA30 (30:70 [об./об.] ацетонитрил: 0,1% ТФУ в воде). Образцы смешивали в соотношении 1:1 с раствором матрицы. На планшет наносили образец объемом 1 мкл, в качестве внешнего стандарта использовали белковый раствор BSA.

Эксклюзионную хроматографию (SEC) проводили с использованием системы Waters, состоящей из насоса Waters 1525 Binary HPLC, детектора Waters 2489 UV/Visible (мониторинг при 280 нм), радиодетектора Bioscan Flow Count (FC-3300) и колонки TOSOH TSKgel G3000SWxl, 7,8×300 мм.

SEC ВЭЖХ, метод элюирования 1: метод изократической SEC со скоростью потока=0,5 мл/мин, подвижной фазой из 0,2 М фосфата калия (pH 7), 0,25 М хлорида калия, 10% изопропанола, pH=7.

SEC ВЭЖХ, метод элюирования 2: метод изократической SEC со скоростью потока=1,0 мл/мин, подвижной фазой из 0,022 М  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0,047 М  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,60 М хлорида натрия, 0,0038 М азидата натрия, pH=7.

Радио-ТСХ выполняли с помощью сканера изображений Bioscan AR-2000 Imaging Scanner на пластинах для хроматографии со стеклянным микроволокном iTLC-SG (Agilent Technologies, SGI0001).

Радиоактивную препаративную ВЭЖХ с обращенной фазой проводили с использованием системы Waters, состоящей из насоса Waters 1525 Binary HPLC, детектора Waters 2489 UV/Visible (мониторинг при 254 и 214 нм), радиодетектора Bioscan Flow Count (FC-3300) и Atlantis ТЗ, колонки 4,6×150 мм (5 мкм), без защиты; подвижная фаза А:  $\text{H}_2\text{O}$  (0,1% об./об. ТФУ); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1% об./об. ТФУ); скорость потока=1,5 мл/мин; начальная=100% А, 3 мин=100% А, 13 мин=75% А, 15 мин=0% А.

Радиоактивную препаративную SEC ВЭЖХ проводили с использованием системы Waters, состоящей из насоса Waters 1525 Binary HPLC, детектора Waters 2489 UV/Visible (мониторинг при 280 нм), радиодетектора Bioscan Flow Count (FC-3300) и TOSOH TSKgel G3000SWxl, колонки 7,8×300 мм. Изократический метод SEC имел скорость потока=1,0 мл/мин, с подвижной фазой 0,022 М  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0,047 М  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,60 М хлорида натрия, pH=7.

Аналитическую ВЭЖХ-МС проводили с использованием системы Waters Acquity HPLC-MS, состоящей из Waters Acquity Binary Solvent Manager, Waters Acquity Sample Manager, Water Acquity Column Manager (температура колонки 30°C), Waters Acquity Photodiode Array Detector (мониторинг при 254 нм и 214 нм), Waters Acquity TQD с

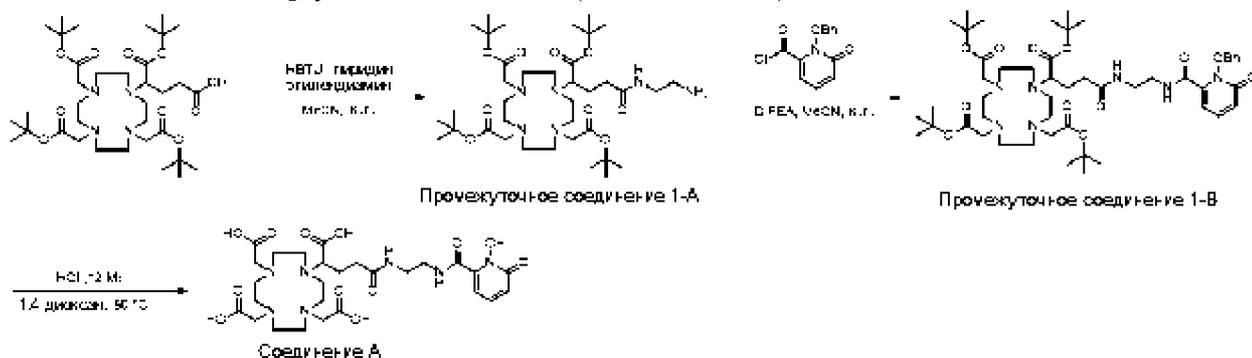
ионизацией электрораспылением и колонки Waters Acquity BEH C18, 2,1×50 мм (1,7 мкм). Препаративную ВЭЖХ проводили с использованием системы Waters HPLC, состоящей из насоса Waters 1525 Binary HPLC, детектора Waters 2489 UV/Visible (мониторинг при 254 нм и 214 нм) и колонки Waters XBridge Prep C18 19×100 мм (5 мкм) или Waters XBridge Prep Phenyl 19×100 мм (5 мкм).

Способ ВЭЖХ элюирования 1: колонка Waters Acquity BEH C18 2,1×50 мм (1,7 мкм); подвижная фаза А: Н<sub>2</sub>О (0,1% об./об. ТФУ); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1% об./об. ТФУ); скорость потока=0,3 мл/мин; длина волны=214, 254 нм; начальная=98% А, 3 мин=98% А, 8 мин=75% А, 10 мин=0% А, 11 мин=98% А, 12 мин=98% А.

Способ ВЭЖХ элюирования 2: колонка Waters Acquity BEH C18 2,1×50 мм (1,7 мкм); подвижная фаза А: Н<sub>2</sub>О (0,1% об./об. ТФУ); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1% об./об. ТФУ); скорость потока=0,3 мл/мин; длина волны=214, 254 нм; начальная=90% А, 8 мин=0% А, 10 мин=0% А, 11 мин=90% А, 12 мин=90% А.

Способ ВЭЖХ элюирования 3: колонка Waters Acquity BEH C18 2,1×50 мм (1,7 мкм); подвижная фаза А: Н<sub>2</sub>О (0,1% об./об. ТФУ); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1% об./об. ТФУ); скорость потока=0,3 мл/мин; длина волны=214, 254 нм; начальная=95% А, 8 мин=75% А, 10 мин=0% А, 11 мин=95% А, 12 мин=95% А.

**Пример 2:** Синтез 4-({2-[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)формамидо]этил}карбамоил)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (**соединение А**)



*Стадия 1: Синтез трет-бутил-4-[(2-аминоэтил)карбамоил]-2-{4,7,10-трис[2-(трет-бутоксиди)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}бутаноата (промежуточное соединение 1-А)*

В круглодонную колбу объемом 50 мл с мешалкой добавляли DOTA-GA(tBu)<sub>4</sub> (500 мг, 0,70 ммоль, 1 эквив.), NBTU (300 мг, 0,77 ммоль, 1,1 эквив.), безводный MeCN (30 мл) и наконец пиридин (2,94 мл, 36,3 ммоль, 52 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин и затем набирали в шприц и доставляли шприцевым насосом со скоростью 0,5 мл/мин в течение 1 ч в круглодонную колбу объемом 100 мл, содержащую этилендиамин (9,3 мл, 139 ммоль, 200 эквив.) и безводный MeCN (20 мл) при перемешивании при комнатной температуре. Реакцию контролировали с помощью ВЭЖХ-МС и по завершении реакцию контролировали в вакууме, и затем

очищали на препаративной колонке C18 HPLC с получением **промежуточного соединения 1-А** (435 мг, 64%) в виде белого/прозрачного остатка в виде ТФУ соли.

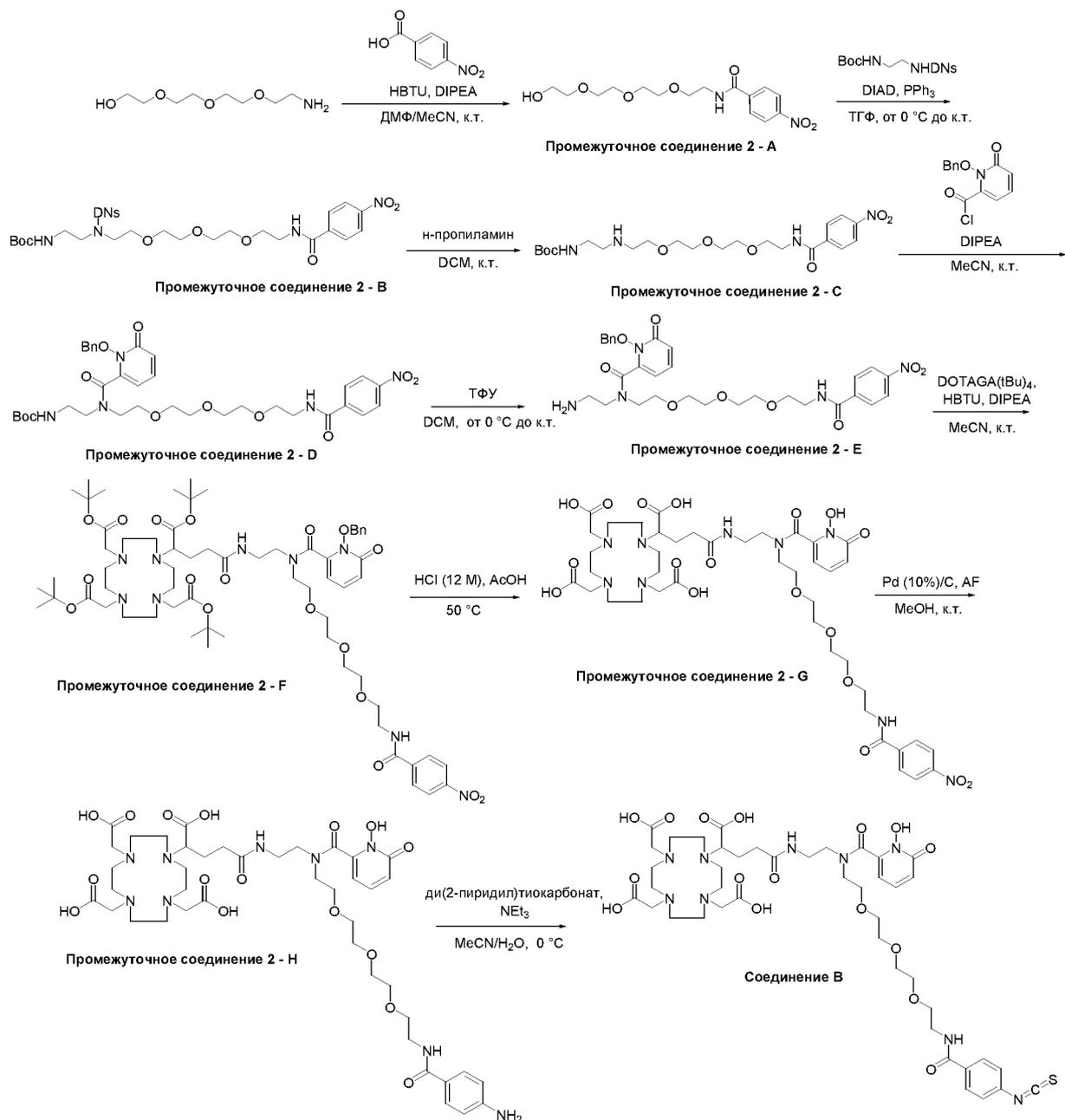
*Стадия 2: Синтез трет-бутил-4-[(2-[[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]формамидо]этил)карбамоил]-2-[4,7,10-трис[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутаноата (промежуточное соединение 1-В)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, снабженный механической мешалкой, содержащий ТФУ соль *трет*-бутил-4-[(2-аминоэтил)карбамоил]-2-[4,7,10-трис[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутаноата (**промежуточное соединение 1-А**) (125 мг, 0,13 ммоль) добавляли безводный MeCN (4 мл), *N, N*-диизопропилэтиламин (90 мкл, 0,51 ммоль) и наконец 1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-карбонил хлорид (*J. Med. Chem.* 2014, 57, 4849-486) (43 мг, 0,16 ммоль, растворенный в 496 мкл безводного MeCN). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и затем контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. По завершении реакцию смесь концентрировали в вакууме и затем очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **промежуточного соединения 1-В** (133 мг, 86%) в виде бледно-желтого остатка в виде ТФУ соли.

*Стадия 3: Синтез 4-([2-[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)формамидо]этил]карбамоил)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (соединение А)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий *трет*-бутил-4-[(2-[[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]формамидо]этил)карбамоил]-2-[4,7,10-трис[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутаноат (**промежуточное соединение 1-В**, 10 мг, 8,3 мкмоль) и снабженный мешалкой, добавляли 1,4-диоксан (0,5 мл) и HCl (0,5 мл, 12 М, ультрачистая). Полученный раствор герметически закрывали и перемешивали на масляной бане при температуре 50°C и протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. По завершении реакцию смесь концентрировали досуха в токе воздуха и затем очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **соединения А** (13,5 мг, колич.) в виде твердого вещества белого цвета в виде ТФУ соли с последующей лиофилизацией. Аликвоту анализировали с помощью ВЭЖХ-МС элюирования с использованием способа элюирования 1; время удерживания: 1,74 мин; MS (положительная ESI): найдено  $m/z$  656,0  $[M+H]^+$ ; C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>N<sub>7</sub>O<sub>12</sub> (вычисл. 656,3).°

**Пример 3:** Синтез 4-([2-[1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)-N-{2-[2-(2-[2-[(4-изотиоцианатофенил)формамидо]этокси}этокси)-этокси]этил]карбамоил]-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (**соединение В**)



**Стадия 1: Синтез N-(2-{2-[2-(2-гидроксиэтокс)этокс]этокс}этил)-4-нитробензамида (промежуточное соединение 2-А)**

В круглодонную колбу объемом 500 мл, снабженную мешалкой, содержащую 4-нитробензойную кислоту (2,00 г, 11,7 ммоль) добавляли безводный ДМФ (40 мл) и безводный MeCN (20 мл), затем DIPEA (4,00 мл, 22,7 ммоль) и HBTU (4,99 г, 12,9 ммоль). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и затем в течение 30 мин шприцевым насосом добавляли по каплям раствор амино-PEG4-спирта (2,54 г, 12,9 ммоль) в безводном ДМФ (6 мл) со скоростью 0,3 мл/мин. Протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС и после завершения реакцию смесь концентрировали досуха в вакууме и затем остаток ДМФ удаляли в токе воздуха с получением остатка масла коричневого цвета. Сырой остаток затем растворяли в DCM (200 мл) и затем последовательно промывали NaOH (1 M, 100 мл), HCl (1 M, 100 мл) и наконец насыщенным соевым раствором (100 мл). Органический слой затем сушили сульфатом

натрия, декантировали и концентрировали в вакууме. Сырой продукт затем очищали колоночной хроматографией на силикагеле и элюировали следующими стадиями: от EtOAc до 3% MeOH/97% DCM (об./об.) до 5% MeOH/95% DCM (об./об.) до 10% MeOH/90% DCM (об./об.) до MeOH). Продукт элюировали на более поздней части элюирования от 10% MeOH/90% DCM (об./об.) до MeOH. После концентрирования в вакууме фракций, содержащих продукт, получали **промежуточное соединение 2-А** (1,77 г, 32%, 71%-ная чистота) в виде масла коричневого/оранжевого цвета.

*Стадия 2: Синтез трет-бутил N-[2-(N-{2-[2-(2-{2-[(4-нитрофенил)формамидо]этокси}этокси)этокси]этил}2,4-динитробензолсульфонамидо)этил]карбамата (промежуточное соединение 2-В)*

В круглодонную колбу помещали N-(2-{2-[2-(2-гидроксиэтокси)этокси]этокси}этил)-4-нитробензамид (**промежуточное соединение 2-А**, 1,45 г, 3,02 ммоль, 71%-ная чистота), трет-бутил N-[2-(2,4-динитробензолсульфонамидо)этил]карбамат (1,53 г, 3,93 ммоль), мешалку, безводный ТГФ (52 мл) и затем охлаждали на ледяной бане при температуре 0°C. Затем при перемешивании реакционной смеси вручную по каплям в течение 5 мин добавляли DIAD (0,88 мл, 4,23 ммоль). Наконец в течение примерно 2 мин добавляли трифенилфосфин (1,12 г, 4,23 ммоль), реакционную смесь снимали с бани со льдом и перемешивали при комнатной температуре. За ходом реакции следили с помощью ВЭЖХ-МС, и она завершалась через 1 час. Реакцию обрабатывали путем концентрирования в вакууме с получением оранжевого масла. Затем сырой продукт очищали хроматографией на силикагеле и элюировали следующими стадиями: от 50% EtOAc/50% гексаны (об./об.) до EtOAc до 10% MeOH/90% DCM (об./об.) и наконец MeOH. Продукт совместно элюировали с трифенилфосфиноксидом в качестве основной примеси от 10% MeOH/DCM (об./об.) до элюирования MeOH. После концентрирования в вакууме фракций, содержащих продукт, получали **промежуточное соединение 2-В** (2,10 г, 67%, 69%-ная чистота) в виде масла оранжевого цвета.

*Стадия 3: трет-Бутил N-{1-[(4-нитрофенил)формамидо]-3,6,9-триокса-12-азатетрадекан-14-ил}карбамат (промежуточное соединение 2-С)*

*трет-Бутил N-[2-(N-{2-[2-(2-{2-[(4-нитрофенил)формамидо]этокси}этокси)этокси]этил}2,4-динитробензолсульфонамидо)этил]карбамат (промежуточное соединение 2-В*, 2,10 г, 2,03 ммоль, 69%-ная чистота) растворяли в DCM (40 мл) и затем при комнатной температуре медленно добавляли н-пропиламин (3,40 мл, 40,6 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, и по данным ВЭЖХ-МС было установлено, что она завершилась. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и затем очищали колоночной хроматографией на силикагеле. Сырой образец сухим помещали на силикагель и элюировали следующими стадиями: от EtOAc до 10% MeOH/90% DCM (об./об.) до DCM/MeOH/7 M NH<sub>3</sub> в MeOH (от соотношения 70:10:1, соотв., до соотношения 50:10:1, соответственно) с элюированием продукта в последней части градиента. После

концентрирования в вакууме фракций, содержащих продукт, получали **промежуточное соединение 2-С** (618 мг, 60%, 96%-ная чистота) в виде масла бледно-оранжевого цвета.

*Стадия 4: трет-Бутил N-(2-{1-[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]-N-{2-[2-(2-{2-[(4-нитрофенил)формамидо]этокси}этокси)-этокси]этил}формамидо}этил)карбамат (промежуточное соединение 2-D)*

К раствору хлорангирида 1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-карбоновой кислоты (*J. Med. Chem.* 2014, 57, 4849-4860) (196 мг, 0,74 ммоль), растворенного в безводном MeCN (2 мл), добавляли DIPEA (261 мкл, 1,49 ммоль) и затем при комнатной температуре добавляли раствор трет-бутил N-{1-[(4-нитрофенил)формамидо]-3,6,9-триокса-12-азатетрадекан-14-ил}карбамата (**промежуточное соединение 2-С**, 250 мг, 0,50 ммоль в виде 1,0 М раствора в безводном MeCN). Протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. Через 4 ч протекание реакции останавливалось при конверсии 80%, поэтому добавляли HBTU (192 мг, 0,50 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение еще 1 ч при комнатной температуре, что доводило реакцию до завершения. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и затем очищали колоночной хроматографией на силикагеле элюированием смесью 10% MeOH/DCM (об./об.) с получением **промежуточного соединения 2-D** (406 мг, 99%, 86%-ная чистота) в виде масла оранжевого цвета.

*Стадия 5: Синтез N-{2-[2-(2-{2-[N-(2-Аминоэтил)-1-[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]формамидо]этокси}этокси)-этокси]этил}-4-нитробензамида (промежуточное соединение 2-E)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий трет-бутил N-(2-{1-[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]-N-{2-[2-(2-{2-[(4-нитрофенил)формамидо]этокси}этокси)этокси]этил}формамидо}-этил)карбамат (**промежуточное соединение 2-D**, 200 мг, 0,24 ммоль) и мешалку, добавляли безводный DCM и затем перемешивали на ледяной бане при температуре 0°C. Далее добавляли трифторуксусную кислоту (370 мкл, 4,83 ммоль) и после добавления реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре, и протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. После завершения Реакционную смесь концентрировали в токе воздуха. Сырой остаток затем растирали в Et<sub>2</sub>O (3×7 мл) с получением **промежуточного соединения 2-E** (129 мг, 74%) в виде маслянистого остатка бледно-оранжевого цвета в виде ТФУ соли.

*Стадия 6: Синтез трет-бутил-4-[(2-{1-[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]-N-{2-[2-(2-{2-[(4-нитрофенил)формамидо]этокси}этокси)этокси]этил}формамидо}этил)карбамоил]-2-{4,7,10-трис[2-(трет-бутоксид)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}бутаноата (промежуточное соединение 2-F)*

К раствору DOTAGA(tBu)<sub>4</sub> (70 мг, 0,10 ммоль) в безводном MeCN (500 мкл) добавляли HBTU (38 мг, 0,10 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин и затем добавляли ТФУ соль N-{2-[2-(2-{2-[N-(2-аминоэтил)-1-[1-(бензилокси)-6-

оксопиридин-2-ил]формамидо]этокси}этокси)этокси]этил}-4-нитробензамида (**промежуточное соединение 2-E**, 64 мг, 89 мкмоль), растворенную в безводном MeCN (500 мкл), и DIPEA (57,6 мкл, 0,33 ммоль). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре и протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. После завершения реакцию смесь очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **промежуточного соединения 2-F** (122 мг, 86%) в виде прозрачной пленки в виде ТФУ соли.

*Стадия 7: Синтез 4-({2-[1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)-N-{2-[2-(2-{2-[4-нитрофенил]формамидо]этокси}этокси)-этокси]этил}формамидо]этил}карбамоил)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (**промежуточное соединение 2-G**)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий трет-бутил-4-[(2-{1-[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]-N-{2-[2-(2-{2-[4-нитрофенил]формамидо]этокси}этокси)этокси]этил}-формамидо}-этил)карбамоил]-2-{4,7,10-трис[2-(трет-бутоксид)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутаноат (**промежуточное соединение 2-F**, 97,5 мг, 56,4 мкмоль) и мешалку, добавляли AcOH (3 мл), затем HCl (3 мл, 12 M, ультрачистая). Полученный раствор герметично закрывали и перемешивали на масляной бане при температуре 50°, и протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. После завершения реакцию смесь концентрировали в токе воздуха и затем очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **промежуточного соединения 2-G** (29,7 мг, 43%) в виде бесцветной пленки в виде ТФУ соли.

*Стадия 8: Синтез 4-({2-(N-{2-[2-(2-{2-[4-аминофенил]формамидо]этокси}этокси)этокси]этил}-1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)формамидо]этил}карбамоил)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (**промежуточное соединение 2-H**)*

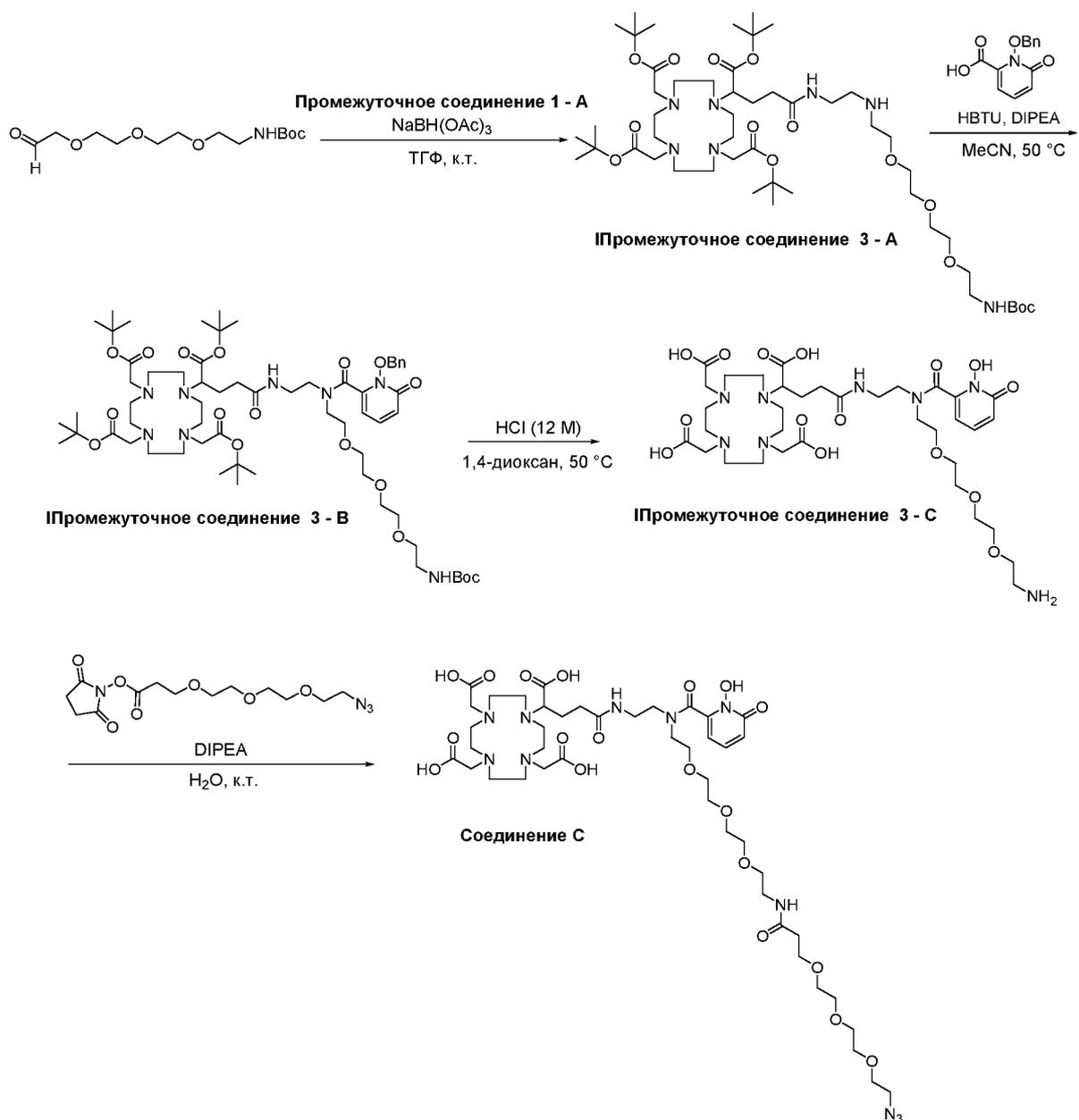
К раствору 4-({2-[1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)-N-{2-[2-(2-{2-[4-нитрофенил]формамидо]этокси}этокси)этокси]этил}-формамидо]этил}карбамоил)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (**промежуточное соединение 2-G**, 29,7 мг, 24,1 мкмоль) в метаноле (3,6 мл) в сцинтилляционном флаконе объемом 20 мл с мешалкой добавляли Pd (10%)/C (26,0 мг, 24,4 мкмоль) и наконец формиат аммония (155 мг, 241 ммоль). Затем реакцию смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре, и протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. После завершения реакцию смесь разбавляли метанолом (3 мл), фильтровали через 0,2 мкм шприцевой фильтр, концентрировали в вакууме и наконец очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **промежуточного соединения 2-H** (12,6 мг, 44%) в виде чистого осадка в виде ТФУ соли.

*Стадия 9: Синтез 4-({2-[1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)-N-{2-[2-(2-{2-[4-изотиоцианатофенил]формамидо]этокси}этокси)-*

этокси]этил}формамидо]этил}карбамоил)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (**соединение В**)

К раствору 4-{{2-(N-{2-[2-(2-{2-[(4-Аминофенил)формамидо]-этокси}этокси)этокси]этил}-1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)формамидо)этил]карбамоил}-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (**промежуточное соединение 2-Н**, 3,4 мг, 2,9 мкмоль) в 0,72 мл смеси 80% MeCN/20% H<sub>2</sub>O (об./об.) с мешалкой добавляли NEt<sub>3</sub> (1,12 мкл, 8,0 мкмоль); затем раствор помещали на баню со льдом и в конце добавляли ди(2-пиридил)тионокarbonат (1,2 мг, 5,0 мкмоль). Затем раствор оставляли перемешиваться при температуре 0°C, и протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. После завершения реакцию смесь очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **соединения В** (3,4 мг, 81%) в виде твердого вещества белого цвета в виде ТФУ соли с последующей лиофилизацией. Аликвоту анализировали с помощью ВЭЖХ-МС элюирования с использованием способа элюирования 2; время удерживания: 2,59 мин; MS (положительная ESI): найдено m/z 991,9 [M+H]<sup>+</sup>; C<sub>43</sub>H<sub>62</sub>N<sub>9</sub>O<sub>16</sub>S (вычисл. 992,4).

**Пример 4:** Синтез 4-[(2-{N-[2-(2-{2-[2-(3-{2-[2-(2-азидоэтокси)этокси]этокси}пропанамидо)этокси]этокси}этокси)-этил]-1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)формамидо}этил)-карбамоил]-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (**соединение С**)



*Стадия 1: Синтез трет-бутил-4-({1-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3,6,9-триокса-12-азатетрадекан-14-ил}карбамоил)-2-{{4,7,10-трис[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}бутаноата (промежуточное соединение 3-А)*

В круглодонную колбу объемом 50 мл с мешалкой добавляли ТФУ соль трет-бутил-4-[(2-аминоэтил)карбамоил]-2-{{4,7,10-трис[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}бутаноата (**промежуточное соединение 1-А**) (253 мг, 0,26 ммоль), трет-бутил N-(2-{2-[2-(2-оксоэтоксид)этокси]этокси}этил)карбамат (101 мг, 0,31 ммоль, ~90%-ная чистота в 25 мл безводном ТГФ) и наконец одной порцией добавляли триацетоксиборогидрид натрия (132 мг, 0,60 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре с выпускным отверстием для баллона и контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. Реакционную смесь обрабатывали добавлением  $\text{NaHCO}_3$  (2 мл, насыщенный водный раствор) и затем концентрировали в вакууме с получением твердого вещества белого цвета. Затем сырой продукт растворяли в смеси DCM (25 мл) и  $\text{H}_2\text{O}$  (25

мл), переносили в делительную воронку и экстрагировали органический слой. Водный слой экстрагировали дополнительными 25 мл DCM и затем органические слои объединяли, промывали насыщенным соевым раствором и затем сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме. Затем сырой продукт очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением трет-бутил-4-({1-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3,6,9-триокса-12-азатетрадекан-14-ил}карбамоил)-2-{4,7,10-трис[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}бутаноата (**промежуточное соединение 3-А**) (67 мг, 21%) в виде остатка бледно-желтого цвета в виде ТФУ соли.

*Стадия 2: Синтез трет-бутил-4-[(2-{1-[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]-N-{2-[2-(2-{2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-этокси}этокси)этокси]этил}формамидо}этил)карбамоил]-2-{4,7,10-трис[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}бутаноата (промежуточное соединение 3-В)*

К раствору 1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-карбоновой кислоты (20,9 мг, 81 мкмоль) в безводном MeCN (2 мл) добавляли НВТУ (31,7 мг, 81 мкмоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин и затем добавляли трет-бутил-4-({1-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3,6,9-триокса-12-азатетрадекан-14-ил}карбамоил)-2-{4,7,10-трис[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}бутаноат (**промежуточное соединение 3-А**, 67,3 мг, 54 мкмоль), растворенный в безводном MeCN (1 мл) с DIPEA (57 мкл, 324 мкмоль). Полученный раствор перемешивали на масляной бане при температуре 50°C и реакцию контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. После завершения реакцию смесь концентрировали в вакууме и затем очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **промежуточного соединения 3-В** (48 мг, 48%, ~80%-ная чистота) в виде прозрачной пленки в виде ТФУ соли.

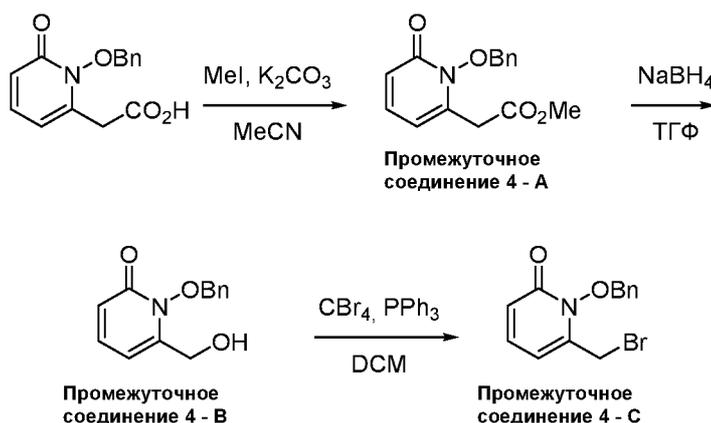
*Стадия 3: 4-({2-[N-(2-{2-[2-(2-Аминоэтокси)этокси]этокси}этил)-1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)формамидо]этил}карбамоил)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановая кислота (промежуточное соединение 3-С)*

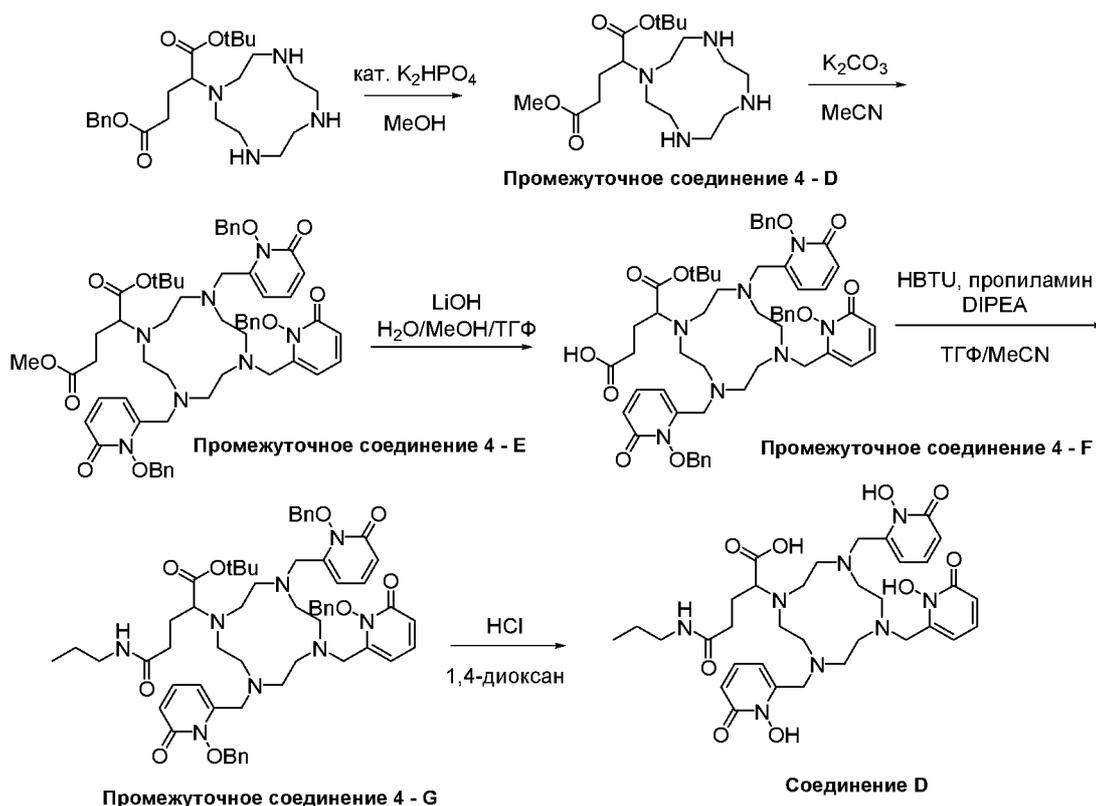
В сосуд, содержащий трет-бутил-4-[(2-{1-[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]-N-{2-[2-(2-{2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-этокси}этокси)этокси]этил}формамидо}этил)карбамоил]-2-{4,7,10-трис[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}бутаноат (**промежуточное соединение 3-В**, 14,1 мг, 8,13 мкмоль, ~85%-ная чистота), помещали мешалку, безводный 1,4-диоксан (1,5 мл), HCl (1,5 мл, 12 М, ультрачистая) и затем сосуд герметично закрывали. Полученный раствор перемешивали на масляной бане при температуре 50°C и протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. После завершения реакцию смесь концентрировали в токе воздуха и затем очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **промежуточного соединения 3-С** (6,5 мг, 76%) в виде прозрачной пленки в виде ТФУ соли.

Стадия 4: Синтез 4-[(2-{N-[2-(2-{2-[2-(3-{2-[2-(2-азидоэтокси)этокси]этокси}пропанамидо)этокси]этокси}-этокси)этил]-1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)формамидо}-этил)карбамоил]-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (соединение С)

В сосуд объемом 20 мл с мешалкой добавляли 3,5 мг 4-((2-[N-(2-{2-[2-(2-аминоэтокси)этокси]этокси}этил)-1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)формамидо]этил)карбамоил)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (промежуточное соединение 3-С, 3,5 мг, 3,3 мкмоль, конц.=2,0 мг/мл ультрачистого раствора в H<sub>2</sub>O) с последующим добавлением DIPEA (14,4 мкл, 83 мкмоль). Наконец добавляли азидо-PEG3-NHS (3,5 мг, 9,9 мкмоль) в виде свежерастворенного раствора в H<sub>2</sub>O (100 мкл ультрачистой H<sub>2</sub>O) и затем реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре. Протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС и по завершении реакцию смесь концентрировали в вакууме и затем очищали на препаративной ВЭЖХ колонке С18 с получением соединения С (3,2 мг, 75%) в виде прозрачной пленки в виде ТФУ соли. Аликвоту анализировали с помощью ВЭЖХ-МС элюирования с использованием способа элюирования 2; время удерживания: 1,80 мин, 2,28 мин и 2,52 мин (соотношение 75:9:16, соответственно) при соблюдении [M+H]<sup>+</sup> и/или [M+Na]<sup>+</sup>; MS (положительная ESI): найдено m/z 1060,1 [M+H]<sup>+</sup>; C<sub>44</sub>H<sub>74</sub>N<sub>11</sub>O<sub>19</sub> (вычисл. 1060,5).

**Пример 5:** Синтез 4-(пропилкарбамоил)-2-{4,7,10-трис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил}бутановой кислоты (соединение D)





*Стадия 1: Синтез метил 1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-карбоксилата (промежуточное соединение 4-А)*

В скintилляционный флакон объемом 20 мл помещали 1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-карбоновую кислоту (200 мг, 815 мкмоль), затем карбонат калия (225 мг, 1,63 ммоль) и 5 мл безводного ацетонитрила и 5 мл безводного тетрагидрофурана. Добавляли йодметан (110 мкл, 1,77 ммоль) и сосуд герметически закрывали и перемешивали при температуре 40°C в течение 16 ч. Затем добавляли Дополнительную порцию йодметана (55 мкл, 885 мкмоль) и реакцию продолжали еще в течение 24 часов. Твердые продукты затем удаляли фильтрацией и фильтрат концентрировали досуха при пониженном давлении. Остаток растворяли в 4 мл дихлорметана и оставшиеся твердые продукты удаляли 2<sup>ой</sup> фильтрацией. Маточный ликер упаривали совместно с 2×3 мл ацетонитрила с получением метил 1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-карбоксилата (**промежуточное соединение 4-А**) в виде прозрачного желтого масла (214 мг, 98%-ная чистота по данным ВЭЖХ, 99%-ный выход).

*Стадия 2: Синтез 1-(бензилокси)-6-(гидроксиметил)-1,2-дигидропиридин-2-она (промежуточное соединение 4-В)*

В круглодонную колбу объемом 25 мл помещали метиловый эфир 1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-карбоновой кислоты (**промежуточное соединение 4-А**, 214 мг, 829 мкмоль), затем  $NaBH_4$  (385 мг, 9,95 ммоль) и 8 мл безводного тетрагидрофурана. Затем к колбе присоединяли обратный холодильник и баллон с азотом и кипятили с обратным холодильником в течение 16 часов. Затем реакционную массу охлаждали до температуры 0-5°C и медленным добавлением 5 мл метанола. Смесь концентрировали досуха при пониженном давлении и затем растворяли в смеси дихлорметана и воды. Добавляли 2 мл

насыщенного раствора хлорида аммония и фазы разделяли на делительной воронке. Водную фазу экстрагировали 4×20 мл дихлорметана, органические слои объединяли и сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (s). Твердые продукты удаляли фильтрованием, промывали 3×20 мл дихлорметана и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением 1-(бензилокси)-6-(гидроксиметил)-1,2-дигидропиридин-2-она (**промежуточное соединение 4-B**) в виде воскообразного белого твердого вещества (144 мг, 85%-ная чистота по данным ВЭЖХ, 64%-ный выход).

*Стадия 3: Синтез 1-(бензилокси)-6-(бромметил)пиридин-2-она (промежуточное соединение 4-C)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали 1-(бензилокси)-6-(гидроксиметил)-1,2-дигидропиридин-2-он (**промежуточное соединение 4-B**, 63 мг, 272 мкмоль), затем тетрабромметан (135 мг, 409 мкмоль) и 2 мл безводного дихлорметана. Затем смесь охлаждали на бане со льдом и водой. После 10 минут охлаждения порциями добавляли трифенилфосфин (110 мг, 409 мкмоль) в виде твердого вещества в течение 10 минут. Еще через 10 минут реакцию проверяли с помощью ТСХ и подтверждали ее завершение. Реакцию гасили 0,5 мл насыщенного раствора сульфита натрия (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут. Затем реакционную смесь переносили в делительную воронку, экстрагировали дихлорметаном и органические слои сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (тв.). Твердые продукты удаляли фильтрацией и маточный ликер концентрировали при пониженном давлении до остатка. Очистка колоночной флэш-хроматографией на диоксиде кремния (элюент: 30% толуола в этилацетате) давала 1-(бензилокси)-6-(бромметил)пиридин-2-он (**промежуточное соединение 4-C**) в виде прозрачного вязкого масла, которое при стоянии затвердевало до белой пленки (63 мг, 75%).

*Стадия 4: Синтез 1-трет-бутил 5-метил-2-(1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)пентадиоата (промежуточное соединение 4-D)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий 5-бензил 1-трет-бутил-2-(1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)пентадиоат (*Org. Process Res. Dev.* 2009, 13, 535-542) (112 мг, 250 мкмоль) помещали двухосновный фосфат калия (4,5 мг, 25 мкмоль, 0,1 эквив.) и 4 мл метанола и реакционный сосуд нагревали при температуре 75°C в течение 3,5 ч. Затем добавляли дополнительную порцию двухосновного фосфата калия (10 мг, 57 мкмоль, 0,2 эквив.) и реакционную смесь выдерживали при температуре 75°C течение дополнительных 16 ч. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали досуха при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в 1 мл смеси 1:1 вода:ацетонитрил, фильтровали через фильтр 0,2 мкм и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке C18. 1-Трет-бутил 5-метил-2-(1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)пентадиоат (**промежуточное соединение 4-D**) получали в виде масла бледно-желтого цвета (61 мг, 41%-ный выход в виде ТФУ соли).

*Стадия 5: Синтез 1-трет-бутил 5-метил 2-[4,7,10-трис({[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пентадиоата (промежуточное соединение 4-E)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали 1-(бензилокси)-6-(бромметил)-1,2-дигидропиридин-2-он (**промежуточное соединение 4-C**, 33 мг, 165 мкмоль), 1-трет-бутил 5-метил 2-(1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)пентадиоат (**промежуточное соединение 4-D**, 20 мг, 53,7 мкмоль) и карбонат калия (46,8 мг, 165 мкмоль), затем 2 мл безводного ацетонитрила. Свободное пространство флакона продували азотом, затем флакон закрывали крышкой и нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 4 часов и 20 минут. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали до остатка. Остаток растирали в 4 мл дихлорметана и затем фильтровали для удаления нерастворимых твердых веществ. Фильтрат концентрировали досуха при пониженном давлении и полученный остаток растворяли в 2 мл смеси 1:1 ацетонитрил:вода. Этот раствор фильтровали через фильтр 0,2 мкм и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке C18 с получением 1-трет-бутил 5-метил 2-[4,7,10-трис({[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пентадиоата (**промежуточное соединение 4-E**) в виде небольших бесцветных частиц в (28 мг, 68%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 29%-ный выход в виде ТФУ соли). **Промежуточное соединение 4-E** использовали дальше без дополнительной очистки.

*Стадия 6: Синтез 5-(трет-бутокси)-5-оксо-4-[4,7,10-трис({[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пентановой кислоты (промежуточное соединение 4-F)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали 1-трет-бутил 5-метил 2-[4,7,10-трис({[1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пентадиоат (**промежуточное соединение 4-E**, 28 мг, 18,8 мкмоль, 68%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ) затем гидроксид лития (1,5 мг, 230 мкмоль), затем 1,5 мл смеси 1:1:1 вода:тетрагидрофуран:метанол и раствор перемешивали при температуре окружающей среды. Через 1,5 часа добавляли дополнительную порцию гидроксида лития (4 мг, 167 мкмоль) и реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре в течение еще 5 ч. Затем реакционную смесь концентрировали до остатка при пониженном давлении и затем растворяли в 2 мл смеси 1:1 ацетонитрил:0,1% трифторуксусная кислота в воде. Этот раствор пропускали через фильтр 0,2 мкм и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке C18 с получением 5-(трет-бутокси)-5-оксо-4-[4,7,10-трис({[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пентановой кислоты (**промежуточное соединение 4-F**) в виде прозрачной и бесцветной пленки (17 мг, 91%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 67%-ный выход в виде ТФУ соли). **Промежуточное соединение 4-F** использовали на последующих стадиях без дополнительной очистки.

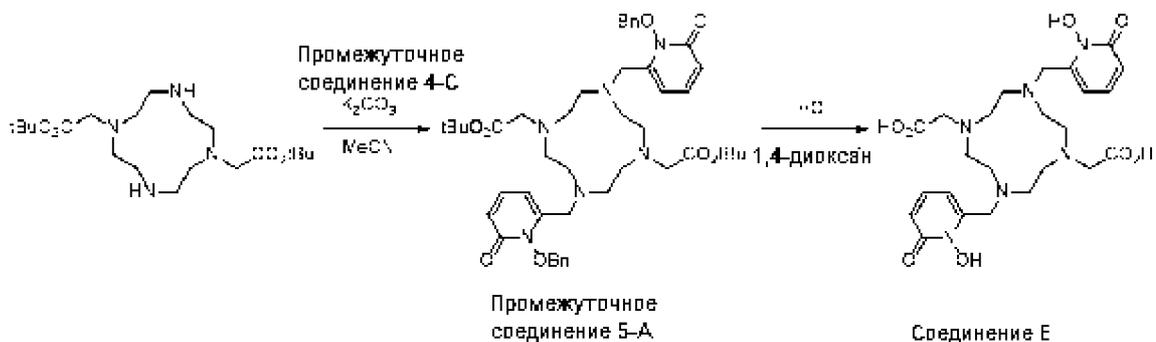
*Стадия 7: Синтез трет-бутил 4-(пропилкарбамоил)-2-[4,7,10-трис({[1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутаноата (промежуточное соединение 4-G)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий 5-(трет-бутоксид)-5-оксо-4-[4,7,10-трис({[1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пентановую кислоту (**промежуточное соединение 4-F**, 17 мг, 15,5 мкмоль), добавляли НВТУ (7,1 мг, 18,6 мкмоль) и затем 1 мл безводного ацетонитрила и 1 мл безводного тетрагидрофурана. Затем добавляли диизопропилэтиламин (13,5 мкл, 77,5 мкмоль) и смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 25 минут. Затем добавляли пропиламин (2,55 мкл, 31 мкмоль) и смесь выдерживали при температуре окружающей среды в течение еще 1 ч 15 минут. Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении до остатка, растворяли в 2 мл смеси 1:1 ацетонитрил:вода, фильтровали через фильтр 0,2 мкм и очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18. Трет-бутил 4-(пропилкарбамоил)-2-[4,7,10-трис({[1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутаноат (**промежуточное соединение 4-G**) получали в виде прозрачной пленки (14,5 мг, 94%-ная чистота по данным ВЭЖХ, 70%-ный выход в виде ТФУ соли). **Промежуточное соединение 4-G** использовали на последующих стадиях без дополнительной очистки.

*Стадия 8: Синтез 4-(пропилкарбамоил)-2-{4,7,10-трис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}бутановой кислоты (соединение D)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий трет-бутил 4-(пропилкарбамоил)-2-[4,7,10-трис({[1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутаноат (**промежуточное соединение 4-г**, 14,5 мг, 13,95 мкмоль) и мешалку, добавляли безводный 1,4-диоксан (0,5 мл) и HCl (12 M, 0,5 мл). Полученный раствор герметически закрывали и перемешивали на масляной бане при температуре 50°C в течение 4 ч. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали в токе воздуха до тонкого остатка. Добавляли 4 мл ацетонитрила и смесь концентрировали при пониженном давлении до остатка. Это повторяли еще три раза с 3 мл ацетонитрила при каждом повторении. Полученный остаток растворяли в 1 мл 0,1% раствора трифторуксусной кислоты в воде и очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением 4-(пропилкарбамоил)-2-{4,7,10-трис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}бутановой кислоты (**соединение D**) в виде прозрачной бесцветной пленки (5,0 мг, 30%-ный выход в виде ТФУ соли, >80%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ). Аликвоту анализировали методом 3 элюирования ВЭЖХ; время удерживания=3,6 мин; MS (положительная ESI): найдено  $m/z=713,0$  [M+H]<sup>+</sup>; C<sub>34</sub>H<sub>49</sub>N<sub>8</sub>O<sub>9</sub> (вычисл. 713,4).

**Пример 6:** Синтез [7-(карбоксиметил)-4,10-бис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]уксусной кислоты (**соединение E**)



*Стадия 1: Синтез трет-бутил 2-[4,10-бис(1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил)метил]-7-[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]ацетата (промежуточное соединение 5-А)*

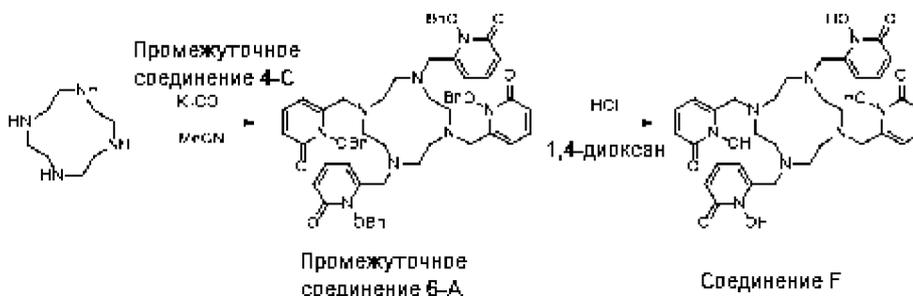
В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали 1-(бензилокси)-6-(бромметил)-1,2-дигидропиридин-2-он (промежуточное соединение 4-С, 12,2 мг, 41,5 мкмоль), трет-бутил 2-{7-[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}ацетат (*Dalton Trans.* 2016, 45, 4791-4801) (8 мг, 20 мкмоль) и карбонат калия (13 мг, 41,5 мкмоль,) затем 2 мл безводного ацетонитрила. Свободное пространство флакона продували азотом и затем герметично закрывали и нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 3,5 ч. Затем нерастворимые твердые продукты удаляли фильтрацией и маточный ликер концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в 1 мл смеси 1:1 ацетонитрил:вода и фильтровали через фильтр 0,2 мкм. Остаток очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением трет-бутил 2-[4,10-бис(1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил)метил]-7-[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]ацетата (промежуточное соединение 5-А) в виде небольших бесцветных частиц, относящихся к продукту в виде смеси, которую использовали на последующих стадиях без дополнительной очистки (20,5 мг, 68%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 66%-ный выход в виде ТФУ соли).

*Стадия 2: Синтез [7-(карбоксиметил)-4,10-бис(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]уксусной кислоты (соединение E)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий трет-бутил 2-[4,10-бис(1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил)метил]-7-[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]ацетат (промежуточное соединение 5-А, 19,4 мкмоль) и мешалку, добавляли безводный 1,4-диоксан (1 мл) и HCl (12 М, 1 мл). Полученный раствор герметически закрывали и перемешивали на масляной бане при температуре 50°C в течение 7 ч. Затем реакционную смесь концентрировали в потоке сжатого воздуха, а затем совместно выпаривали с 2 мл воды при пониженном давлении с получением прозрачного и бесцветного остатка. Остаток растворяли в 1 мл 0,1% раствора трифторуксусной кислоты в воде, раствор пропускали через фильтр 0,2 мкм и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением [7-(карбоксиметил)-4,10-бис(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]уксусной кислоты (соединение E) в виде прозрачной бесцветной пленки (7,2 мг, 93%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ,

46%-ный выход в виде ТФУ соли). Аликвоту анализировали методом 3 элюирования ВЭЖХ; время удерживания=1,2 мин; MS (положительная ESI): найдено  $m/z=534,8$   $[M+H]^+$ ;  $C_{24}H_{35}N_6O_8$  (вычисл. 535,3).

**Пример 7:** Синтез 1-гидрокси-6-({4,7,10-трис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}метил)пиридин-2-она (**соединение F**)



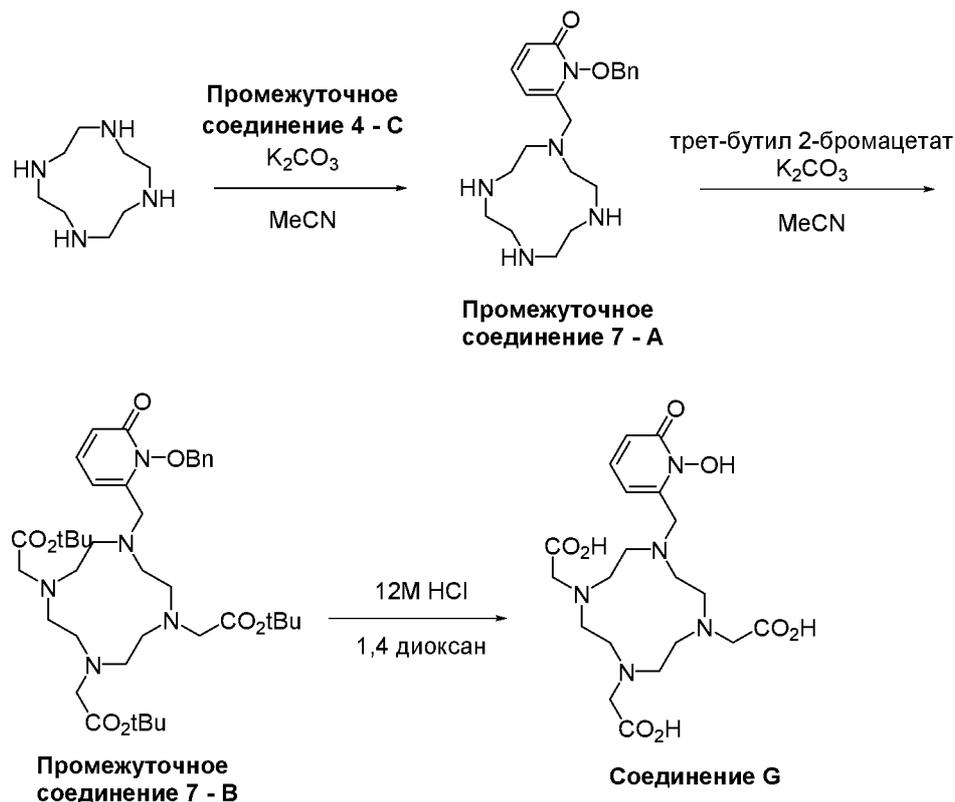
*Стадия 1: Синтез 1-(бензилокси)-6-{{4,7,10-трис[{1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]метил}-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]метил}пиридин-2-она (промежуточное соединение 6-А)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 4-С** (33 мг, 107 мкмоль), циклен (4,7 мг, 27,3 мкмоль) и карбонат калия (31 мг, 224 мкмоль) затем 2 мл безводного ацетонитрила. Свободное пространство флакона продували азотом и затем герметично закрывали и нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 14 ч. Затем реакционную массу охлаждали до комнатной температуры, затем концентрировали досуха при пониженном давлении. Остаток растворяли в 1 мл смеси 1:1 ацетонитрил:вода и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **промежуточного соединения 6-А** в виде светло-желтой вязкой пленки (9,3 мг, 98%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 27%-ный выход в виде ТФУ соли).

*Стадия 2: 1-Гидрокси-6-({4,7,10-трис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}метил)пиридин-2-он (соединение F)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий **промежуточное соединение 6-А** и мешалку, добавляли 0,5 мл безводного 1,4-диоксана и 0,5 мл 12 М соляной кислоты. Реакционный сосуд герметично закрывали и перемешивали при температуре 50°C в течение 1 ч и 40 мин. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали в токе воздуха. Остаток дополнительно упаривали с 4 мл ацетонитрила при пониженном давлении. Полученный концентрат растворяли в 1 мл 0,1% раствора трифторуксусной кислоты в воде и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **соединения F** в виде непрозрачной бесцветной пленки (4,0 мг, 85%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 42%-ный выход в виде ТФУ соли). Аликвоту анализировали методом 3 элюирования ВЭЖХ; время удерживания=3,9 мин; MS (положительная ESI): найдено  $m/z=665,9$   $[M+H]^+$ ;  $C_{32}H_{41}N_8O_8$  (вычисл. 665,3).

**Пример 8:** Синтез [4,7-бис(карбоксиметил)-10-[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]уксусной кислоты (**соединение G**)



*Стадия 1: 1-(Бензилокси)-6-(1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-илметил)пиридин-2-он (промежуточное соединение 7-А)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 4-С** (17 мг, 58 мкмоль), циклен (20 мг, 117 мкмоль) и карбонат калия (35 мг, 255 мкмоль), затем 3 мл безводного ацетонитрила. Свободное пространство флакона продували азотом и затем герметично закрывали и нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 18 ч. Затем реакционную массу охлаждали до комнатной температуры, затем концентрировали досуха при пониженном давлении. Остаток растирали в дихлорметане (2×2 мл) и твердые продукты удаляли фильтрацией и маточный ликер концентрировали до остатка. Смесь растворяли в 1,5 мл смеси 2:1 0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде:ацетонитрил и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **промежуточного соединения 7-А** в виде прозрачной бесцветной пленки (28 мг, >98%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 79%-ный выход в виде ТФУ соли).

*Стадия 2: трет-Бутил 2-(4-{{1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил}метил}-7,10-бис[2-(трет-бутоксид)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)ацетат (промежуточное соединение 7-В)*

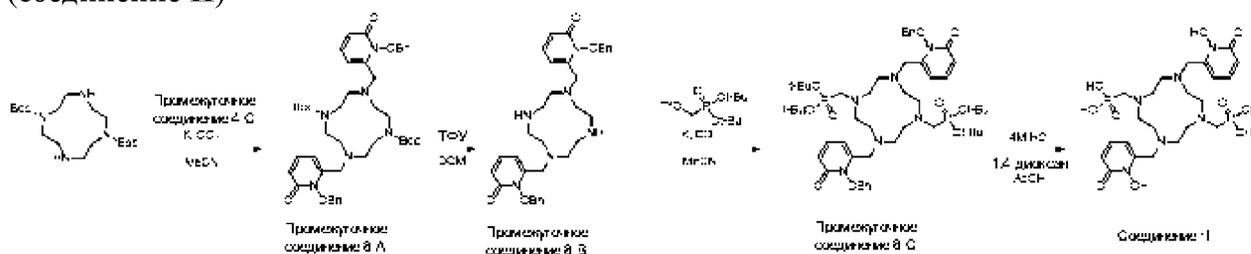
В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 7-А** (28 мг, 46 мкмоль), трет-бутил 2-бромацетат (29,5 мг, 151 мкмоль) и карбонат калия (39 мг, 284 мкмоль), затем 3 мл безводного ацетонитрила. Свободное пространство флакона продували азотом и затем герметично закрывали и нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 14,5 ч. Затем реакционную массу охлаждали до комнатной температуры, затем концентрировали досуха при пониженном давлении. Остаток

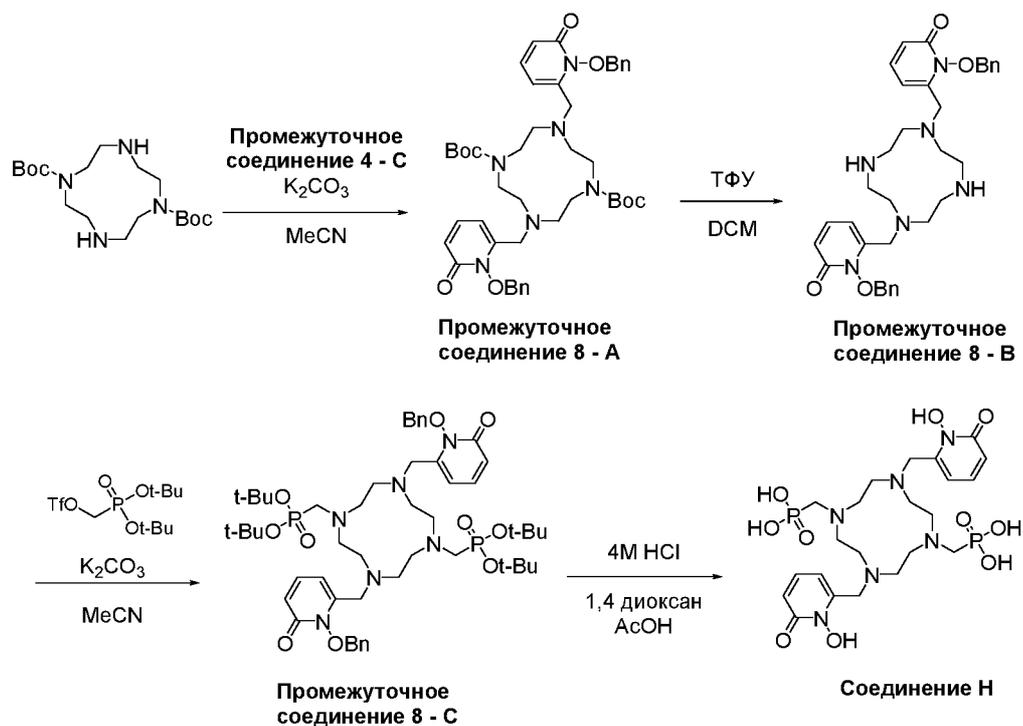
растирали в дихлорметане (2×2 мл), твердые продукты удаляли фильтрацией и маточный ликер концентрировали до остатка. Смесь растворяли в 2 мл смеси 2:1 ацетонитрил:вода и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **промежуточного соединения 7-В** в виде прозрачной бесцветной пленки (23 мг, >98%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 51%-ный выход в виде ТФУ соли).

**Стадия 3:** [4,7-бис(Карбоксиметил)-10-[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазазациклододекан-1-ил]уксусная кислота (**соединение G**)

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 7-В** (23 мг, 32 мкмоль), 0,5 мл безводного 1,4-диоксана и затем 0,5 мл 12 М соляной кислоты. Свободное пространство флакона продували азотом и затем герметично закрывали и нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 18 ч. Затем реакционную массу охлаждали до комнатной температуры, затем концентрировали досуха в токе сжатого воздуха и затем совместно выпаривали с 4 мл воды марки Trace Select при пониженном давлении с получением прозрачного и бесцветного остатка. Остаток растворяли в 1 мл воды марки Trace Select и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **соединения G** в виде прозрачной бесцветной пленки (8,8 мг, >93%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 37%-ный выход в виде ТФУ соли). Аликвоту анализировали методом 1 элюирования ВЭЖХ; время удерживания=0,74 мин; MS (положительная ESI): найдено  $m/z=469,8$   $[M+H]^+$ ;  $C_{20}H_{32}N_5O_8$  (вычисл. 470,2).

**Пример 9:** Синтез {4,10-бис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-7-(фосфонометил)-1,4,7,10-тетраазазациклододекан-1-ил} метилфосфоновой кислоты (**соединение H**)





*Стадия 1:* 1,7-Ди-трет-бутил 4,10-бис(1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил)метил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,7-дикарбоксилат (промежуточное соединение 8-А)

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали 1,7-ди-трет-бутил 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,7-дикарбоксилат (250 мг, 604 мкмоль), **промежуточное соединение 4-С** (332 мг, 1,13 ммоль) и карбонат калия (297 мг, 2,15 ммоль), затем 3 мл безводного ацетонитрила и 0,5 г молекулярных сит. Свободное пространство флакона продували азотом и затем герметично закрывали и нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 19 ч. Затем реакционную массу охлаждали до комнатной температуры, твердые продукты удаляли фильтрацией и маточный ликер затем концентрировали досуха при пониженном давлении. Смесь растворяли в 3 мл смеси 2:8 вода:ацетонитрил и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **промежуточного соединения 8-А** в виде прозрачного тяжелого масла светло-желтого цвета (646 мг, >85%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 91%-ный выход в виде ТФУ соли).

*Стадия 2:* 1-(Бензилокси)-6-[(7-{1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-ил}метил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]метил]-1,2-дигидропиридин-2-она (промежуточное соединение 8-В)

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 8-А** (646 мг, 630 мкмоль), затем 3 мл дихлорметана и затем 1 мл трифторуксусной кислоты. Реакционный сосуд герметично закрывали и выдерживали при перемешивании при температуре 20-25°C в течение 6,5 ч. Затем реакционную смесь концентрировали в токе сжатого воздуха, затем совместно выпаривали с 2×4 мл ацетонитрила при пониженном давлении с получением прозрачного и бесцветного вязкого остатка. Остаток растворяли в

5 мл смеси 3:1 0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде:ацетонитрил и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **промежуточного соединения 8-В** в виде прозрачного тяжелого масла светло-желтого цвета (362 мг, >98%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 70%-ный выход в виде ТФУ соли).

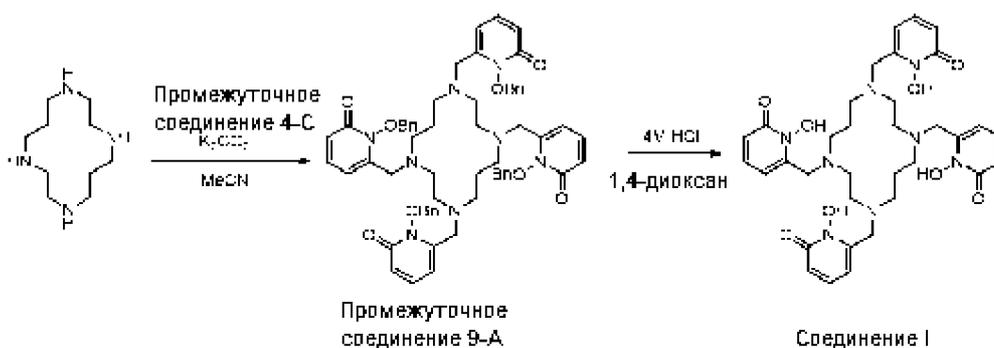
*Стадия 3: Ди-трет-бутил [4,10-бис({[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]метил})-7-{{бис(трет-бутоксифосфорил)метил}-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]метилфосфонат (промежуточное соединение 8-С)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 8-В** (50 мг, 60,5 мкмоль), затем [бис(трет-бутоксифосфорил)метил]трифторметансульфонат (40 мг, 133 мкмоль) и карбонат калия (26 мг, 181 мкмоль), затем 2 мл безводного ацетонитрила. Свободное пространство флакона продували азотом и затем герметично закрывали и нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 18 ч. Добавляли дополнительную аликвоту [бис(трет-бутоксифосфорил)метил]трифторметансульфоната (15 мг, 50 мкмоль) и реакционную смесь выдерживали при температуре 50°C в течение еще 72 ч. Затем реакционную массу охлаждали до комнатной температуры, твердые продукты удаляли фильтрацией и маточный ликер концентрировали досуха при пониженном давлении. Полученную смесь растворяли в 1 мл ацетонитрила и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **промежуточного соединения 8-С** в виде смеси с побочными продуктами гидролиза моно- и дифосфоновой кислоты в соотношении 38:36:22, соответственно. Выделяли 21 мг прозрачной бесцветной пленки (21 мг, смесь, как описано выше, 25%-ный выход в виде ТФУ соли). Поскольку все компоненты были продуктивными в отношении желаемого продукта, смесь использовали без дополнительной очистки.

*Стадия 4: {4,10-бис[(1-Гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-7-(фосфометил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}метилфосфовая кислота (соединение Н)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали смесь **промежуточного соединения 8-С** (21 мг, прибл. 15,3 мкмоль), затем по 1,5 мл каждой из 4М HCl в 1,4 диоксан и 4М HCl в уксусной кислоте. Сосуд затем герметично закрывали и нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 19 ч. Затем реакционную массу охлаждали до комнатной температуры, затем концентрировали досуха в токе сжатого воздуха, затем совместно выпаривали с 3 мл воды марки Trace Select при пониженном давлении с получением прозрачного и бесцветного остатка. Остаток растворяли в 1 мл 0,1% раствора трифторуксусной кислоты в воде марки Trace Select и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **соединения Н** в виде непрозрачного светло-желтого меловидного порошка (11,6 мг, >98%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 91%-ный выход в виде ТФУ соли). Аликвоту анализировали методом 1 элюирования ВЭЖХ; время удерживания=0,70 мин; MS (положительная ESI): найдено m/z=607,0 [M+H]<sup>+</sup>; C<sub>22</sub>H<sub>37</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>P<sub>2</sub> (вычисл. 607,2).

**Пример 10:** Синтез 1-гидрокси-6-({4,8,11-трис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1-ил}метил)пиридин-2-она (**соединение I**)



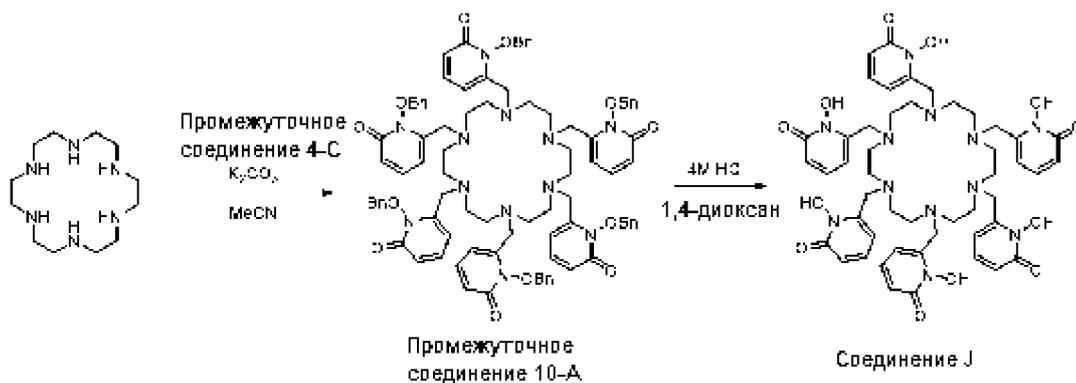
*Стадия 1:* 1-(Бензилокси)-6-{{4,8,11-трис({1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил}метил)}-1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1-ил}метил}тиридин-2-он  
(промежуточное соединение 9-А)

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан (циклам, 30 мг, 135 мкмоль), **промежуточное соединение 4-С** (198 мг, 674 мкмоль) и карбонат калия (112 мг, 809 ммоль), затем 2 мл безводного ацетонитрила и 0,3 г молекулярных сит. Свободное пространство флакона продували азотом и затем герметично закрывали и нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 22,5 ч. Затем реакционную массу охлаждали до комнатной температуры, твердые продукты удаляли фильтрацией и маточный ликер затем концентрировали досуха при пониженном давлении. Смесь растворяли в 2 мл смеси 2:3 вода:ацетонитрил и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **промежуточного соединения 9-А** в виде прозрачной бесцветной вязкой пленки (110 мг, >98%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 64%-ный выход в виде ТФУ соли).

*Стадия 2:* 1-Гидрокси-6-({4,8,11-трис[1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил}метил]-1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1-ил}метил)тиридин-2-он (соединение I)

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 9-А** (20 мг, 15,6 мкмоль), затем 1 мл 4 М хлористоводородной кислоты в 1,4-диоксане. Реакционный сосуд герметично закрывали и выдерживали при перемешивании при температуре 50°C в течение 2 ч. Затем реакционную смесь концентрировали в токе сжатого воздуха, затем совместно выпаривали с 2×4 мл воды марки Trace Select при пониженном давлении с получением прозрачной и бесцветной пленки. Остаток растворяли в 1 мл смеси 7:3 0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде:ацетонитрил и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **соединения I** в виде прозрачной бесцветной пленки (6 мг, 98%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 42%-ный выход в виде ТФУ соли). Аликвоту анализировали методом 2 элюирования ВЭЖХ; время удерживания=2,3 мин; MS (положительная ESI): найдено  $m/z=692,9$   $[M+H]^+$ ;  $C_{34}H_{45}N_8O_8$  (вычисл. 693,3).

**Пример 11:** Синтез 1-гидрокси-6-({4,7,10,13,16-пентакис[1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил}метил]-1,4,7,10,13,16-гексаазациклооктадекан-1-ил}метил)пиридин-2-она (соединение J)



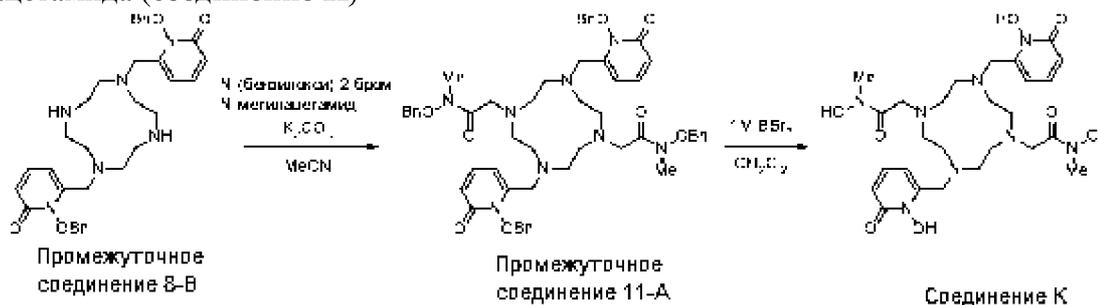
*Стадия 1: 1-(Бензилокси)-6-{{[4,7,10,13,16-пентакис({[1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10,13,16-гексаазациклооктадекан-1-ил]метил}-1,2-дигидропиридин-2-он (промежуточное соединение 10-А)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан трисульфат (гексациклен трисульфат, 44 мг, 71,7 мкмоль), **промежуточное соединение 4-С** (147 мг, 502 мкмоль) и карбонат калия (119 мг, 860 мкмоль), затем 2 мл безводного ацетонитрила и 0,4 г молекулярных сит. Свободное пространство флакона продували азотом и затем герметично закрывали и нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 19 ч. В этот момент добавляли трет-бутоксид калия (24 мг, 214 мкмоль), а также дополнительные 2 мл безводного ацетонитрила и реакцию смесь повторно нагревали при температуре 50°C в течение еще 76 ч. Затем реакционную массу охлаждали до комнатной температуры, твердые продукты удаляли фильтрацией и маточный ликер концентрировали досуха при пониженном давлении. Смесь растворяли в 1,5 мл смеси 2:8 вода:ацетонитрил и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **промежуточного соединения 10-А** в виде толстой желтой пленки (47 мг, 77%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 30%-ный выход в виде ТФУ соли).

*Стадия 2: 1-Гидрокси-6-({[4,7,10,13,16-пентакис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10,13,16-гексаазациклооктадекан-1-ил]метил)пиридин-2-он (соединение J)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 10-А** (47 мг, 77%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 21,3 мкмоль), затем 1 мл 4 М хлористоводородной кислоты в 1,4-диоксане. Реакционный сосуд герметично закрывали и выдерживали при перемешивании при температуре 50°C в течение 2 ч. Затем реакционную смесь концентрировали в токе сжатого воздуха, затем совместно выпаривали с 2×4 мл воды марки Grace Select при пониженном давлении с получением прозрачной и бесцветной пленки. Остаток растворяли в 1 мл смеси 7:3 0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде:ацетонитрил и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **соединения J** в виде прозрачной бесцветной пленки (12 мг, 97%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 46%-ный выход в виде ТФУ соли). Аликвоту анализировали методом 2 элюирования ВЭЖХ; время удерживания=2,4 мин; MS (положительная ESI): найдено m/z=997,1 [M+H]<sup>+</sup>; C<sub>48</sub>H<sub>61</sub>N<sub>12</sub>O<sub>12</sub> (вычисл. 997,5).

**Пример 12:** Синтез *N*-гидрокси-2-(7-{[гидрокси(метил)карбамоил]метил}-4,10-бис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)-*N*-метилацетамида (**соединение К**)



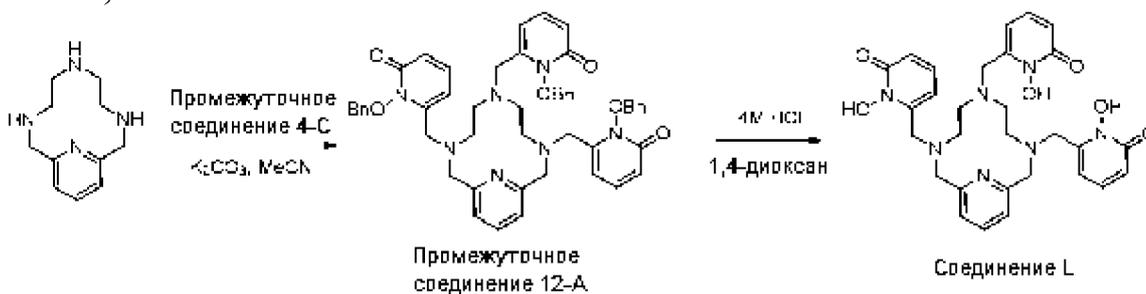
*Стадия 1:* 2-(7-{[Бензилокси(метил)карбамоил]метил}-4,10-бис[{1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)-*N*-(бензилокси)-*N*-метилацетамид (**промежуточное соединение 11-A**)

В скintилляционный флакон объемом 20 мл помещали *N*-(бензилокси)-2-бром-*N*-метилацетамид (26 мг, 107 мкмоль), **промежуточное соединение 8-B** (42 мг, 50,8 мкмоль) и карбонат калия (28 мг, 203 мкмоль), затем 3 мл безводного ацетонитрила и 0,5 г молекулярных сит. Свободное пространство флакона продували азотом и затем герметично закрывали и нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 16 ч. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, твердые продукты удаляли фильтрацией и маточный ликер концентрировали досуха при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в 1 мл смеси 3:7 0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде:ацетонитрил и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке C18 с получением **промежуточного соединения 11-A** в виде прозрачной бесцветной пленки (35 мг, 98%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 57%-ный выход в виде ТФУ соли).

*Стадия 2:* *N*-Гидрокси-2-(7-{[гидрокси(метил)карбамоил]-метил}-4,10-бис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)-*N*-метилацетамид (**соединение К**)

В скintилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 11-A** (8,5 мг, 7,2 мкмоль), затем 1 мл 1 М триборида бора в дихлорметане. Реакционный сосуд герметично закрывали и выдерживали при перемешивании при температуре 20-25°C в течение 3,5 ч. Затем реакционную смесь концентрировали в токе сжатого воздуха, затем совместно выпаривали с 2×4 мл воды марки Trace Select, затем опять с 2×4 мл ацетонитрила при пониженном давлении с получением прозрачной и бесцветной пленки. Пленку растворяли в 1 мл 0,1% раствора трифторуксусной кислоты в воде и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке C18 с получением **соединения К** в виде белой меловой пленки (1 мг, >95%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 17%-ный выход в виде ТФУ соли). Аликвоту анализировали методом 2 элюирования ВЭЖХ; время удерживания=2,2 мин; MS (положительная ESI): найдено  $m/z=593,1$   $[M+H]^+$ ;  $C_{26}H_{41}N_8O_8$  (вычисл. 593,3).

**Пример 13:** Синтез 6-({3,9-бис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-3,6,9,15-тетраазабицикло[9,3,1]пентадека-1(15),11,13-триен-6-ил}метил)-1-гидрокси-6-оксопиридин-2-она (**соединение L**)



*Стадия 1:* 1-(Бензилокси)-6-{{3,9-бис[(1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]метил)}-3,6,9,15-тетраазабицикло[9,3,1]-пентадека-1(15),11,13-триен-6-ил}метил}тиридин-2-он (**промежуточное соединение 12-A**)

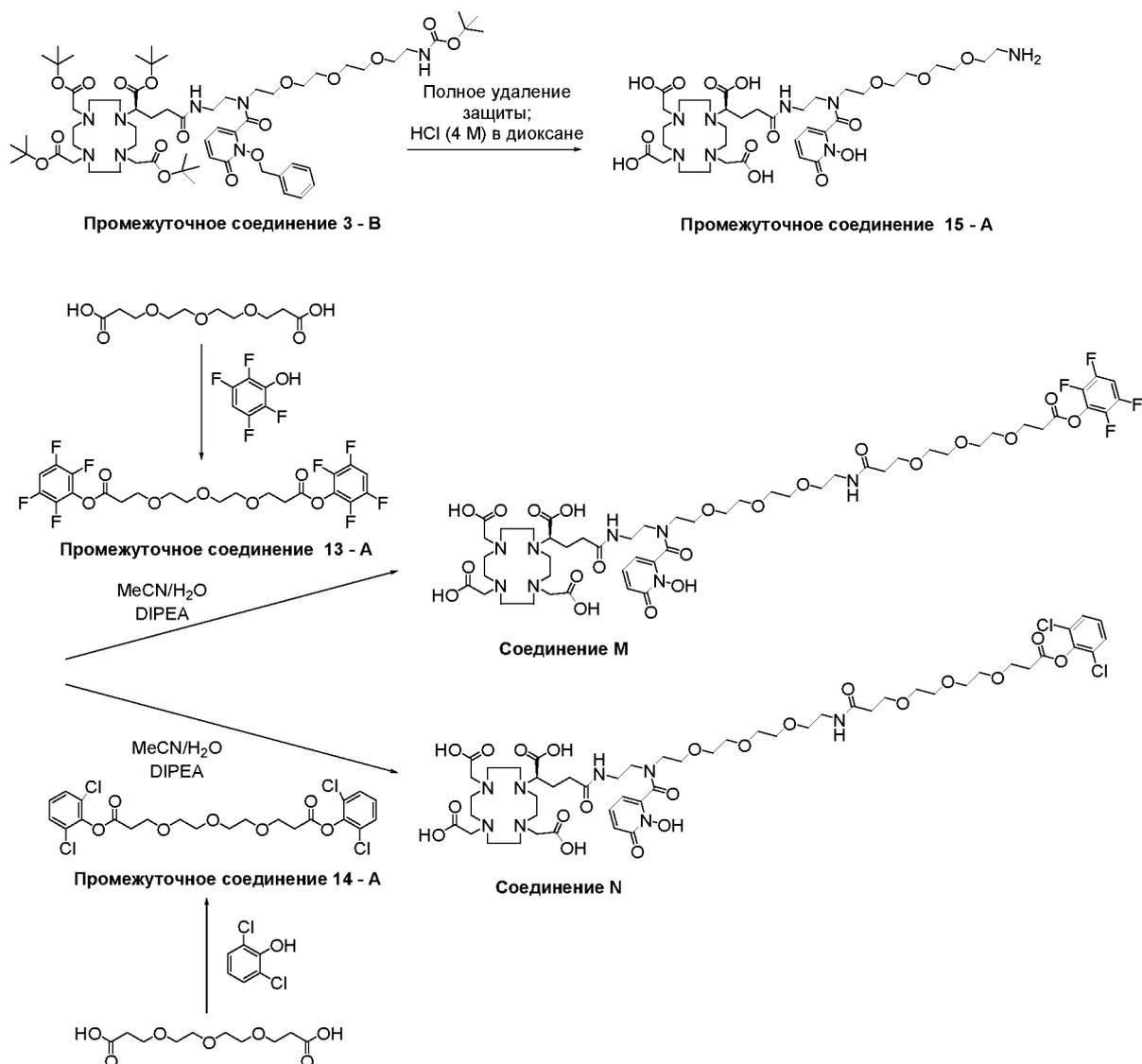
В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали 3,6,9,15-тетраазабицикло[9,3,1]пентадека-1(15),11,13-триен (30 мг, 145 мкмоль), **промежуточное соединение 4-C** (128 мг, 436 мкмоль) и карбонат калия (80 мг, 582 мкмоль), затем 3 мл безводного ацетонитрила и 0,4 г молекулярных сит. Свободное пространство флакона продували азотом и затем герметично закрывали и нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 24 ч. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, твердые продукты удаляли фильтрацией и маточный ликер концентрировали досуха при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в 2 мл смеси 1:1 вода:ацетонитрил и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **промежуточного соединения 12-A** с хорошим выходом в виде ТФУ соли.

*Стадия 2:* 6-({3,9-Бис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-3,6,9,15-тетраазабицикло[9,3,1]пентадека-1(15),11,13-триен-6-ил}метил)-1-гидрокси-6-оксопиридин-2-он (**соединение L**)

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 12-A** и 4 М HCl в 1,4-диоксане. Реакционный сосуд герметически закрывали и перемешивали при температуре 20-25°C до тех пор, пока с помощью анализа ВЭЖХ не было определено, что реакция завершена. Затем реакционную смесь концентрировали в токе сжатого воздуха и совместно выпаривали с 2×4 мл ацетонитрила при пониженном давлении. Остаток растворяли в 1 мл смеси 1:1 0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде:ацетонитрил и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **соединения L** с хорошим выходом в виде ТФУ соли).

**Пример 14:** Синтез (2R)-4-({2-[1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)-N-{2-[2-(2-{2-[3-(2-{2-[3-оксо-3-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пропокси]этоксид}этоксид)пропанамидо]этоксид}этоксид)этоксид]этил}формамидо]этил}карбамоил)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (**соединение M**) и (2R)-4-{{2-[2-(2-{2-[3-(2-{2-[3-(2,6-дихлорфенокси)-3-оксопропокси]этоксид}этоксид)пропанамидо]-этоксид}этоксид)этоксид]этил}-1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-

ил)формамидоэтил]карбамоил}-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (**соединение N**)



**Стадия 1: Синтез 2,3,5,6-тетрафторфенил 3-(2-{2-[3-оксо-3-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пропокси]этокси}этокси)пропаноата (промежуточное соединение 13-А)**

В скintилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий 3-{2-[2-(2-карбоксиэтокси)этокси]этокси}пропановую кислоту (Bis-PEG3-кислоту, 51 мг, 0,20 ммоль) и мешалку, добавляли раствор 2,3,5,6-тетрафторфенола (76 мг, 0,43 ммоль в 1 мл безводного 1,4-диоксана). Затем реакционную смесь помешали на ледяную баню и перемешивали и через ~5 мин она переставала быть полностью растворимой. Наконец одной порцией добавляли *N, N'*-дициклогексилкарбодиимид (DCC, 90 мг, 0,43 ммоль) в безводном 1,4-диоксане (0,5 мл) и затем удаляли смесь с ледяной бани и перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Затем реакционную смесь контролировали с помощью ВЭЖХ-МС и разбавляли MeCN (2 мл) и фильтрации через фриттованный фильтр. Затем отфильтрованное твердое вещество промывали дополнительным количеством MeCN

(~5 мл) и объединенный фильтрат концентрировали в вакууме и очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **промежуточного соединения 13-А** (100 мг, 90%, 96%-ная чистота) в виде прозрачного масла.

*Стадия 2: Синтез 2,6-дихлорфенил 3-(2-{2-[3-(2,6-дихлорфенокси)-3-оксопропокси]этокси}этокси)пропаноата (промежуточное соединение 14-А)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий 3-{2-[2-(2-карбоксиэтокси)этокси]этокси}пропионовую кислоту (бис-PEG3-кислоту, 250 мг, 0,98 ммоль) в 3 мл безводного 1,4-диоксана, добавляли мешалку и 2,6-дихлорфенол (365 мг, 2,15 ммоль). Затем прозрачный раствор помещали на ледяную баню и перемешивали в течение 5 минут. Наконец, одной порцией добавляли *N, N'*-дициклогексилкарбодимид (DCC, 449 мг, 2,15 ммоль) в 3 мл безводного 1,4-диоксана и затем реакционную смесь удаляли с ледяной бани и перемешивали в течение ночи при комнатной температуре в течение 6,5 ч, в течение которых за ходом реакции следили с помощью ВЭЖХ-МС. Продолжали добавлять 1 мл безводного ДМФ, который не полностью растворял содержимое реакции, затем добавляли HBTU (557 мг, 1,42 ммоль) и DIPEA (0,75 мл, 4,31 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 65 ч. Реакцию контролировали с помощью ВЭЖХ-МС и затем концентрировали в вакууме с получением масла коричневого цвета. Оставшийся ДМФ концентрировали в токе воздуха с получением густого масла коричневого цвета. Реакционную смесь очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **промежуточного соединения 14-А** (319 мг, 60%) в виде масла бледно-желтого цвета. <sup>1</sup>H ЯМР (600 МГц, CDCl<sub>3</sub>)=δ7,33 (д, *J*=8,1 Гц, 2 H), 7,11 (т, *J*=8,1 Гц, 2 H), 3,90 (т, *J*=9,0 Гц, 4 H), 3,68-3,62 (м, 8 H), 2,95 (т, *J*=6,0 Гц, 4 H).

*Стадия 3: Синтез (2R)-4-({2-[N-(2-{2-[2-(2-аминоэтокси)этокси]этил)-1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)формамидо]этил}карбамоил)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (промежуточное соединение 15-А)*

В сцинтилляционный флакон, содержащий **промежуточное соединение 3-В** (34 мг, 16 мкмоль, 70%-ная чистота), помещали мешалку и 2 мл безводного HCl (4 M) в диоксане. Реакционную смесь перемешивали на масляной бане при температуре 50°C в течение 4 ч и контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. Затем реакционную смесь очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **промежуточного соединения 15-А** (19 мг, колич.) в виде прозрачной пленки в виде ТФУ соли.

*Стадия 4: Синтез (2R)-4-({2-[1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)-N-{2-[2-(2-{2-[3-(2-{2-[3-оксо-3-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пропокси]этокси}этокси)пропанамидо]этокси}этокси]этил}формамидо]этил}карбамоил)-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (соединение M)*

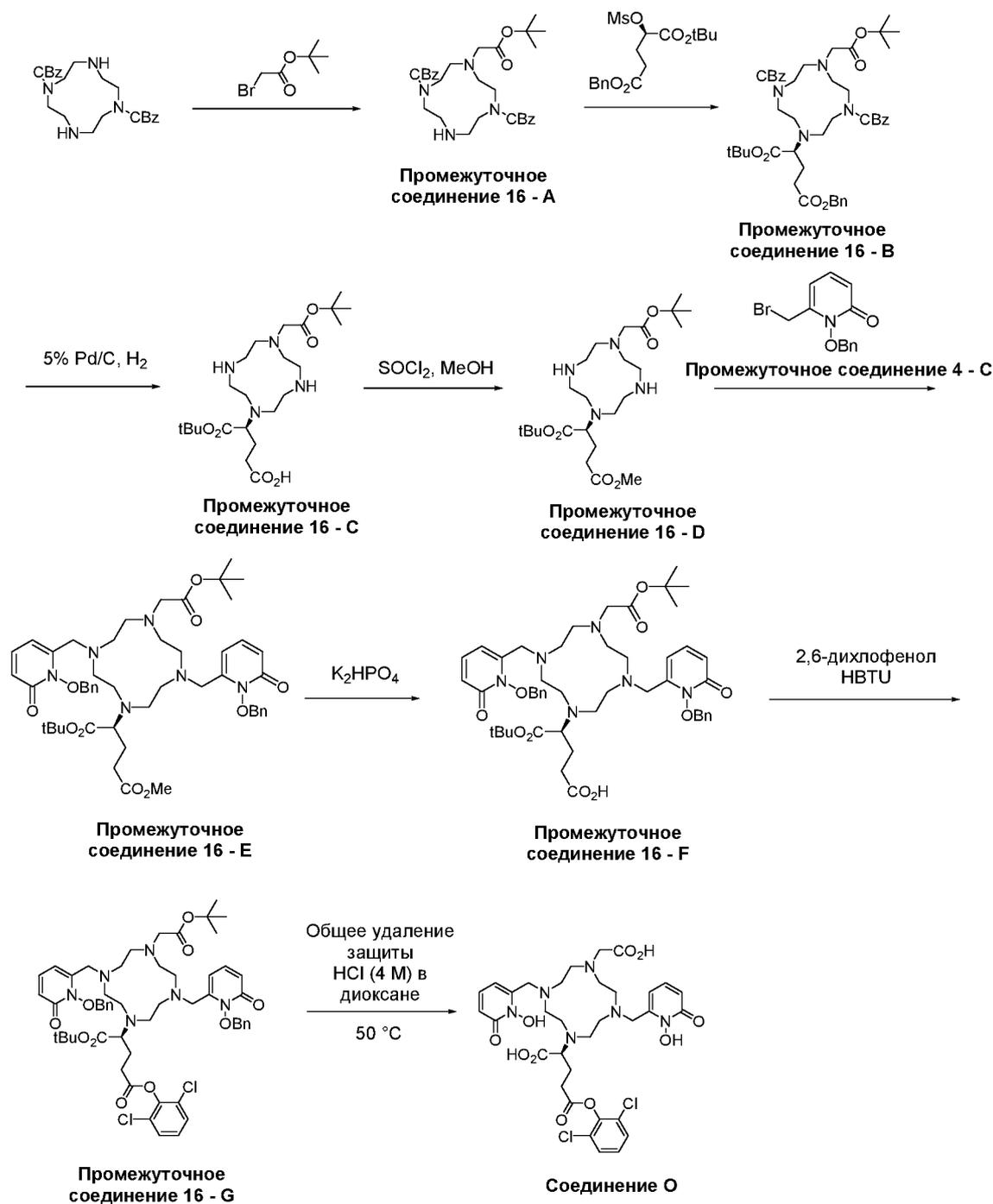
В сцинтилляционный флакон, содержащий **промежуточное соединение 15-А** (3 мг, 3 мкмоль), добавляли H<sub>2</sub>O марки Trace Select (500 мкл), DIPEA (5 мкл, 28 мкмоль) и наконец **промежуточное соединение 13-А** (5 мг, 8 мкмоль в 500 мкл MeCN). Полученный раствор

перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин и затем гасили охлаждением на ледяной бане и добавлением ТФУ (5 мкл). Затем реакционную смесь очищали на препаративной ВЭЖХ колонке С18 с получением **соединения М** (4,2 мг, 90%, 93%-ная чистота) в виде твердого вещества белого цвета с последующей лиофилизацией. Аликвоту анализировали с помощью ВЭЖХ-МС элюирования с использованием способа элюирования 2; время удерживания: 2,91 мин; MS (положительная ESI): найдено  $m/z$  1211,1  $[M+H]^+$ ;  $C_{51}H_{75}F_4N_8O_{21}$  (вычисл. 1211,5).

*Стадия 5: Синтез (2R)-4-{[2-(N-{2-[2-(2-{2-[3-(2-{2-[3-(2,6-Дихлорфенокси)-3-оксопропокси]этокси}этокси)пропанамидо]-этокси}этокси)этокси]этил}-1-(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)формамидо)этил]карбамоил}-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (**соединение N**)*

В сцинтилляционный флакон, содержащий **промежуточное соединение 15-A** (3 мг, 3 мкмоль) добавляли  $H_2O$  марки Grace Select (500 мкл), DIPEA (2,5 мкл, 14 мкмоль) и наконец **промежуточное соединение 14-A** (2 мг, 4 мкмоль в 500 мкл MeCN). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 40 мин и протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. Затем реакционную смесь перемешивали на масляной бане при температуре 50°C в течение 1 ч и затем добавляли дополнительное количество DIPEA (10 мкл) с последующим перемешиванием в течение еще 1 ч при температуре 50°C. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и очищали на препаративной ВЭЖХ колонке С18 с получением **соединения N** (3,2 мг, 70%, 90%-ная чистота) в виде твердого вещества не совсем белого/бледно-желтого цвета после лиофилизации. Аликвоту анализировали с помощью ВЭЖХ-МС элюирования с использованием способа элюирования 2; время удерживания: 2,97 мин; MS (положительная ESI): найдено  $m/z$  1207,4  $[M+H]^+$ ;  $C_{51}H_{77}Cl_2N_8O_{21}$  (вычисл. 1207,5).

**Пример 15:** Синтез (2S)-2-[7-(карбоксиметил)-4,10-бис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]-5-(2,6-дихлорфенокси)-5-оксопентановой кислоты (**соединение O**)



**Стадия 1: Синтез 1,7-добензил 4-[2-(трет-бутокс)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,7-дикарбоксилата (промежуточное соединение 16-А)**

К раствору дигидрохлорида 1,7-добензил 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,7-дикарбоксилата (6,00 г, 11,7 ммоль) в MeCN (58 мл) добавляли DIPEA (8,14 мл, 46,7 ммоль) и трет-бутил бромацетат (1,73 мл, 11,7 ммоль). Реакционную смесь перемешивали на масляной бане при температуре  $60^\circ\text{C}$  в течение 2 ч и протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. Реакционную смесь концентрировали в вакууме затем добавляли  $\text{Et}_2\text{O}$  (100 мл) и  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (100 мл, 1 М). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ~5 мин, пытаясь растворить все содержимое (некоторое маслянистое бледно-оранжевое вещество не растворялось), и переносили в делительную воронку. Эфирный слой экстрагировали, и было обнаружено, что он содержит диалкилированный

побочный продукт чистотой >80% с небольшим количеством желаемого моноалкилированного продукта. Затем DCM (100 мл) использовали для промывки и растворения оставшегося маслянистого остатка в реакционном сосуде и переносили в водный слой сверху. Затем слой ДХМ отделяли и сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме с получением бледно-желтого маслянистого остатка. Сырой продукт дополнительно очищали хроматографией на силикагеле и элюировали со следующими стадиями: элюировали смесью 1% MeOH/1% NEt<sub>3</sub>/98% DCM (об./об./об) до 2% MeOH/1% NEt<sub>3</sub>/97% DCM (об./об./об), соответственно. После концентрирования в вакууме фракций, содержащих продукт, получали **промежуточное соединение 16-А** (1,53 г, 18%, 76%-ная чистота) в виде твердого вещества белого цвета.

*Стадия 2: Синтез 1,7-добензил 4-[(2S)-5-(бензилокси)-1-(трет-бутокси)-1,5-диоксопентан-2-ил]-10-[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,7-дикарбоксилата (промежуточное соединение 16-В)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, снабженный механической мешалкой, помещали **промежуточное соединение 16-А** (250 мг, 0,34 ммоль), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (95 мг, 0,69 ммоль) и безводный ацетонитрил (2 мл). Наконец добавляли 5-бензил 1-трет-бутил (2R)-2-(метансульфонилокси)пентадиоат (191 мг, 0,51 ммоль) и смесь помещали на масляную баню при температуре 80°C и перемешивали. Через 6 ч протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС и было обнаружено, что конверсия составляет всего ~24%, поэтому добавляли безводный ДМФ (1 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение еще 65 ч на масляной бане при температуре 80°C. Реакционную смесь обрабатывали фильтрованием через фриттованный фильтр и твердый продукт промывали MeCN. Объединенный фильтрат концентрировали в вакууме с получением масла светло-оранжевого цвета и очищали на препаративной ВЭЖХ колонке С18 с получением **промежуточного соединения 16-В** (181 мг, 57%, 90%-ная чистота) в виде прозрачной пленки.

*Стадия 3: Синтез (4S)-5-(трет-бутокси)-4-{7-[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}-5-оксопентановой кислоты (промежуточное соединение 16-С)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий **промежуточное соединение 16-В** (181 мг, 0,15 ммоль), помещали мешалку, затем MeOH (3 мл) и затем 5% Pd/C (18 мг, 10% масс относительно **промежуточного соединения 16-В**). Затем флакон закрывали резиновой пробкой, после чего колбу откачивали под вакуумом в течение 1 мин при интенсивном перемешивании, а затем повторно наполняли H<sub>2</sub> из баллона (1 атм) при перемешивании в течение 1 мин. Этот цикл вакуумирования, а затем наполнения повторяли в общей сложности 3 раза, затем баллон с H<sub>2</sub> оставляли в колбе и реакционную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 16 ч. Протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС и затем разбавляли метанолом (~3 мл) и затем фильтровали через GHP шприцевой фильтр 0,2 мкм. Фильтр промывали дополнительным количеством MeOH (2×1 мл) и затем объединенный фильтрат концентрировали в вакууме с получением прозрачной пленки (134 мг). Затем сырой продукт очищали на препаративной

ВЭЖХ колонке С18 с получением **промежуточного соединения 16-С** (105 мг, 98%) в виде прозрачной пленки.

*Стадия 4: Синтез 1-трет-бутил 5-метил (2S)-2-{7-[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}пентадиоата (промежуточное соединение 16-D)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий 2 мл безводного MeOH и мешалку, на бане с температурой -5°C (NaCl/лед) по каплям в течение ~30 сек добавляли SOCl<sub>2</sub> (72 мкл, 0,99 ммоль). Наконец в течение ~30 сек добавляли раствор **промежуточного соединения 16-С** (105 мг, 0,15 ммоль) в безводном MeOH (1 мл) и полученный раствор продолжали перемешивать на бане с температурой от -5°C до ~0°C в течение 1 ч. Протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС и реакционную смесь концентрировали в вакууме с получением **промежуточного соединения 16-D** (81 мг, колич., 97%-ная чистота) в виде твердого вещества белого цвета в виде HCl соли.

*Стадия 5: Синтез 1-трет-бутил 5-метил (2S)-2-[4,10-бис({1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил}метил)-7-[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пентадиоата (промежуточное соединение 16-E)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий **промежуточное соединение 16-D** (40 мг, 77 мкмоль), **промежуточное соединение 4-С** (70 мг, 0,23 ммоль) и мешалку, добавляли K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (31 мг, 0,23 ммоль) и безводный MeCN (1 мл). Полученный раствор перемешивали на масляной бане при температуре 50°C в течение 65 ч и затем протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. Было обнаружено, что реакционная смесь на 25% конвертировалась в диалкилированный продукт, поэтому добавляли безводный ДМФ (1 мл) и затем реакционную смесь перемешивали на масляной бане при температуре 80°C в течение 4,5 ч. Реакцию проверяли с помощью ВЭЖХ-MS и фильтровали через фриттованный фильтр. Затем отфильтрованный твердый промывали дополнительным количеством MeCN (~5 мл) и объединенный фильтрат концентрировали в вакууме с получением прозрачной пленки. Затем сырой продукт очищали на препаративной ВЭЖХ колонке С18 с получением **промежуточного соединения 16-E** (30 мг, 33%, 94%-ная чистота) в виде белой пленки.

*Стадия 6: Синтез (4S)-4-[4,10-бис({1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил}метил)-7-[2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]-5-(трет-бутокси)-5-оксопентановой кислоты (промежуточное соединение 16-F)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 16-E** (30 мг, 26 мкмоль), затем мешалку, ТГФ (0,7 мл), метанол (0,7 мл) и свежеприготовленный раствор гидроксида лития (3 мг в 700 мкл H<sub>2</sub>O). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и очищали на препаративной ВЭЖХ колонке С18 с получением **промежуточного соединения 16-F** (7,7 мг, 28%) в виде прозрачной пленки в виде ТФУ соли.

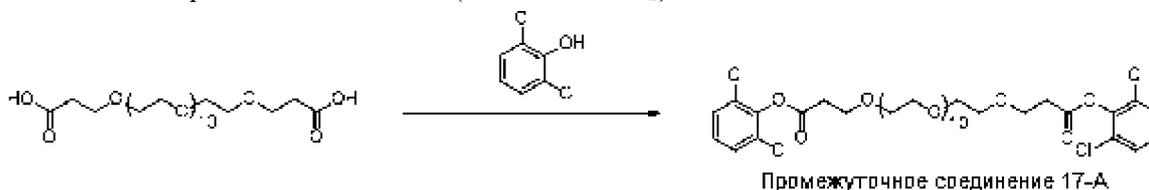
*Стадия 7: Синтез 1-трет-бутил 2,6-дихлорфенил (2S)-2-[4,10-бис({1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил}метил)-7-[2-(трет-бутоксид)-2-оксоэтил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]пентадиоата (промежуточное соединение 16-G)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий **промежуточное соединение 16-F** (3,8 мг, 3,4 мкмоль) и мешалку, добавляли безводный MeCN (500 мкл), HBTU (2,0 мг, 5,0 мкмоль; добавленный как 2,0 мг/250 мкл безводного MeCN) и NEt<sub>3</sub> (4,7 мкл, 34 мкмоль). Полученный раствор перемешивали в течение 10 мин при комнатной температуре и затем добавляли раствор 2,6-дихлорфенола (4 мг, 17 мкмоль) в MeCN (100 мкл) и полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС и реакционную смесь концентрировали в вакууме. Реакционную смесь очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **промежуточного соединения 16-G** (4,8 мг, колич.) в виде прозрачной пленки в виде ТФУ соли.

*Стадия 8: Синтез (2S)-2-[7-(карбоксиметил)-4,10-бис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]-5-(2,6-дихлорфеноксид)-5-оксопентановой кислоты (соединение O)*

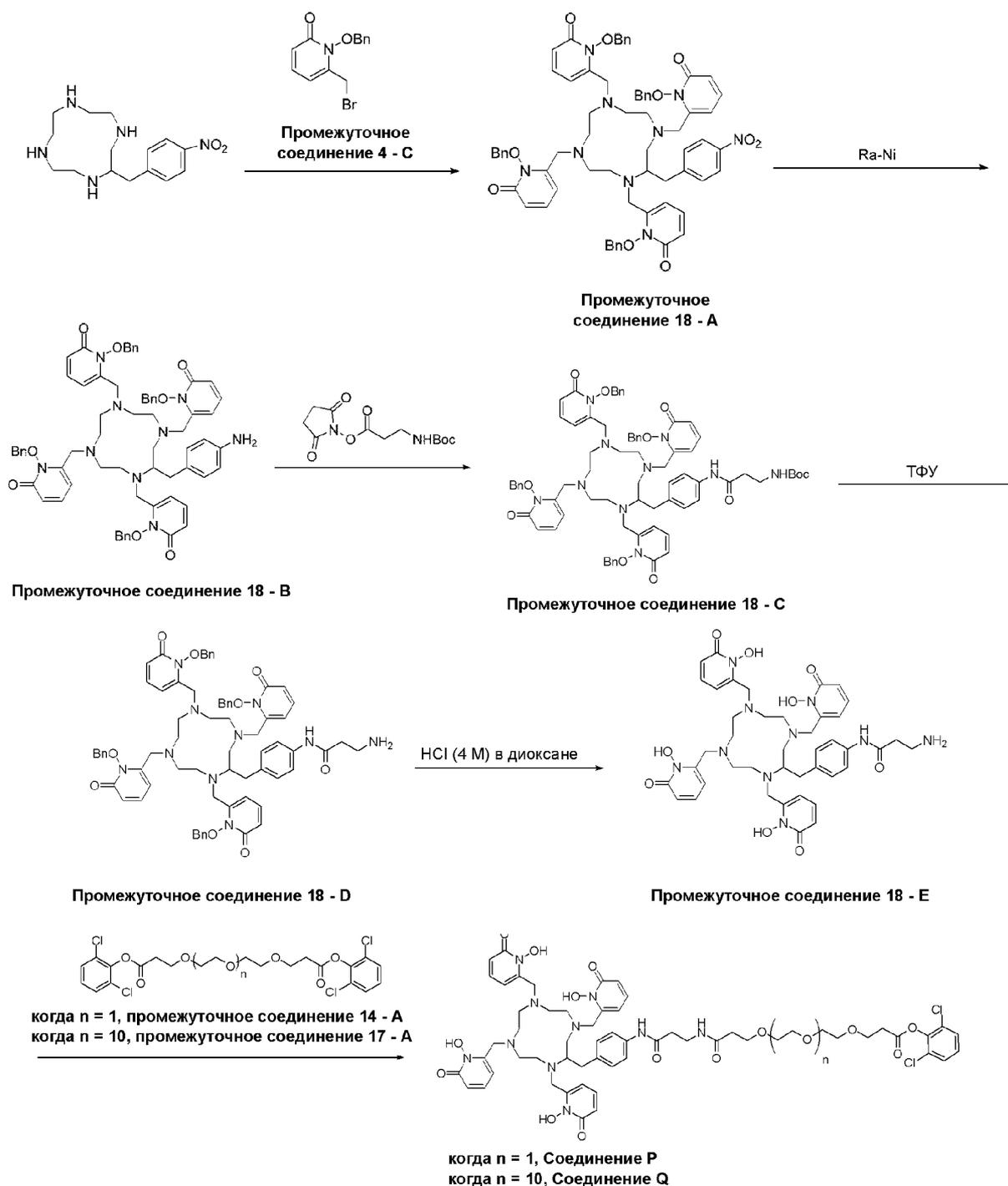
В однодрамный пузырек, содержащий **промежуточное соединение 16-G** (2,4 мг, 1,9 мкмоль), добавляли мешалку и 500 мкл безводного HCl (4 M) в диоксане. Реакционную смесь перемешивали на масляной бане при температуре 50°C в течение 2 ч и протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. Аликвоту анализировали с помощью ВЭЖХ-МС элюирования с использованием способа элюирования 2; время удерживания: 2,41 мин; MS (положительная ESI): найдено m/z 750,9 [M+H]<sup>+</sup> и m/z 773,5 [M+Na]<sup>+</sup>; C<sub>33</sub>H<sub>41</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub> (вычисл. 751,2) и C<sub>33</sub>H<sub>40</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>Na (вычисл. 773,2), соответственно. Затем реакционную смесь очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **соединения O** (1,0 мг, 46%, 85%-ная чистота) в виде твердого вещества белого цвета после концентрирования в вакууме. Аликвоту анализировали с помощью ВЭЖХ-МС элюирования с использованием способа элюирования 2; время удерживания: 2,39 мин; MS (положительная ESI): найдено m/z 774,6 [M+Na]<sup>+</sup> и m/z 803,6 [M-2H+Fe]<sup>+</sup>; C<sub>33</sub>H<sub>40</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>Na (вычисл. 773,2) и C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>Cl<sub>2</sub>FeN<sub>6</sub>O<sub>10</sub> (вычисл. 804,1), соответственно.

**Пример 16:** Синтез 2,6-дихлорфенил 3-[2-(2-{2-[2-({4-({1,4,7,10-тетраакис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-2-ил}метил)фенил]карбамоил}этил)-карбамоил]этоксид)этоксид)пропаноата (**соединение P**) и 2,6-дихлорфенил 1-[(2-({4-({1,4,7,10-тетраакис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-2-ил}метил)фенил]карбамоил}этил)карбамоил]-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-додекаоксанонатриаконтан-39-оата (**соединение Q**)



*Стадия 1: Синтез бис(2,6-дихлорфенил) 4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37-додекаоксатетраконтандиоата (промежуточное соединение 17-А)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий Bis-PEG12-кислоту (250 мг, 0,38 ммоль) и мешалку, добавляли раствор 2,6-дихлорфенола (192 мг, 1,14 ммоль в 3 мл безводного 1,4-диоксана). Затем прозрачный раствор перемешивали при комнатной температуре и добавляли DIPEA (397 мкл, 2,27 ммоль). Затем раствор перемешивали в течение 5 мин и наконец одной порцией добавляли НВТУ (435 мг, 1,11 ммоль) и затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3,5 ч, и по данным ВЭЖХ-МС было установлено, что она завершилась. Реакционную смесь концентрировали в вакууме с получением прозрачного и на препаративной фениловой ВЭЖХ-колонке с получением **промежуточного соединения 17-А** (234 мг, 65%) в виде бесцветного масла.



Стадия 2: Синтез 1-(бензилокси)-6-{{4,7,10-трис({1-(бензилокси)-6-оксотиридин-2-ил]метил})-6-[(4-нитрофенил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]метил}тиридин-2-она (промежуточное соединение 18-А)

В скintилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий Промежуточное соединение 4-С (112 мг, 0,382 ммоль), 2-[(4-нитрофенил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан (25 мг, 0,076 ммоль) и мешалку, добавляли  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (63 мг, 0,459 ммоль) и безводный MeCN (3 мл). Полученный раствор перемешивали на масляной бане при температуре  $75^\circ\text{C}$  в течение 65 ч. Реакцию контролировали с помощью ВЭЖХ-МС и

фильтровали через фриттованный фильтр. Отфильтрованные твердые продукты промывали MeCN и затем фильтрат концентрировали в вакууме и очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **промежуточного соединения 18-A** (120 мг, колич.) в виде пленки бледно-желтого цвета в виде ТФУ соли.

*Стадия 3: Синтез 6-({6-[(4-аминофенил)метил]-4,7,10-трис({[1-(бензилокси)-6-оксотиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}метил)-1-(бензилокси)тиридин-2-она (промежуточное соединение 18-B)*

Хорошо встряхиваемую взвесь Ra-Ni 2800 в воде (150 мкл) переносили в сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий 4 мл воды для ВЭЖХ. Смесь взбалтывали, давали отстояться и затем воду сливали (оставляя тонкий слой сверху), а затем использовали дополнительные 4 мл воды для повторения этого процесса промывки. После декантации выполняли промывку 2×4 мл MeOH, затем декантировали. Наконец добавляли 1 мл смеси 1:1 ТГФ/MeOH вместе с мешалкой. Затем добавляли **промежуточное соединение 18-A** (20 мг, 0,014 ммоль) в виде раствора в 0,5 мл (ТГФ/MeOH, 1:1) и затем суспензию подвергали 3-кратному циклу (вакуум в течение ~30 секунд, затем атмосфера H<sub>2</sub>/давление в баллоне в течение ~30 секунд) и баллон оставляли присоединенным к реакционной смеси и перемешивали при комнатной температуре в течение 2,5 ч. Реакцию контролировали с помощью ВЭЖХ-МС и фильтровали через шприцевой фильтр 0,2 мкм. Реакционный сосуд промывали дополнительным количеством 2 мл MeOH и также фильтровали через шприцевой фильтр. Объединенный фильтрат затем концентрировали в вакууме с получением **промежуточного соединения 18-B** (19,4 мг, 94%) в виде пленки бледно-желтого цвета.

*Стадия 4: Синтез трет-бутил N-{2-[(4-({[1,4,7,10-тетраakis({[1-(бензилокси)-6-оксотиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-2-ил]метил}фенил)карбамоил]этил}карбамата (промежуточное соединение 18-C)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий **промежуточное соединение 18-B** (131 мг, 0,077 ммоль) добавляли безводный ДМФ (5 мл) и мешалку. Затем одной порцией добавляли DIPEA (161 мкл, 0,93 ммоль), затем DMAP (9,5 мг, 0,077 ммоль). Сосуд продували N<sub>2</sub> и затем реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин. В атмосфере N<sub>2</sub> добавляли свежерастворенный раствор Boc-beta-Ala-OSu (135 мг, 0,463 ммоль) в безводном ДМФ (0,5 мл) и затем реакционную смесь перемешивали на масляной бане при температуре 50°C. Через 45 мин протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС и наблюдали в первую очередь исходный материал вместе с образованием ~10% продукта, поэтому добавляли DMAP (20 мг, 0,164 ммоль) и дополнительное количество Boc-beta-Ala-OSu (135 мг, 0,463 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при температуре 50°C в течение еще 18 ч. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **промежуточного соединения 18-C** (45 мг, 29%, 76%-ная чистота) в виде прозрачной пленки в виде ТФУ соли.

*Стадия 5: Синтез 3-амино-N-(4-{{1,4,7,10-тетраakis(1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил)метил}})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-2-ил)метил}фенил)пропенамида (промежуточное соединение 18-D)*

В сосуд объемом 20 мл, содержащий **промежуточное соединение 18-C** (14,5 мг, 0,0090 ммоль), добавляли мешалку и безводный DCM (1 мл) и охлаждали на ледяной бане, затем добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре, а протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. Реакционную смесь концентрировали в токе азота в вытяжном шкафу и затем дополнительно сушили в вакууме с получением **промежуточного соединения 18-D** (22 мг, колич.) в виде прозрачной пленки в виде ТФУ соли. Этот продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

*Стадия 6: Синтез 3-амино-N-[4-({1,4,7,10-тетраakis(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил}-1,4,7,10-тетраазациклододекан-2-ил)метил}фенил)пропенамида (промежуточное соединение 18-E)*

В скнтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий **промежуточное соединение 18-D** (10 мг, 0,0067 ммоль), добавляли мешалку и 2 мл HCl (4 M) в диоксане. Реакционную смесь перемешивали на масляной бане при температуре 50°C в течение 1,5 ч и протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. Затем реакционную смесь концентрировали в токе азота и затем дополнительно сушили в вакууме с получением **промежуточного соединения 18-E** (10 мг, колич.) в виде твердого вещества бледно-желтого цвета. Этот продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

*Стадия 7: Синтез 2,6-дихлорфенил 3-[2-(2-{{2-[(2-{{4-({1,4,7,10-тетраakis(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил}-1,4,7,10-тетраазациклододекан-2-ил)метил}фенил]карбамоил}этил)-карбамоил}этокси}этокси)пропаноата (соединение P)*

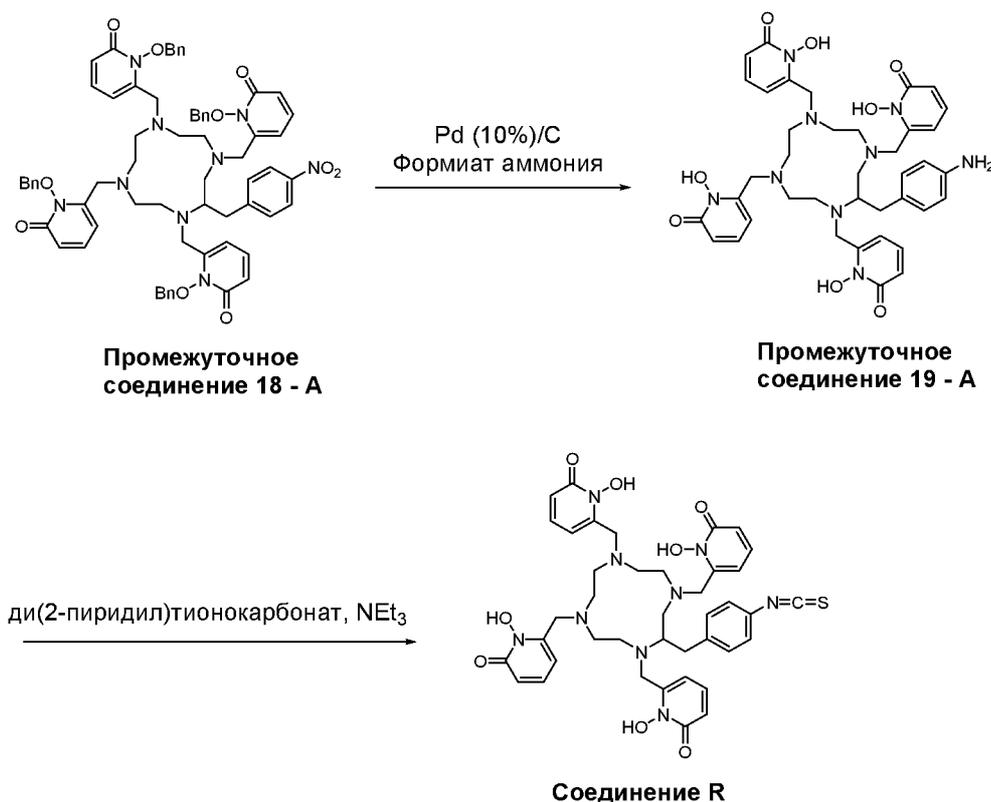
В сосуд объемом 20 мл, содержащий **промежуточное соединение 18-E** в смеси ACN/H<sub>2</sub>O марки Trace Select (1:1 об./об., 800 мкл, ~8 мг, 0,0053 ммоль) добавляли мешалку, затем DIPEA (46 мкл, 0,26 ммоль) и затем наконец раствор **промежуточного соединения 14-A** (15 мг, 0,027 ммоль) в MeCN (400 мкл). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре и затем контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. Реакционную смесь охлаждали на ледяной бане и затем добавляли 50 мкл ТФУ в течение ~30 секунд, затем концентрировали в вакууме досуха. Затем сырой продукт очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **соединения P** (0,7 мг, 7%, ≥81%-ная чистота) в виде твердого вещества белого цвета в виде ТФУ соли с последующей лиофилизацией. Аликвоту анализировали с помощью ВЭЖХ-МС элюирования с использованием способа элюирования 2; время удерживания: 3,07 мин; MS (положительная ESI): найдено m/z 1217,37 [M+H]<sup>+</sup>; C<sub>38</sub>H<sub>71</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>10</sub>O<sub>15</sub> (вычисл. 1217,45).

*Стадия 8: Синтез 2,6-дихлорфенил 1-[(2-{{4-({1,4,7,10-тетраakis(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил}-1,4,7,10-тетраазациклододекан-2-*

ил}метил)фенил]карбамоил}этил)карбамоил]-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-  
додекаоксанонатриаконтан-39-оата (**соединение Q**)

В скнтилляционный флакон объемом 20 мл, содержащий **промежуточное соединение 18-Е** (~9,0 мг, 0,0080 ммоль) в смеси ACN/H<sub>2</sub>O марки Trace Select (1:1 об./об., 900 мкл/~1 мг) добавляли мешалку, затем DIPEA (70 мкл, 0,040 ммоль) и затем наконец раствор **промежуточного соединения 17-А** (37 мг, 0,040 ммоль) в MeCN (374 мкл). Реакционную смесь перемешивали в течение 40 мин при комнатной температуре и затем контролировали с помощью ВЭЖХ-МС. Реакционную смесь охлаждали на ледяной бане и затем добавляли 90 мкл ТФУ, затем концентрировали в вакууме досуха. Затем сырой продукт очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **соединения Q** (1,2 мг, 6%, ≥68%-ная чистота) в виде твердого вещества белого цвета в виде ТФУ соли с последующей лиофилизацией. Аликвоту анализировали с помощью ВЭЖХ-МС элюирования с использованием способа элюирования 2; время удерживания: 3,43 мин; MS (положительная ESI): найдено m/z 1635,79 [M+Na]<sup>+</sup>; C<sub>76</sub>H<sub>106</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>10</sub>NaO<sub>24</sub> (вычисл. 1635,67).

**Пример 17:** Синтез 1-гидрокси-6--({4,7,10-трис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-6-[4-изотиоцианатофенил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}метил)пиридин-2-она (**соединение R**)



*Стадия 1: Синтез 6-({6-[4-аминофенил)метил]-4,7,10-трис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}метил)-1-гидрокси-2-пиридин-2-она (промежуточное соединение 19-А)*

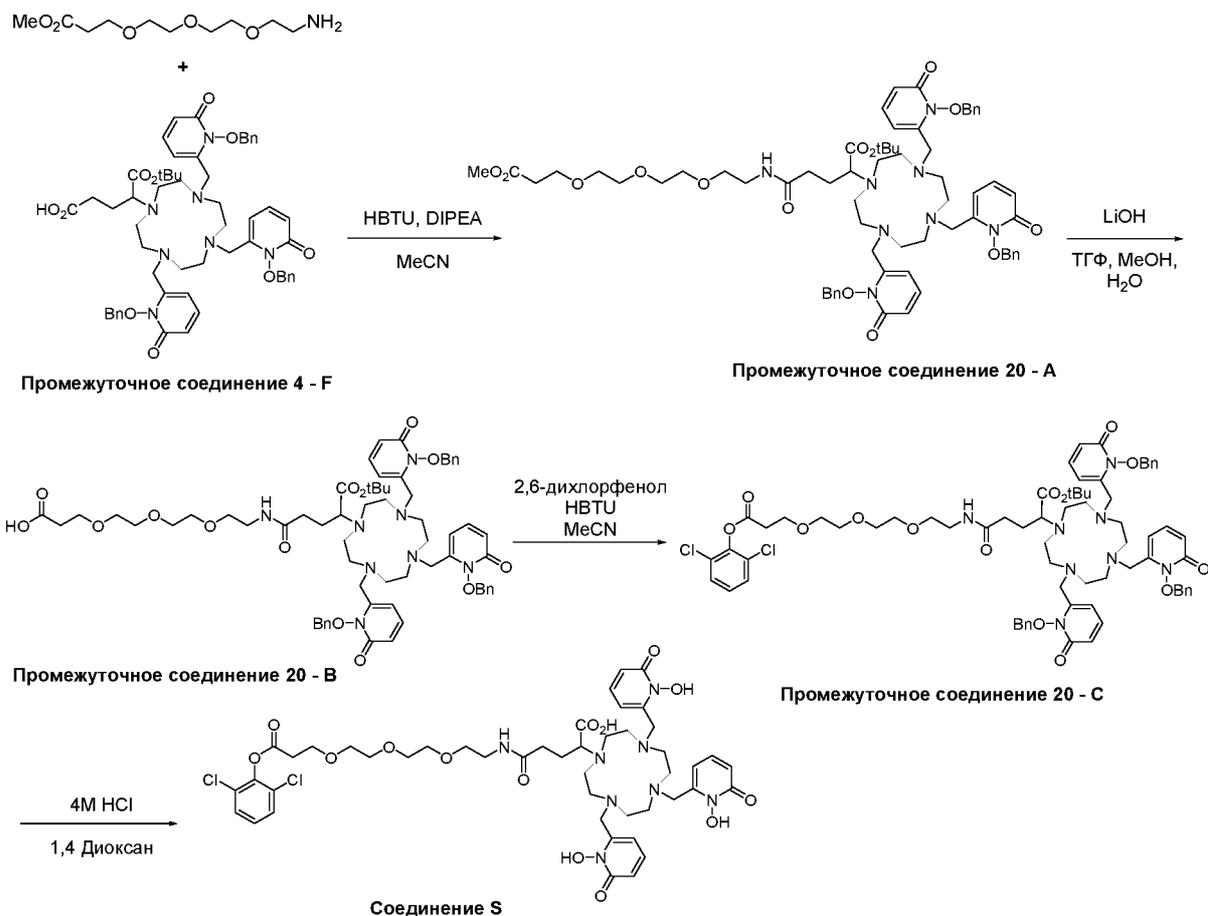
К раствору **промежуточного соединения 18-А** в безводном MeOH (1,89 мл) добавляли Pd (10%)/C (39 мг, 37 мкмоль), затем формиат аммония (71 мг, 1131 мкмоль) и

суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС и затем разбавляли MeOH (~4 мл) и фильтровали через шприцевой фильтр 0,2 мкм (мембрана GHP). Реакционный сосуд промывали MeOH (1 мл) и затем также пропускали через шприцевой фильтр. Объединенный фильтрат концентрировали в вакууме и затем очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **промежуточного соединения 19-А** (12,7 мг, 29%, 93%-ная чистота) в виде твердого вещества белого цвета.

*Стадия 2: Синтез 1-гидрокси-6-({4,7,10-трис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-6-[(4-изотиоцианатофенил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}метил)пиридин-2-она (соединение R)*

К раствору **промежуточного соединения 19-А** (2 мг, 2 мкмоль) в смеси H<sub>2</sub>O марки Trace Select (157 мкл)/MeCN (680 мкл) добавляли NEt<sub>3</sub> (1 мкл, 6 мкмоль), затем ди(2-пиридил)тионокarbonат (1 мг, 4 мкмоль). Прозрачный раствор сразу после добавления ди(2-пиридил)тионокarbonата становился прозрачно-желтым, и реакционную смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 1 ч. Протекание реакции контролировали с помощью ВЭЖХ-МС и затем очищали на препаративной ВЭЖХ колонке C18 с получением **соединения R** (1,6 мг, 62%, ≥81%-ная чистота) в виде твердого вещества белого цвета в виде ТФУ соли с последующей лиофилизацией. Аликвоту анализировали с помощью ВЭЖХ-МС элюирования с использованием способа элюирования 2; время удерживания: 2,54 мин; MS (положительная ESI): найдено m/z 811,9 [M+H]<sup>+</sup>; C<sub>40</sub>H<sub>46</sub>N<sub>9</sub>O<sub>8</sub>S (вычисл. 812,3).

**Пример 18:** 4-{[2-(2-{2-[3-(2,6-Дихлорфенокси)-3-оксопропокси]этокси}этокси)этил]карбамоил}-2-{{4,7,10-трис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}бутановая кислота (**соединение S**)



*Стадия 1:* трет-Бутил 4-[(2-{2-[2-(3-метокси-3-оксопропокс)этокс]этокс}этил)карбамоил]-2-[4,7,10-трис({[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутаноат (промежуточное соединение 20-A)

В скintилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 4-F** (55 мг, 41 мкмоль) и HBTU (19 мг, 49,3 мкмоль), затем 4 мл безводного ацетонитрила и DIPEA (71 мкл, 410 мкмоль) и смесь перемешивали при температуре 20-25°C в течение 20 минут. Затем добавляли HCl соль amino-PEG3-метилового сложного эфира (12 мг, 45,1 мкмоль) в виде раствора в 2 мл безводного ацетонитрила и реакционную смесь выдерживали при температуре 20-25°C в течение еще 1,5 часа. Затем реакционную смесь концентрировали досуха при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в 1 мл смеси 1:1 вода:ацетонитрил и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке C18 с получением **промежуточного соединения 20-A** в виде прозрачной и бесцветной пленки (32 мг, 94%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 50%-ный выход в виде ТФУ соли).

*Стадия 2:* трет-Бутил 4-[[2-(2-{2-[3-(2,6-дихлорфенокси)-3-оксопропокс]этокс]этокс}этил)карбамоил]-2-[4,7,10-трис({[1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутаноат (промежуточное соединение 20-B)

В скintилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 20-A** (31,5 мг, 21,8 мкмоль), затем 3 мл смеси 1:1:1 вода:ТГФ:метанол и затем гидроксид

лития (1 мг, 41,8 мкмоль) и смесь выдерживали при температуре 20-25°C в течение 2 ч. Добавляли дополнительную порцию гидроксида лития (1 мг, 41,8 мкмоль) и смесь выдерживали при температуре 20-25°C в течение 2,5 ч. Затем реакционную смесь концентрировали досуха при пониженном давлении и затем растворяли в 1 мл смеси 1:1 вода:ацетонитрил и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **промежуточного соединения 20-В** в виде прозрачной и бесцветной маслянистой пленки (25 мг, 85%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 68%-ный выход в виде ТФУ соли).

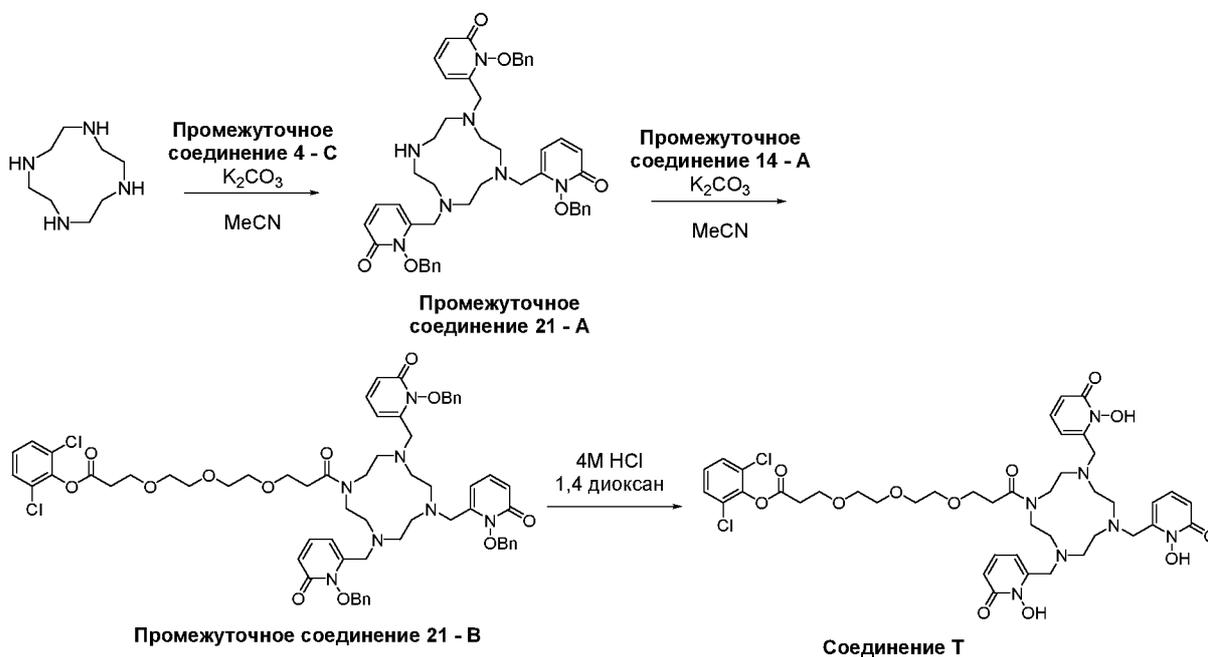
*Стадия 3: трет-Бутил 4-{{2-(2-{{2-{{3-(2,6-дихлорфенокси)-3-оксопропокси}этокси}этокси)этил}карбамоил}-2-{{4,7,10-трис({1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил}метил)}}-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}бутаноат (**промежуточное соединение 20-С**)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 20-В** (25 мг, 15 мкмоль), затем НВТУ (16 мг, 41,8 мкмоль), 3 мл безводного ацетонитрила и DIPEA (15 мкл, 83,6 мкмоль) и наконец затем добавляли 2,6-дихлорфенол (7 мг, 41,8 мкмоль) и смесь выдерживали при температуре 20-25°C в течение 20 ч. Затем добавляли дополнительные порции НВТУ (5 мг, 13,3 мкмоль) и 2,6-дихлорфенол (5 мг, 30,4 мкмоль) и смесь перемешивали при температуре 20-25°C в течение 4 ч. Опять добавляли DIPEA (15 мкл, 83,6 мкмоль) и 2,6-дихлорфенол (7 мг, 41,8 мкмоль) и НВТУ (5 мг, 13,3 мкмоль) и реакцию продолжали при температуре 20-25°C в течение еще 16 часов. Затем реакционную смесь концентрировали досуха при пониженном давлении, растворяли в 1 мл смеси 1:1 вода:ацетонитрил и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18. **Промежуточное соединение 20-С** получали в виде прозрачной и бесцветной пленки после концентрирования (18,7 мг, 97%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 76%-ный выход в виде ТФУ соли).

*Стадия 4: 4-{{2-(2-{{2-{{3-(2,6-Дихлорфенокси)-3-оксопропокси}этокси}этокси)этил}карбамоил}-2-{{4,7,10-трис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}бутановая кислота (**соединение S**)*

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 20-С** (18,7 мг, 11,9 мкмоль), затем 1,5 мл 4 М хлористоводородной кислоты в 1,4-диоксане. Реакционный сосуд герметично закрывали и выдерживали при перемешивании при температуре 20-25°C в течение 24 ч. Затем реакционную смесь концентрировали в токе сжатого воздуха, затем совместно выпаривали с 2×3 мл ацетонитрила. Сырой остаток растворяли в 1 мл смеси 1:1 ацетонитрил:0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18. Фракции, в которых было установлено, что они содержат продукт, объединяли, замораживали при температуре -80°C и лиофилизировали с получением **соединения S** в виде белого непрозрачного аморфного твердого вещества (7,2 мг, >98%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 49%-ный выход в виде ТФУ соли). Аликвоту анализировали методом 3 элюирования ВЭЖХ; время удерживания=3,2 мин; MS (положительная ESI): найдено m/z=1019,2 [M+H]<sup>+</sup>; C<sub>46</sub>H<sub>61</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>8</sub>O<sub>14</sub> (вычисл. 1019,4).

**Пример 19:** 2,6-Дихлорфенил 3-{2-[2-(3-оксо-3-{4,7,10-трис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}пропокси)этокси]этокси}пропаноат (**соединение Т**)



*Стадия 1:* 1-(Бензилокси)-6-{[4,7-бис({1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-ил}метил)}-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}метил}-1,2-дигидропиридин-2-он (**промежуточное соединение 21-А**)

В скintилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 4-С** (237 мг, 805 мкмоль), циклен (100 мг, 268 мкмоль) и карбонат калия (223 мг, 1,61 ммоль), затем 4 мл безводного ацетонитрила. Свободное пространство флакона продували азотом и затем герметично закрывали и нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 2,5 ч. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, твердые продукты удаляли фильтрацией и маточный ликер концентрировали досуха при пониженном давлении. Остаток растворяли в 2 мл смеси 1:1 ацетонитрил:вода и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18 с получением **промежуточного соединения 21-А** в виде масла светло-желтого цвета (91 мг, 90%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 29%-ный выход в виде ТФУ соли).

*Стадия 2:* 2,6-Дихлорфенил 3-[2-(2-{3-оксо-3-[4,7,10-трис({1-(бензилокси)-6-оксо-1,6-дигидропиридин-2-ил}метил)}-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}пропокси)этокси)-этокси]пропаноат (**промежуточное соединение 21-В**)

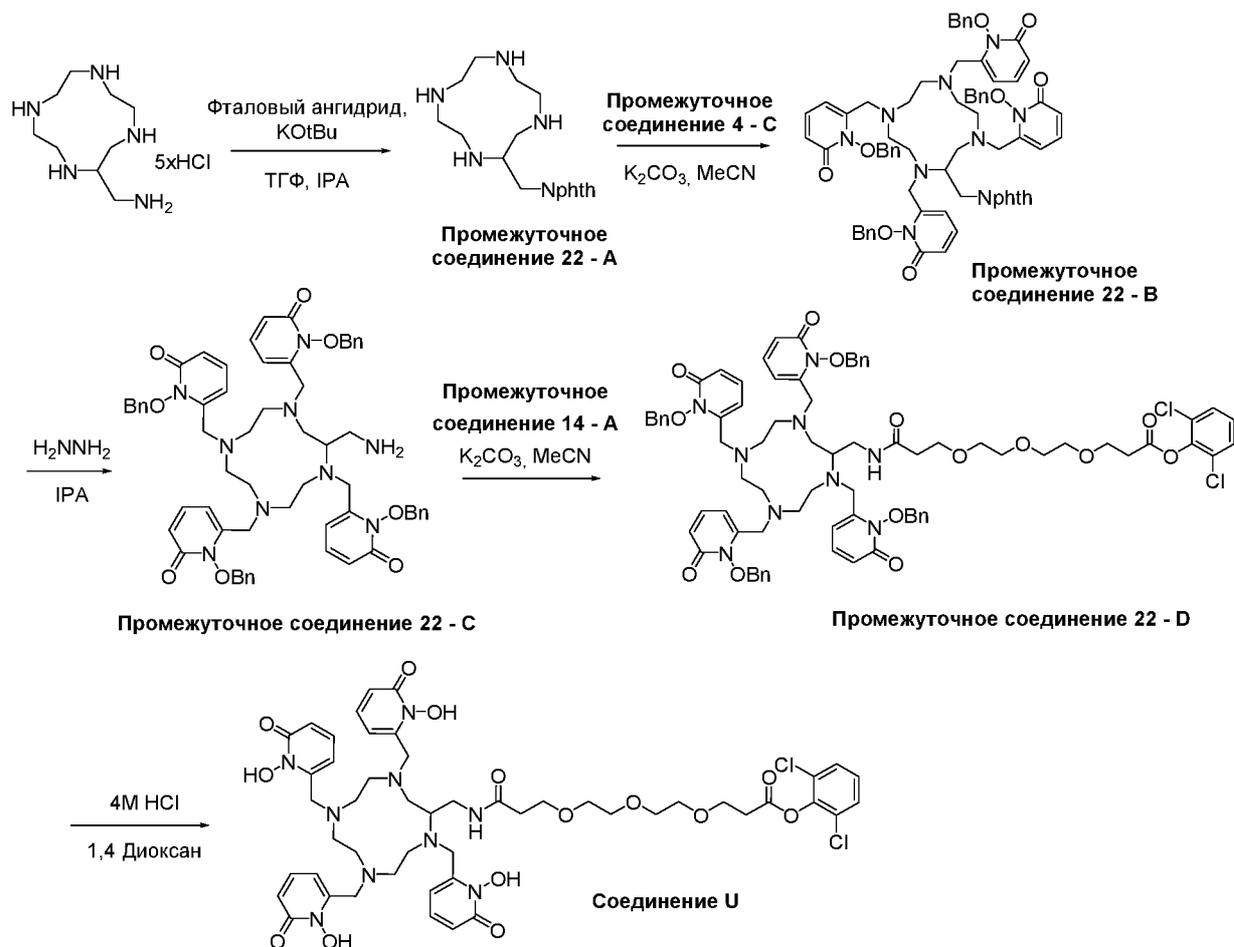
В скintилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 14-А** (12 мг, 22,5 мкмоль), затем 1 мл безводного ацетонитрила и затем карбонат калия (15 мг, 102 мкмоль) и наконец **промежуточное соединение 21-А** (24 мг, 20,4 мкмоль) и реакционную смесь нагревали на масляной бане при температуре 85°C в течение 23 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, твердые продукты удаляли фильтрацией и маточный ликер концентрировали досуха при пониженном давлении.

Остаток растворяли в 1 мл смеси 1:1 ацетонитрил:0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде смесь и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке C18 с получением **промежуточного соединения 21-В** в виде пленки оранжевого цвета (7 мг, 90%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 22%-ный выход в виде ТФУ соли).

*Стадия 3:* 2,6-Дихлорфенил 3-{2-[2-(3-оксо-3-{4,7,10-трис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил}пропокси)этокси]этокси}пропаноат (**соединение Т**)

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 21-В** (7 мг, 4,9 мкмоль), затем 1 мл 4 М хлористоводородной кислоты в 1,4-диоксане. Реакционный сосуд герметично закрывали и выдерживали при перемешивании при температуре 20-25°C в течение 22 ч. Затем реакцию смесь концентрировали в токе сжатого воздуха, затем совместно выпаривали с 2×3 мл ацетонитрила. Сырой остаток растворяли в 1 мл смеси 1:1 ацетонитрил:вода марки Grace Select и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке C18. Фракции, содержащие продукт, объединяли, замораживали при температуре -80°C и лиофилизировали с получением **соединения Т** в виде аморфного твердого вещества не совсем белого бежевого цвета (2,3 мг, >98%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 41%-ный выход в виде ТФУ соли). Аликвоту анализировали методом 3 элюирования ВЭЖХ; время удерживания=3,1 мин; MS (положительная ESI): найдено  $m/z=918,1$   $[M+H]^+$ ;  $C_{42}H_{54}Cl_2N_7O_{12}$  (вычисл. 918,3).

**Пример 20:** 2,6-Дихлорфенил 3-[2-(2-{2-[(1,4,7,10-тетраакис[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-2-ил}метил)карбамоил]этокси}этокси)этокси]пропаноат (**соединение U**)



**Стадия 1: 2-(1,4,7,10-Тетраазациклододекан-2-илметил)изоиндол-1,3-дион (промежуточное соединение 22-А)**

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали (1,4,7,10-тетраазациклододекан-2-ил)метанамид  $5 \times \text{HCl}$  (103 мг, 268,5 мкмоль), затем 15 мл ТГФ и суспензию охлаждали на ледяной бане до температуры 0-5°C. Затем добавляли трет-бутоксид калия (150 мг, 1,34 ммоль) и смеси давали медленно нагреться до температуры 20-25°C и перемешивали в течение 16 ч. Полученную смесь затем переносили в 1-горлую круглодонную колбу объемом 50 мл, концентрировали досуха при пониженном давлении, затем совместно выпаривали с  $2 \times 10$  мл изопропанола. К высушенному остатку добавляли 20 мл изопропанола и затем триэтиламин (261 мкл, 1,88 ммоль) и полученный раствор охлаждали на ледяной бане до температуры 0-5°C. Затем по каплям добавляли фталевый ангидрид (40 мг, 269 мкмоль) в виде раствора 1 мл дихлорметана в течение 30 мин. Смеси давали нагреться до комнатной температуры, затем присоединяли ловушку Дина-Старка, содержащую изопропанол, и обратный холодильник, и реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в атмосфере азота в течение 16 часов. Завершение реакции подтверждали по данным ВЭЖХ-МС и затем реакционную массу концентрировали при пониженном давлении до остатка, совместно выпаривали с  $2 \times 10$  мл ацетонитрила и затем использовали без дополнительной очистки.

*Стадия 2: 2-{{1,4,7,10-Тетракис({1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-2-ил]метил}изоиндол-1,3-дион (промежуточное соединение 22-В)*

В 1-горлую круглодонную колбу объемом 50 мл, содержащую сырую реакционную смесь со стадии 1, содержащую **промежуточное соединение 22-А** (при условии количественного выхода; 89 мг, 269 мкмоль), помещали **промежуточное соединение 4-С** (332 мг, 1,13 ммоль) и карбонат калия (223 мг, 1,61 ммоль), затем 10 мл безводного ацетонитрила и реакционную смесь нагревали на масляной бане при температуре 50°C в течение 22 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, твердые продукты удаляли фильтрацией и маточный ликер концентрировали досуха при пониженном давлении. Было определено, что полученный пенный остаток оранжево-бежевого цвета (360 мг) содержит прибл. 70% **промежуточного соединения 22-В**, которое использовали без дополнительной очистки.

*Стадия 3: 6-{{3-(Аминометил)-4,7,10-трис({1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-1-ил]метил}-1-(бензилокси)пиридин-2-он (промежуточное соединение 22-С)*

В 1-горлую круглодонную колбу объемом 50 мл, загруженную сырым **промежуточным соединением 22-В** (230 мг, 136 мкмоль, 70%-ная чистота), добавляли 15 мл изопропанола и амилен (190 мкл, 1,8 ммоль), затем гидразин-гидрат (190 мкл, 3,9 ммоль) и реакционную смесь нагревали на масляной бане при температуре 95°C в атмосфере азота в течение 16 ч. Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и совместно выпаривали с 2×3 мл ацетонитрил до остатка. Сырую реакционную смесь растворяли в 1,5 мл смеси 1:1 ацетонитрил:вода и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18. **Промежуточное соединение 22-С** получали в виде прозрачной бесцветной пленки (44 мг, 95%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 24%-ный выход в виде ТФУ соли за 3 стадии).

*Стадия 4: 2,6-Дихлорфенил 3-(2-{2-[2-({1,4,7,10-тетракис({1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил]метил})-1,4,7,10-тетраазаациклододекан-2-ил]метил}карбамоил)этокси]этокси)пропаноат (промежуточное соединение 22-Д)*

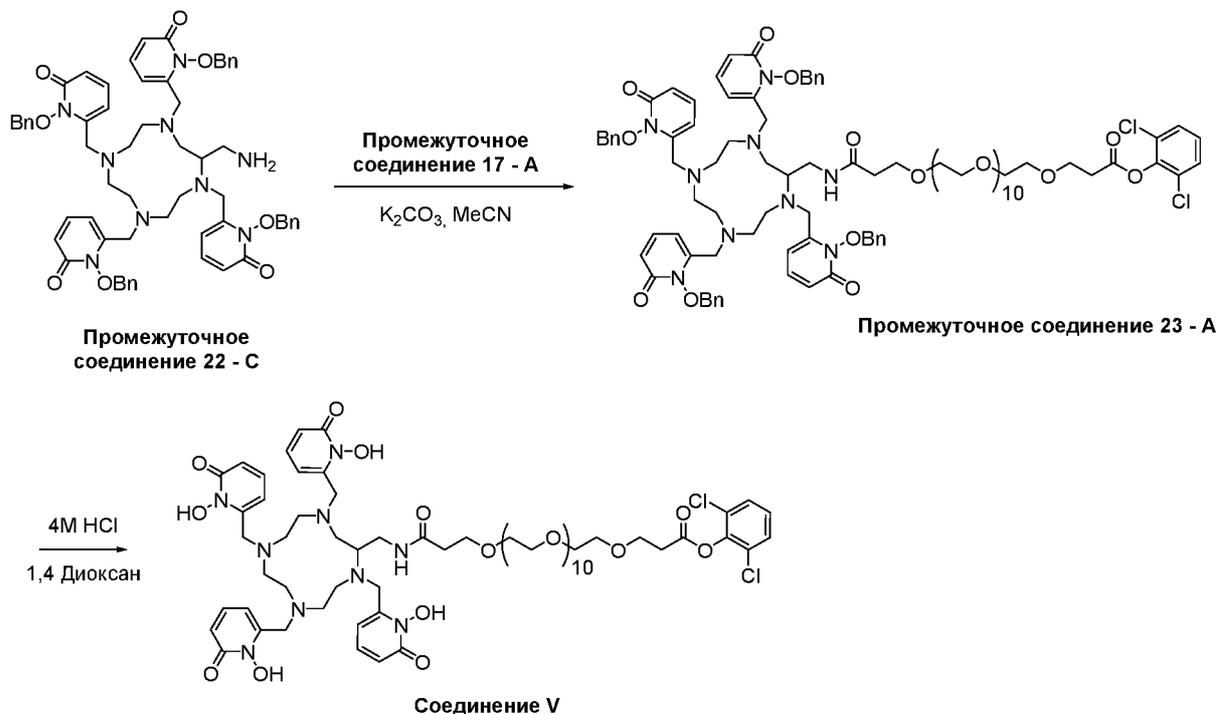
В скintилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное** соединение 14-А (30 мг, 56 мкмоль), затем 3 мл безводного дихлорметан, затем добавляли **промежуточное соединение 22-С** (24 мг, 18,7 мкмоль) в виде раствора в 1 мл дихлорметана, затем 1 мл промывки дихлорметаном, и затем добавляли DIPEA (25 мкл, 143 мкмоль) и реакционную смесь выдерживали при температуре 20-25°C в течение 27 ч. Реакционную смесь концентрировали досуха при пониженном давлении, затем совместно выпаривали с 3×3 мл ацетонитрила. Сырой остаток затем растворяли в 1 мл смеси 7:5 ацетонитрил:вода и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке С18. гидразин-гидрат объединяли, замораживали при температуре -80°C и лиофилизировали с получением

**промежуточного соединения 22-D** в виде аморфного порошка белого цвета (10 мг, 90%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 29%-ный выход в виде ТФУ соли).

*Стадия 5:* 2,6-Дихлорфенил 3-[2-(2-{{1,4,7,10-тетраakis[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-2л}метил)карбамоил}этокси}этокси)-этокси]пропаноат (**соединение U**)

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помешали **промежуточное соединение 22-D** (10 мг, 5,4 мкмоль), затем 2 мл 4 М хлористоводородной кислоты в 1,4-диоксане. Реакционный сосуд герметично закрывали и нагревали при температуре 50°C в течение 2,5 ч. Затем реакционную смесь концентрировали в токе сжатого воздуха, затем совместно выпаривали с 2×4 мл ацетонитрила. Сырой остаток растворяли в 1 мл смеси 1:1 ацетонитрил:0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде марки Trace Select и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке C18. Фракции, содержащие продукт, объединяли, замораживали при температуре -80°C и лиофилизировали с получением **соединения U** в виде тонкого аморфного порошка белого цвета (3 мг, 95%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 40%-ный выход в виде ТФУ соли). Аликвоту анализировали методом 3 элюирования ВЭЖХ; время удерживания=3,0 мин; MS (положительная ESI): найдено  $m/z=1070,0$   $[M+H]^+$ ;  $C_{49}H_{62}Cl_2N_9O_{14}$  (вычисл. 1070,4).

**Пример 21:** 2,6-Дихлорфенил 1-{{1,4,7,10-тетраakis[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-2-ил}метил)карбамоил]-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-додекаоксанона триаконтан-39-оат (**соединение V**)



*Стадия 1:* 2,6-Дихлорфенил 1-{{1,4,7,10-тетраakis{{1-(бензилокси)-6-оксопиридин-2-ил}метил}})-1,4,7,10-тетраазациклододекан-2-ил}метил}карбамоил)-

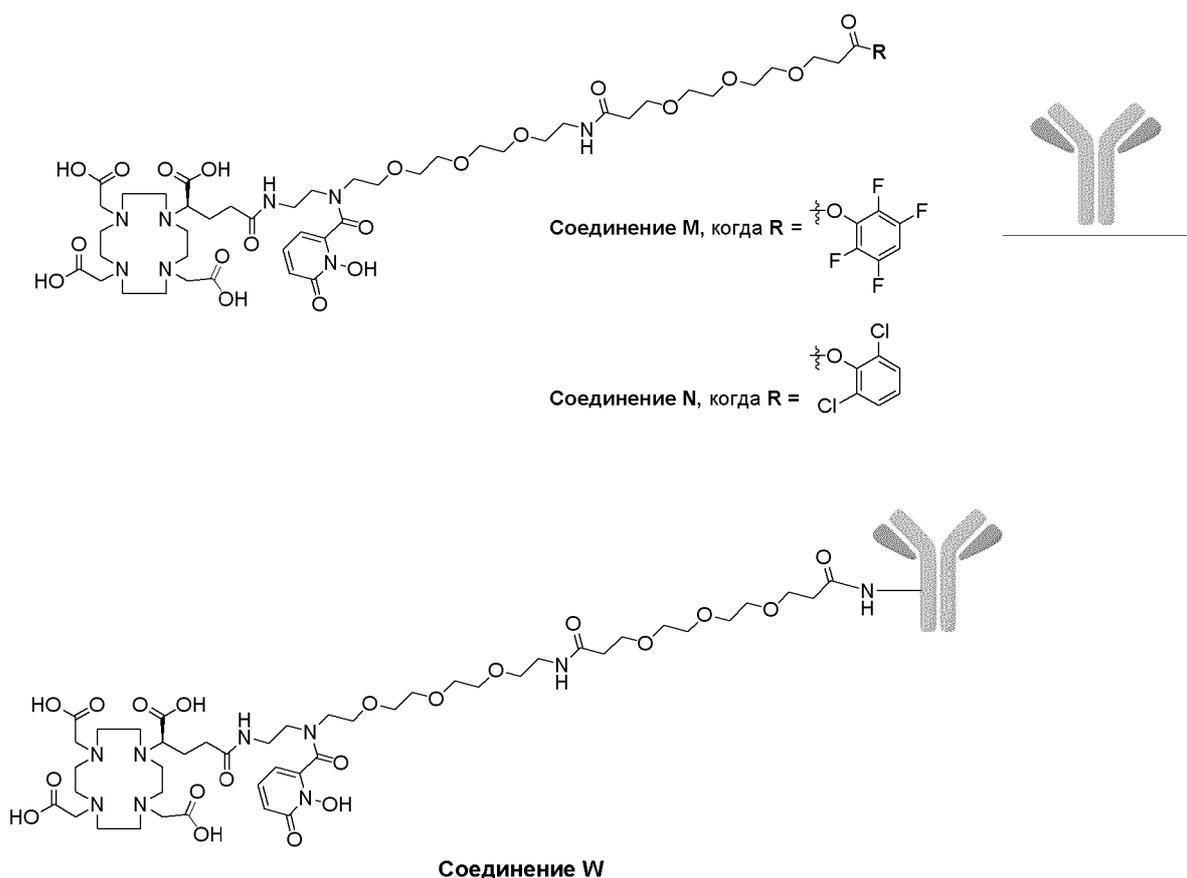
*3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-додекаоксанонатриаконтан-39-оат* (промежуточное соединение **23-A**)

В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное** соединение **17-A** (19 мг, 35 мкмоль), затем 3 мл безводного дихлорметан, затем добавляли **промежуточное соединение 22-C** (15 мг, 11,7 мкмоль) в виде раствора 0,75 мл дихлорметана затем 0,75 мл дихлорметановой промывки, затем добавляли DIPEA (32 мкл, 187 мкмоль) и реакционную смесь выдерживали при температуре 20-25°C в течение 24 ч. Реакционную смесь концентрировали досуха при пониженном давлении, растворяли в 1 мл смеси 7:5 ацетонитрил:вода и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке C18 с получением **промежуточного соединения 23-A** в виде прозрачной бесцветной пленки (14 мг, >98%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 58%-ный выход в виде ТФУ соли).

*Стадия 2: 2,6-Дихлорфенил 1-[(1,4,7,10-тетраakis[(1-гидрокси-6-оксопиридин-2-ил)метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-2-ил}метил)карбамоил]-*  
*3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-додекаоксанонатриаконтан-39-оат* (соединение **V**)

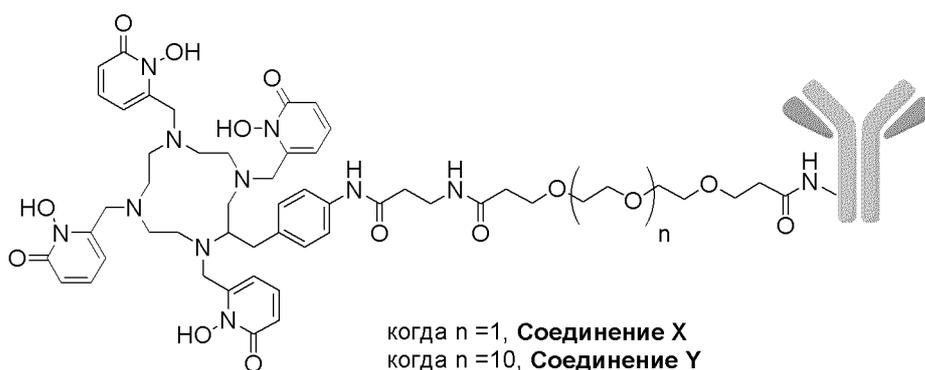
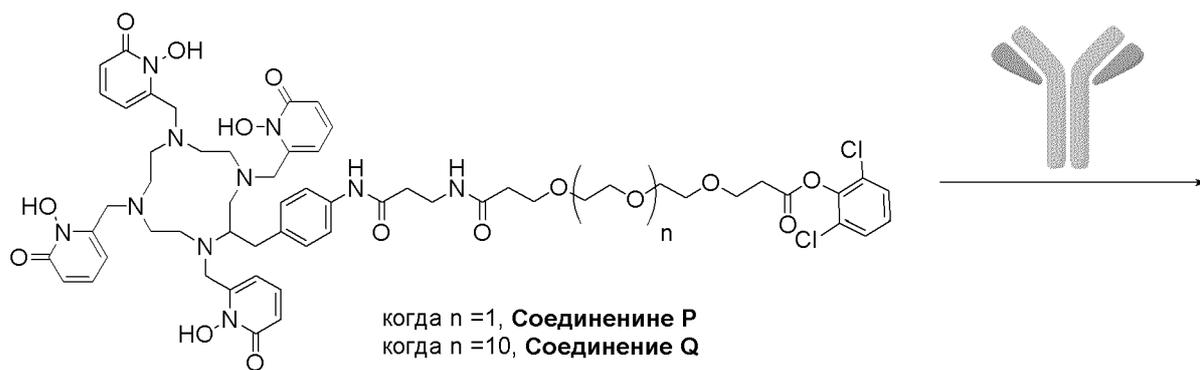
В сцинтилляционный флакон объемом 20 мл помещали **промежуточное соединение 23-A** (14 мг, 6,8 мкмоль), затем 1,5 мл 4 М хлористоводородной кислоты в 1,4-диоксане и 1,5 мл 4 М соляной кислоты в уксусной кислоте. Реакционный сосуд герметично закрывали и нагревали при температуре 50°C в течение 2,5 ч. Затем реакционную смесь концентрировали в токе сжатого воздуха, затем совместно выпаривали с 2×3 мл ацетонитрила. Сырой остаток растворяли в 1 мл смеси 1:1 ацетонитрил:0,1% раствор трифторуксусной кислоты в воде марки Trace Select и затем очищали препаративной ВЭЖХ на колонке C18. Фракции, содержащие продукт, объединяли, замораживали при температуре -80°C и лиофилизировали с получением **соединения V** в виде аморфного порошка желтовато-белого цвета (4 мг, 95%-ная чистота, как определено по данным ВЭЖХ, 33%-ный выход в виде ТФУ соли). Аликвоту анализировали методом 3 элюирования ВЭЖХ; время удерживания=3,4 мин; MS (положительная ESI): найдено m/z=1466,4 [M+H]<sup>+</sup>; C<sub>67</sub>H<sub>98</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>9</sub>O<sub>23</sub> (вычисл. 1466,6).

**Пример 22:** Синтез конъюгата антитела (**соединение W**) с использованием бифункциональных хелатов **соединения M** и **соединения N**



В пробирку Эппендорфа объемом 500 мкл помещали антитело (гуманизированное mAb анти-IGF-1R; 10 нмоль, 80,5 мкл в буферном солевом растворе ацетата натрия (0,1 М) с 0,01% Tween 80=SABST) и Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5 мкл, 0,1 М). Добавляли **соединение M** или **соединение N** (26 мкл, 130 нмоль при конц.=5 нмоль/мкл в 0,001 М HCl), затем Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,2 мкл, 0,1 М) до доведения pH до 8 с помощью индикаторной полоски. Реакцию инкубировали на водяной бане при температуре 37°C в течение 1 ч. Затем реакционную смесь очищали для удаления непрореагировавшего хелата на колонке G50 (корпус объемом 1 мл, элюирование с использованием SABST) с получением **соединения W**, которое отбирали для метода 2 элюирования SEC-HPLC и наносили на калибровочную кривую для определения концентрации (~78%-ный выход с использованием **соединения M** и ~83%-ный выход с использованием **соединения N**). CAR 1,1 и 0,44 определяли с помощью MALDI-MS при взаимодействии с **соединением M** и **соединением N**, соответственно.

**Пример 23:** Синтез конъюгатов антител **соединения X** и **соединения Y**



В пробирку Эппендорфа объемом 1,5 мл помещали антитело (гуманизированное mAb анти-IGF-1R; 9,7 нмоль, 1,1 мл в буферном солевом растворе ацетата натрия (0,1 М) с 0,01% Tween 80=SABST) и натриево-бикарбонатный буфер (110 мкл, 0,1 М). Добавляли **соединение Р** (58,2 мкл, 58,2 нмоль при конц.=1 нмоль/мкл в 0,001 М HCl). Реакцию инкубировали при комнатной температуре в течение 100 мин. Затем реакционную смесь очищали для удаления непрореагировавшего хелата на колонке G50 с использованием SABST в качестве элюента с получением **соединения X**, образец которого отбирали методом 2 элюирования SEC-HPLC и Nano-drop (~71%-ный выход). CAR 0,80 определяли с помощью MALDI-MS. По аналогии с вышеизложенным, 6-кратный избыток **соединения Q** подвергали взаимодействию с гуманизированным mAb анти-IFG-1R в течение 120 мин при комнатной температуре с получением **соединения Y**, образец которого отбирали методом 2 элюирования SEC-HPLC и Nano-drop (~78%-ный выход). CAR 0,92 определяли с помощью MALDI-MS.

**Пример 24:** Радиоактивное мечение **соединения А** с помощью  $^{225}\text{Ac}$

Для радиоактивного мечения **соединения А** с помощью  $^{225}\text{Ac}$  использовали следующие общие условия. Раствор  $^{225}\text{Ac}$  (5 мкл, 4 мКи, в 0,001 М HCl) добавляли к раствору **соединения А** (100 мкл, 10 нмоль) буферном солевом растворе ацетата натрия (0,1 М, pH 6,5) с 0,01% Tween 80. Реакцию радиоактивного мечения инкубировали при температуре 37°C в течение 3 часа. Конверсию в продукт контролировали с помощью радио-ТСХ (98,4%; планшет iTLC, 1:1:18 NH<sub>4</sub>OH/EtOH/H<sub>2</sub>O).

**Пример 25:** Радиоактивное мечение **соединения А** с помощью  $^{89}\text{Zr}$

Для радиоактивного мечения **соединения А** с помощью  $^{89}\text{Zr}$  использовали следующие общие условия. Раствор **соединения А** (10 мкл, 50-100 нмоль, в 0,001 М HCl) добавляли к (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоте; HEPES; 400 мкл, 0,5 М) буфер, затем добавляли раствор  $^{89}\text{ZrCl}_4$  (*Nucl. Med. Biol.* 2009, 36, 729-739) или  $^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$  (2-20 мкл, 0,5-1,0 мкКи). Реакционную смесь нагревали при температуре 90°C (1 час), 60°C (3 часа) или 37°C (3 часа), конверсию определяли с помощью радио-ТСХ (планшет iTLC, 1:1:18  $\text{NH}_4\text{OH}/\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ ) и данные суммированы в таблице 2 ниже. Полученные продукты выделяли с помощью радиоактивной препаративной ВЭЖХ, концентрировали в токе воздуха и вводили в состав буферного солевого раствора ацетата натрия (0,1 М) с 0,01% Tween 80.

Таблица 2: Результаты конверсии для радиосинтеза  $^{89}\text{Zr}$ -соединение А

Температура (°C)	Время (ч)	соль $^{89}\text{Zr}$	Конверсия (%)
90	1	$^{89}\text{ZrCl}_4$	88
		$^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$	85
60	3	$^{89}\text{ZrCl}_4$	20
		$^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$	<5
37	3	$^{89}\text{ZrCl}_4$	<5
		$^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$	<5

**Пример 26:** Радиоактивное мечение DOTA с помощью  $^{89}\text{Zr}$

Раствор DOTA, *S*-2-(4-нитробензил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан тетрауксусную кислоту, (Mascosuclos, В-199; 50-100 нмоль, 10 мкл, в 0,001 М HCl) добавляли к буферу HEPES (400 мкл, 0,5 М), затем добавляли раствор  $^{89}\text{ZrCl}_4$  или  $^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$  (2-20 мкл, 0,5-1,0 мкКи), и реакционные смеси нагревали при температуре 90°C в течение 1 час. Конверсии определяли с помощью радио-ТСХ (планшет iTLC, 1:1:18  $\text{NH}_4\text{OH}/\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ ). Для  $^{89}\text{ZrCl}_4$  конверсия составляла 50%, и для  $^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$  конверсия определялась как 33%. Полученные продукты выделяли с помощью радиоактивной препаративной ВЭЖХ, концентрировали в токе воздуха и вводили в буферный солевой раствор, содержащий ацетат натрия, (0,1 М) с 0,01% Tween 80.

**Пример 27:** Радиоактивное мечение DFO с помощью  $^{89}\text{Zr}$

Раствор DFO, мезилатной соли десферриоксамина, (Sigma-Aldrich, D9533; 50-100 нмоль, 10 мкл, в 0,001 М HCl) добавляли к буферу HEPES (400 мкл, 0,5 М), затем добавляли раствор  $^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$  (2-20 мкл, 0,5-1,0 мкКи). Реакционную смесь нагревали при температуре 90°C в течение 1 час, и конверсию определяли с помощью радио-ТСХ (>99%; планшет iTLC, 0,1 М этилендиамин тетрауксусной кислоты (EDTA)). Полученный продукт выделяли с помощью радиоактивной препаративной ВЭЖХ, концентрировали в токе воздуха и вводили в буферный солевой раствор, содержащий ацетат натрия, (0,1 М) с 0,01% Tween 80.

**Пример 28:** Стабильность  $^{89}\text{Zr}$ -соединение А

Стабильность комплекса **соединения А** с  $^{89}\text{Zr}$  была продемонстрирована с использованием эксперимента с воздействием диэтилтриаминпентауксусной кислотой (ДТРА), с добавлением 25-кратного молярного избытка ДТРА к очищенному с помощью ВЭЖХ  $^{89}\text{Zr}$ -соединения А, и результаты сравнивались как с  $^{89}\text{Zr}$ -ДОТА, так и  $^{89}\text{Zr}$ -ДФО аналогами. Результаты, суммированные в таблице 3 ниже, демонстрируют, что  $^{89}\text{Zr}$ -соединение А и  $^{89}\text{Zr}$ -ДОТА были стабильны к воздействию ДТРА в течение 120 часов, и что  $^{89}\text{Zr}$ -соединение А проявляло превосходную стабильность по сравнению с  $^{89}\text{Zr}$ -ДФО в аналогичных условиях.

Таблица 3: Стабильность  $^{89}\text{Zr}$ -соединения А,  $^{89}\text{Zr}$ -ДОТА, и  $^{89}\text{Zr}$ -ДФО к воздействию ДТРА

Соединение	Процент продукта (%)		
	0 часов (начальная)	48 часов	120 часов
$^{89}\text{Zr}$ -соединение А	96	86	85
$^{89}\text{Zr}$ -ДОТА	99	98	98
$^{89}\text{Zr}$ -ДФО	97	61	23

**Пример 29:** Радиоактивное мечение и стабильность **соединения D**, **соединения E** и **соединения F** с помощью  $^{225}\text{Ac}$

Для радиоактивного мечения  $^{225}\text{Ac}$  **соединения D**, **соединения E**, и **соединения F** использовали следующие общие условия. Раствор соединения (10 мкл, 100 нмоль, в 0,001 М HCl) добавляли в буфер, содержащий *трис*(гидроксиэтил)аминометана, (TRIS) (100 мкл, 0,1 М). К нему добавляли раствор  $^{225}\text{Ac}$  (5 мкл, 4 мкКи, в 0,001 М HCl) и реакцию радиоактивного мечения инкубировали при температуре 37°C в течение 3 часов. Конверсию в продукт контролировали с помощью радио-ТСХ на пластинах ITLC-SG, которые проявляли в соответствующем растворителе (1:1:18  $\text{NH}_4\text{OH}/\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$  или 0,1 М EDTA). Стабильность комплекса  $^{225}\text{Ac}$  была продемонстрирована с использованием эксперимента с воздействием ДТРА с добавлением 25-кратного молярного избытка ДТРА к раствору продукта, описанному выше. Стабильность контролировали с помощью радио-ТСХ, и результаты радиоактивного мечения и стабильность суммированы в таблице 4 ниже.

Таблица 4: Результаты конверсии в продукт и результаты по стабильности пробы ДТРА для  $^{225}\text{Ac}$ -соединения D,  $^{225}\text{Ac}$ -соединения E и  $^{225}\text{Ac}$ -соединения F

Соединение	Конверсия в продукт (%)	ДТРА Стабильность (24 часов)
$^{225}\text{Ac}$ -соединение D	65	<5
$^{225}\text{Ac}$ -соединение E	68	47
$^{225}\text{Ac}$ -соединение F	87	85
$^{225}\text{Ac}$ -соединение F	98*	95

\* Используемые условия: Соединение F (10 мкл, 100 нмоль, в 0,001 М HCl) добавляли в 100 мМ натриево-ацетатный буфер pH 6,5, 0,33% NaCl, 0,01% Tween-80. К нему добавляли раствор  $^{225}\text{Ac}$  (2 мкл, 4 мКи, в 0,001 М HCl) и реакцию радиоактивного мечения инкубировали при температуре 37°C в течение 1 ч. Конверсию и стабильность контролировали с помощью радио-ТСХ на пластинах ITLC-SG и проявляли в смеси 95:5 цитрат/MeOH.

**Пример 30:** Радиоактивное мечение **соединения D**, **соединения E**, и **соединения F** с помощью  $^{89}\text{Zr}$

Для радиоактивного мечения  $^{89}\text{Zr}$  **соединения D**, **соединения E** и **соединения F** использовали следующие общие условия. Раствор соединения (10 мкл, 50-100 нмоль, в 0,001 М HCl) добавляли к буферу HEPES (400 мкл, 0,5 М). К нему добавляли раствор  $^{89}\text{ZrCl}_4$  или  $^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$  (2-20 мкл, 0,5-1,0 мКи). Реакционную смесь нагревали при температуре 90°C (1 час), 60°C (3 часа) или 37°C (3 часа), конверсию определяли с помощью радио-ТСХ (планшет iTLC, 0,1 М EDTA) и данные суммированы в таблицах 5-7 ниже.

Таблица 5: Результаты конверсии для радиосинтеза  $^{89}\text{Zr}$ -соединение D

Температура (°C)	Время (ч)	$^{89}\text{Zr}$ соль	Конверсия (%)
90	1	$^{89}\text{ZrCl}_4$	99
		$^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$	99
37	3	$^{89}\text{ZrCl}_4$	99
		$^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$	n/a*

\* отсутствует

Таблица 6: Результаты конверсии для радиосинтеза  $^{89}\text{Zr}$ -соединение E

Температура (°C)	Время (ч)	$^{89}\text{Zr}$ соль	Конверсия (%)
90	1	$^{89}\text{ZrCl}_4$	99
		$^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$	99
37	3	$^{89}\text{ZrCl}_4$	99
		$^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$	n/d*

\* нет данных

Таблица 7: Результаты конверсии для радиосинтеза  $^{89}\text{Zr}$ -соединения F

Температура (°C)	Время (ч)	$^{89}\text{Zr}$ соль	Конверсия (%)
90	1	$^{89}\text{ZrCl}_4$	99
		$^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$	>95
60	3	$^{89}\text{ZrCl}_4$	99
		$^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$	>95
37	3	$^{89}\text{ZrCl}_4$	91
		$^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$	>95

**Пример 31:** Стабильность  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **D**,  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **E**, и  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **F** по отношению к ДТРА

Стабильность  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **D**,  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **E** и  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **F** была продемонстрирована с использованием эксперимента по воздействию диэтилентриаминпентауксусной кислотой (ДТРА) с добавлением 25-кратного молярного избытка ДТРА к раствору продукта, описанному выше (пример 30). Было обнаружено, что все соединения, меченные радиоактивным изотопом  $^{89}\text{Zr}$ , стабильны по отношению к эксперименту с воздействием ДТРА. Стабильность контролировали с помощью радио-ТСХ, и результаты суммированы в таблице 8 ниже.

Таблица 8: Результаты стабильности при воздействии ДТРА для  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **D**,  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **E** и  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **F**

Соединение	Исходный продукт (%)	Продукт (%) после 24-часового воздействия пробы ДТРА
$^{89}\text{Zr}$ -соединение <b>D</b>	99	99
$^{89}\text{Zr}$ -соединение <b>E</b>	99	99
$^{89}\text{Zr}$ -соединение <b>F</b>	99	99

**Пример 32:** Радиоактивное мечение соединения **D**, соединения **E**, соединения **F**, соединения **H**, соединения **I**, соединения **J** и соединения **K** с помощью  $^{89}\text{Zr}$  и стабильность комплексов по отношению к EDTA

Раствор  $^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$  (4 мкл,  $\sim 0,1-0,2$  мкКи) нейтрализовали  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2 М, 0,45-кратный объем раствора  $\text{Zr-}^{89}$ ), затем разбавляли HEPES (100 мкл, 0,5 М, pH=7,1 Добавляли раствор хелатного соединения (2-18 мкл, 20 нмоль, в  $\text{H}_2\text{O}$  марки Trace Select) и реакционную смесь нагревали при температуре 37°C (30-60 мин) и конверсию определяли с помощью радио-ТСХ (планшет iTLC SG, 0,1 М EDTA, pH=5). Стабильность комплекса  $^{89}\text{Zr}$  также была продемонстрирована с помощью эксперимента с EDTA путем добавления 50-500-кратного молярного избытка EDTA к раствору продукта, описанного выше, и инкубации при комнатной температуре. Стабильность контролировали с помощью радио-ТСХ, и результаты радиоактивного мечения и стабильность суммированы в таблице 9 ниже.

Таблица 9: Результаты радиоактивного мечения с помощью  $^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$  в HEPES при температуре 37°C и EDTA по испытаниям на стабильность для  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **D**,  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **E**,  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **F**,  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **H**,  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **I**,  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **J**,  $^{89}\text{Zr}$ -соединения **K**

Соединение	Время (мин)	Конверсия в продукт (%)	Стабильность EDTA (1 день, 50 эквив.)
$^{89}\text{Zr}$ -соединение <b>D</b>	60	>99%	>99%
$^{89}\text{Zr}$ -соединение <b>E</b>	60	>99%	>99%
$^{89}\text{Zr}$ -соединение <b>F</b>	60	>99%	>99%
$^{89}\text{Zr}$ - Соединение <b>H</b>	30	>98%	>99%*

<sup>89</sup> Zr - Соединение I	60	>99%	>99%
<sup>89</sup> Zr - Соединение J	60	>99%	>99%
<sup>89</sup> Zr - Соединение K	60	>99%	>99%

\*500 эквив. EDTA

**Пример 33:** Радиоактивное мечение **соединения D**, **соединения E**, **соединения F** и **соединения H** с помощью <sup>89</sup>Zr в TRIS буфере

Для радиоактивного мечения <sup>89</sup>Zr **соединения D**, **соединения E**, **соединения F** и **соединения H** в TRIS буфере использовали следующие общие условия. Раствор <sup>89</sup>Zr(ox)<sub>2</sub> (4-10 мкл, 0,08-0,4 мкКи) нейтрализовали Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 М, 0,45 кратный объем Zr-89 раствора), затем разбавляли TRIS буфером (100-200 мкл, 50 мМ, pH=7,4). Добавляли раствор хелатного соединения (4-36 мкл, 20-40 нмоль, в H<sub>2</sub>O марки Trace Select) и реакционную смесь нагревали при температуре 37°C (от 30 до 60 мин) и конверсию определяли с помощью радио-ТСХ (планшет iTLC SG, 0,1 М EDTA, pH=5). Данные суммированы в таблице 10 ниже.

Таблица 10: Результаты радиоактивного мечения в TRIS (0,05 М, pH=7,4) при температуре 37°C для <sup>89</sup>Zr-соединения D, <sup>89</sup>Zr-соединения E, <sup>89</sup>Zr-соединения F и <sup>89</sup>Zr-соединения H

Соединение	<sup>89</sup> Zr соль	Время (мин)	Конверсия в продукт (%)
<sup>89</sup> Zr-соединение D	<sup>89</sup> Zr(ox) <sub>2</sub>	60	>99%
<sup>89</sup> Zr-соединение E	<sup>89</sup> Zr(ox) <sub>2</sub>	60	>99%
<sup>89</sup> Zr-соединение F	<sup>89</sup> Zr(ox) <sub>2</sub>	60	>99%
<sup>89</sup> Zr-соединение H	<sup>89</sup> Zr(ox) <sub>2</sub>	30	>99%

**Пример 34:** Радиоактивное мечение **соединения D**, **соединения E** и **соединения F** с помощью <sup>177</sup>Lu

Для радиоактивного мечения <sup>177</sup>Lu **соединения D**, **соединения E** и **соединения F** использовали следующие общие условия. Раствор <sup>177</sup>Lu (1,5 мкл, 0,5 мкКи, в 0,001М HCl) добавляли к раствору соединению (100 мкл, 10 нмоль) в буферном солевом растворе ацетата натрия (0,1 М, pH 6,5) с 0,01% Tween 80. Реакцию радиоактивного мечения инкубировали при температуре 37°C в течение 1 час. Конверсию в продукт контролировали с помощью радио-ТСХ (планшет iTLC, 1:1:18 NH<sub>4</sub>OH/EtOH/H<sub>2</sub>O или 0,1 М EDTA) и результаты суммированы в таблице 11 ниже.

Таблица 11: Результаты конверсии для радиосинтеза <sup>177</sup>Lu-соединения D, <sup>177</sup>Lu-соединения E и <sup>177</sup>Lu-соединения F

Соединение	Конверсия в продукт (%)
<sup>177</sup> Lu-соединение D	99
<sup>177</sup> Lu-соединение E	59
<sup>177</sup> Lu-соединение F	83

**Пример 35:** Радиосинтез С-антитела  $^{89}\text{Zr}$ -соединения посредством двухстадийного мечения

Был использован следующий общий метод. Раствор DBCO-NHS (BroadPharm, BP-22231; 1000 нмоль в 20 мкл ДМСО) добавляли к раствору, содержащему антитело (гуманизированное mAb анти-IGF-1R; 10,0 нмоль, 250 мкл в буферном солевом растворе ацетата натрия (0,1 М) с 0,01% Tween 80) и бикарбонатный буфер (27 мкл). Реакцию инкубировали при температуре окружающей среды в течение 1 час, очищали на заполненной смолой колонке G-50, элюируя буферным солевым раствором ацетата натрия (0,1 М) с 0,01% Tween 80. Отношение DBCO к антителу определяли с помощью MALDI-TOF-MS, и было обнаружено, что оно находится в диапазоне от 0,1 до 5,0. Радиоактивное мечение соединения С с помощью  $^{89}\text{Zr}$  было следующим; к раствору  $^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$  (1-2 мкл, 0,5 мкКи) добавляли раствор карбоната натрия (0,7 мкл, 2 М), который инкубировали в течение 3 минут. К смеси добавляли буфер HEPES (400 мкл, 0,5 М) и раствор соединения С (20 мкл, 50 нмоль в 0,001 М HCl) и реакцию инкубировали при температуре 90°C в течение 1 часа. Затем к DBCO-антителу (250 мкг) добавляли раствор, содержащий  $^{89}\text{Zr}$ -соединение С, и реакцию инкубировали в течение 1 часа при температуре окружающей среды. Полученное С-антитело  $^{89}\text{Zr}$ -соединения очищали с помощью заполненной смолой колонки Sephadex G-50, элюируя буферным солевым раствором ацетата натрия (0,1 М) с 0,01% Tween 80. Конверсия в С-антитело  $^{89}\text{Zr}$ -соединения контролировали с помощью радио-ТСХ (80%; планшет iTLC, 0,02 М цитрата с 25% метанола) и подтверждали методом 1 элюирования SEC HPLC.

**Пример 36:** Радиоактивное мечение конъюгата антитела и соединения Y с помощью  $^{89}\text{Zr}$  и очистка с помощью препаративной SEC ВЭЖХ

Раствор  $^{89}\text{Zr}(\text{ox})_2$  (15-30 мкл, 0,8-1,1 мкКи) нейтрализовали  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2 М, 0,45 кратный объем Zr-89 раствора) и затем разбавляли HEPES (78-140 мкл, 0,5 М, pH=7,1). Добавляли раствор конъюгата антитела и соединения Y (28-200 мкл, ~70-160 мкг в буферном солевом растворе ацетата натрия (0,1 М) с 0,01% Tween 80) и реакцию инкубировали при температуре 37°C ( $\leq 3$  ч). Реакционную смесь контролировали с помощью радио-ТСХ (планшет iTLC SG, 0,1 М EDTA, pH=5) и затем очищали с помощью радиоактивной препаративной SEC ВЭЖХ (колонка TOSOH TSK, 7,8×300 мм, с использованием фосфатного буфера (pH=7) в качестве элюента при скорости потока=1 мл/мин) и вновь вводили в буферный солевой раствор, содержащий ацетат натрия, (0,1 М) с 0,01% Tween 80 с использованием колонки G-25 PD-10. Результаты суммированы в таблице 12 и исследование стабильности  $^{89}\text{Zr}$ -соединения Y продемонстрировано в таблице 13, как контролировалось с помощью радио-ТСХ и методом 2 элюирования SEC ВЭЖХ (без азида натрия).

Таблица 12: Радиосинтез  $^{89}\text{Zr}$ -соединения Y

Соединение	Конверсия в продукт (%)	RCY (%) после очистки и преобразования	RCP (%) после очистки и преобразования
$^{89}\text{Zr}$ -соединение Y	>83%	6%	>96%

Таблица 13: Исследование стабильности состава  $^{89}\text{Zr}$ -соединения Y при комнатной температуре

Состав	% радиохимической чистоты (RCP) по данным ITLC			% радиохимической чистоты (RCP) по данным ВЭЖХ			% мономерной чистоты (280 нм) по данным ВЭЖХ		
	D0	D1	D4	D0	D1	D4	D0	D1	D4
SABST	≥96,61	≥96,77	≥94,81	≥95	≥95	≥95	99,50	99,39	99,41
SABST+Na соль гентизиновой кислоты (3,8 мМ)	/	≥97,50	≥96,05	≥95	≥95	≥95	/	99,48	98,73
SABST+Na соль гентизиновой кислоты (16,7 мМ)	/	≥96,42	≥93,88	≥95	≥95	≥95	/	98,76	96,45
SABST+ аскорбат Na (3,8 мМ)	/	≥96,74	≥95,11	≥95	≥95	≥95	/	99,36	99,33
SABST+ аскорбат Na (16,7 мМ)	/	≥96,34	≥93,10	≥95	≥95	≥95	/	99,50	99,12

**Пример 37: Биораспределение  $^{89}\text{Zr}$ -соединение Y-антитело**

Исследование биораспределения  $^{89}\text{Zr}$ -соединения Y проводили на самках мышей Balb/c nu/nu (Charles River), несущих ксенотрансплантаты опухоли колоректальной аденокарциномы Colo-205 (ATCC #CCL-222) со сверхэкспрессией IGF-1R. Опухоли имплантировали 7-8-недельным мышам путем подкожной инъекции  $2 \times 10^6$  жизнеспособных клеток, приготовленных в виде суспензии смеси 1:1 (об./об.) фосфатно-солевой буфер: матригель (Becton-Dickenson). Исследования биораспределения начинали, когда опухоли достигали начального объема приблизительно  $200 \text{ мм}^3$ . Животным вводили

внутривенно через латеральную хвостовую вену 200 мкл меченого цирконием-89 иммуноконъюгата, содержащего 7 мкКи радиоактивности, конъюгированного с 3 мкг нацеливающего антитела и приготовленного в 100 мМ натриево-ацетатном буфере pH 6,5, 0,33% NaCl, 0,01% Tween-80, 3,8 мМ аскорбата натрия. После выбранных моментов времени (24 и 96 часов) после инъекции по 3 животных на каждый момент времени анестезировали изофлюраном, собирали кровь путем пункции сердца, затем животных подвергали эвтаназии для забора органов путем рассечения. Образцы органов и тканей промывали от крови, промокали от избыточной влаги и собирали в предварительно взвешенные пробирки для подсчета радиоактивности. Количество радиации в минуту, содержащееся в образцах тканей, измеряли с помощью счетчика гамма-излучения, а затем преобразовывали в мкКи активности с поправкой на затухание с использованием калибровочного стандарта. Измерения активности и массы образцов использовали для расчета процента введенной дозы на грамм веса ткани (%ID/г). Смотри фигуру 1.

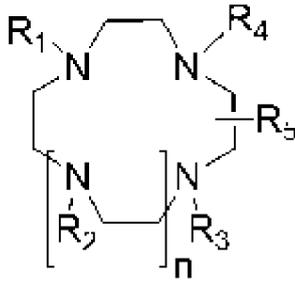
Результаты этого исследования биораспределения показали, что **<sup>89</sup>Zr-соединение Y** способно доставлять изотоп Zr-89 в опухоли, экспрессирующие IGF-1R. Поглощение опухолью (среднее значение ± стандартное отклонение) составило 26,1±10%ID/г через 96 часов. Поглощение органами было низким, в среднем менее 9% ID/г во всех протестированных органах. В частности, доставка Zr-89 в кости составила 3,9±2,9% ID/г.

#### **ДРУГИЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Хотя изобретение было описано в связи с его конкретными вариантами осуществления, следует понимать, что оно допускает дальнейшие модификации, и эта заявка предназначена для охвата любых вариантов, применений или адаптаций изобретения, следующих, в целом, принципам изобретения и включая такие отступления от настоящего изобретения, которые относятся к известной или общепринятой практике в области техники, к которой относится изобретение, и могут быть применены к изложенным выше существенным признакам.

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее структурную формулу (I), представленную ниже, или его комплекс с металлом, или его фармацевтически приемлемая соль:

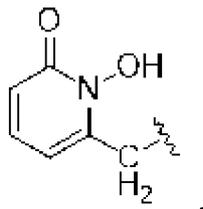


(I),

где

$R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой -L-U,  $R_4$  представляет собой -X-W и  $R_5$  представляет собой H, -L-U или -X-W; или  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  и  $R_4$ , каждый, независимо, представляют собой -L-U и  $R_5$  представляет собой -X-W; и

$n$  обозначает целое число 0-3, когда  $n$  обозначает 0 и  $R_5$  представляет собой H,  $R_1$ ,



$R_3$  и  $R_4$ , все, не являются

где

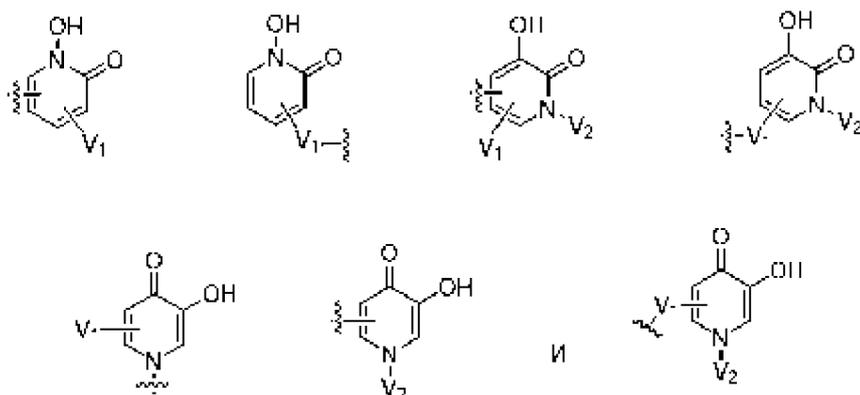
L представляет собой C=O или -CH(R)-, где R представляет собой H, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный гетероалкил или -L<sup>1</sup>-Z<sub>1</sub>-L<sup>2</sup>-Z<sub>2</sub>-B;

U представляет собой необязательно замещенный арил, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенную карбоновую кислоту или необязательно замещенную фосфоновую кислоту; или -L-U представляет собой -L<sup>1</sup>-Z<sub>1</sub>-L<sup>2</sup>-Z<sub>2</sub>-B;

по меньшей мере один из  $R_1$ - $R_3$  содержит U в виде необязательно замещенного гетероарила;

X представляет собой C=O или необязательно замещенный C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкилен; и

W представляет собой донорную группу, способную координироваться с радиометаллом, где донорная группа представляет собой необязательно замещенный гидроксипиридинон, имеющий структуру, выбранную из группы, включающей



в которой  $V_1$  отсутствует или представляет собой конденсированный арил или гетероарил, конденсированный карбоцикл или гетероцикл, алкил, простой эфир, спирт, кислоту, сложный эфир, амид, фосфонат или сульфонат; и  $V_2$  представляет собой H, алкил или ацил,

где

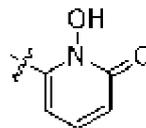
$L^1$  представляет собой связь, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  алкилен или необязательно замещенный  $C_1-C_6$  гетероалкилен;

$Z_1$  представляет собой связь,  $C=O(NR^4)$ ,  $C=S(NR^4)$ ,  $OC=O(NR^4)$ ,  $NR^4C=O(O)$ ,  $NR^4C=O(NR^4)$ ,  $-CH_2PhC=O(NR^4)$ ,  $-CH_2Ph(NR^4)C=O$  или  $-CH_2Ph(NH)C=S(NR^4)$ , каждый  $R^4$  независимо представляет собой H, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  алкил, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  гетероалкил или необязательно замещенный арил или гетероарил;

$L^2$  представляет собой необязательно замещенный  $C_1-C_{50}$  алкилен или необязательно замещенный  $C_1-C_{50}$  гетероалкилен или  $C_5-C_{20}$  полиэтиленгликоль;

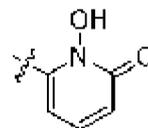
$Z_2$  представляет собой  $C=O$ ,  $-NR'-(C=O)-$  или  $-NR'-(C=O)-R''$ , где  $R'$  представляет собой H или  $C_1-C_6$  алкил и  $R''$  представляет собой  $C_1-C_{20}$  алкилен,  $C_2-C_{20}$  гетероалкилен или арилен; и

$V$  представляет собой терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или поперечно-связывающую группу.



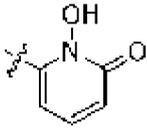
2. Соединение по п.1, где  $W$  представляет собой

3. Соединение по п.1, где  $X$  представляет собой  $C_1-C_3$  алкилен.



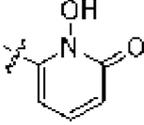
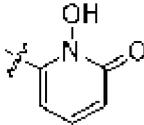
4. Соединение по п.3, где  $W$  представляет собой и  $X$  представляет собой  $CH_2$ .

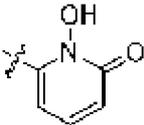
5. Соединение по п.1, где  $n$  обозначает 1.

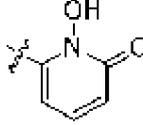
6. Соединение по п.5, где W представляет собой  и X представляет собой CH<sub>2</sub>.

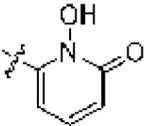
7. Соединение по п.1, где R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> и R<sub>3</sub>, каждый, независимо, представляют собой группу -L-U, в которой L представляет собой -CH(R)-, где R представляет собой H.

8. Соединение по п.7, где U представляет собой необязательно замещенный гетероарил или необязательно замещенную карбоновую кислоту.

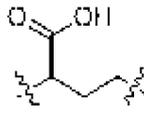
9. Соединение по п.8, где U представляет собой  или CO<sub>2</sub>H, и по меньшей мере один из R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> содержит U в виде .

10. Соединение по п.7, где по меньшей мере один из R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> содержит U в виде .

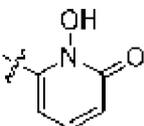
11. Соединение по п.7, где каждый из R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> содержит U в виде .

12. Соединение по п.11, где W представляет собой  и X представляет собой CH<sub>2</sub>.

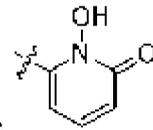
13. Соединение по п.1, где R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> и R<sub>3</sub>, каждый, независимо, представляют собой группу -L-U, в которой L представляет собой -CH(R)-, где R представляет собой -L<sup>1</sup>-Z<sub>1</sub>-L<sup>2</sup>-

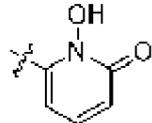
Z<sub>2</sub>-В и L<sup>1</sup> представляет собой .

14. Соединение по п.13, где L<sup>2</sup> представляет собой C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> полиэтиленгликоль и Z<sub>2</sub> представляет собой -NR'-C(=O)-R'', где R' представляет собой H и R'' представляет собой арилен.

15. Соединение по п.13, где по меньшей мере один из R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> содержит U в виде .

16. Соединение по п.3, где каждый из R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> содержит U в виде



17. Соединение по п.16, где W представляет собой  и X представляет собой CH<sub>2</sub>.

18. Соединение по п.13, где В представляет собой терапевтический фрагмент или нацеливающий фрагмент.

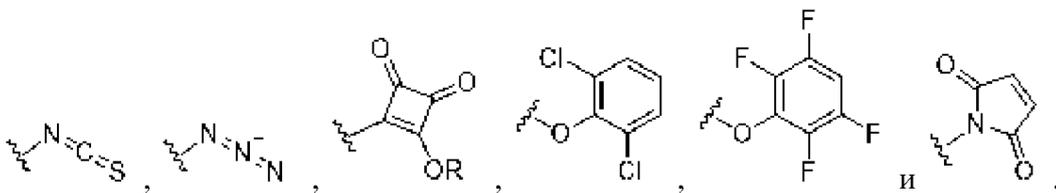
19. Соединение по п.18, где терапевтический фрагмент или нацеливающий фрагмент представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

20. Соединение по п.19, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает IGF-1R.

21. Соединение по п.13, где В представляет собой поперечно-связывающую группу, выбранную из группы, включающей аминореактивную поперечно-связывающую группу, метионинреактивную поперечно-связывающую группу и тиолреактивную поперечно-связывающую группу.

22. Соединение по п.21, где поперечно-связывающая группа содержит активированный сложный эфир, имидат, ангидрид, тиол, дисульфид, малеимид, азид, алкин, напряженный алкин, напряженный алкен, галоген, сульфонат, галогенацетил, амин, гидразид, диазирин, фосфин, тетразин, изотиоцианат или оксазирин, где активированный сложный эфир представляет собой сложный эфир гидроксисукцинимид, сложный эфир 2,3,5,6-тетрафторфенола, сложный эфир 2,6-дихлорфенола или сложный эфир 4-нитрофенола.

23. Соединение по п.22, где поперечно-связывающая группа выбрана из группы, включающей:



24. Соединение по п.1, где соединение включает комплекс металла, который содержит металл, выбранный из группы, включающий Bi, Pb, Y, Mn, Cr, Fe, Co, Zn, Ni, In, Ga, Cu, Re, Sm, лантанид и актинид.

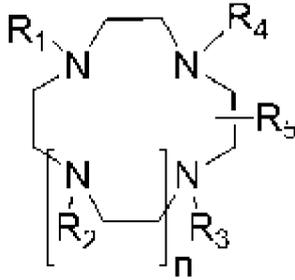
25. Соединение по п.1, где соединение включает комплекс металла, который содержит радионуклид, выбранный из группы, включающей <sup>89</sup>Zr, <sup>47</sup>Sc, <sup>55</sup>Co, <sup>60</sup>Cu, <sup>61</sup>Cu, <sup>62</sup>Cu, <sup>64</sup>Cu, <sup>67</sup>Cu, <sup>66</sup>Ga, <sup>67</sup>Ga, <sup>68</sup>Ga, <sup>82</sup>Rb, <sup>86</sup>Y, <sup>87</sup>Y, <sup>90</sup>Y, <sup>97</sup>Ru, <sup>105</sup>Rh, <sup>109</sup>Pd, <sup>111</sup>In, <sup>117m</sup>Sn, <sup>149</sup>Pm, <sup>52</sup>Mn, <sup>149</sup>Tb, <sup>152</sup>Tb, <sup>153</sup>Sm, <sup>177</sup>Lu, <sup>186</sup>Re, <sup>188</sup>Re, <sup>199</sup>Au, <sup>201</sup>Tl, <sup>203</sup>Pb, <sup>212</sup>Pb, <sup>212</sup>Bi, <sup>213</sup>Bi, <sup>225</sup>Ac, <sup>223</sup>Ra и <sup>227</sup>Th.

26. Соединение по п.25, где радионуклид представляет собой <sup>89</sup>Zr, <sup>111</sup>In или <sup>225</sup>Ac.

27. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по п.1 и фармацевтически приемлемый носитель.

28. Способ лечения иммунорегуляторной аномалии у нуждающегося в этом субъекта, где способ включает введение указанному субъекту соединения по п.1 в количестве, эффективном для лечения указанной иммунорегуляторной аномалии.

29. Соединение, имеющее структурную формулу (I), представленную ниже, или его комплекс с металлом, или его фармацевтически приемлемая соль:



(I),

где

$R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой -L-U,  $R_4$  представляет собой -X-W и  $R_5$  представляет собой H, -L-U или -X-W; или  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  и  $R_4$ , каждый, независимо, представляют собой -L-U и  $R_5$  представляет собой -X-W; и

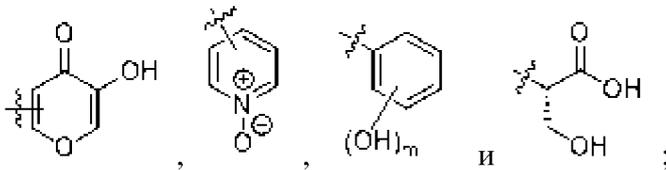
$n$  обозначает целое число 0-3,

где

L представляет собой optionally замещенный  $C_{1-3}$  алкилен;

U представляет собой optionally замещенную карбоновую кислоту или optionally замещенную фосфоновую кислоту;

W представляет собой способную координироваться с радиометаллом донорную группу, в которой донорный фрагмент представляет собой optionally замещенный гидроксипиридинон или группу, выбранную из группы, включающей



$m$  обозначает целое число 1-3; и

X представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где R представляет собой H, optionally замещенный алкил, optionally замещенный гетероалкил или  $-L^3-Z_2-V$ ,

где

$L^1$  и  $L^2$ , каждый, независимо, представляют собой связь, optionally замещенный  $C_1-C_6$  алкилен или optionally замещенный  $C_1-C_6$  гетероалкилен;

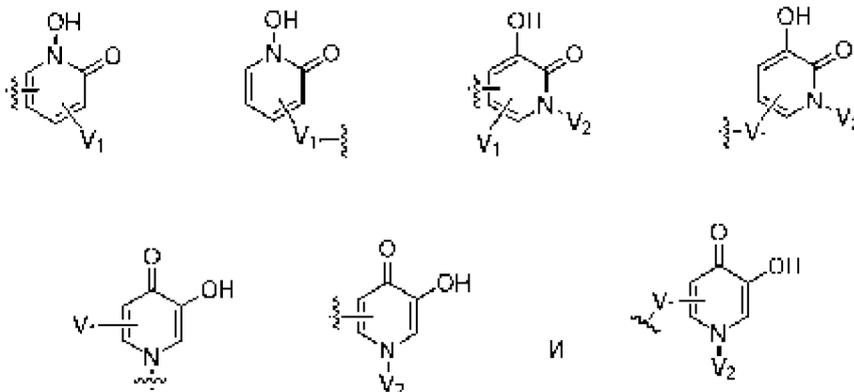
$L^3$  представляет собой optionally замещенный  $C_1-C_{50}$  алкилен или optionally замещенный  $C_1-C_{50}$  гетероалкилен или  $C_5-C_{20}$  полиэтиленгликоль;

$Z_1$  представляет собой связь,  $C=O(NR^4)$ ,  $C=S(NR^4)$ ,  $OC=O(NR^4)$ ,  $NR^4C=O(O)$ ,  $NR^4C=O(NR^4)$ ,  $-CH_2PhC=O(NR^4)$ ,  $-CH_2Ph(NR^4)C=O$  или  $-CH_2Ph(NH)C=S(NR^4)$ , каждый  $R^4$  независимо представляет собой H, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  алкил, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  гетероалкил или необязательно замещенный арил или гетероарил;

$Z_2$  представляет собой  $C=O$ ,  $-NR'-(C=O)-$  или  $-NR'-(C=O)-R''$ , где  $R'$  представляет собой H или  $C_1-C_6$  алкил и  $R''$  представляет собой  $C_1-C_{20}$  алкилен,  $C_2-C_{20}$  гетероалкилен или арилен; и

$V$  представляет собой терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или поперечно-связывающую группу.

30. Соединение по п.29, где  $W$  представляет собой необязательно замещенный гидроксипиридинон, имеющий структуру, выбранную из группы, включающей

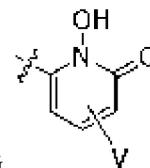


где  $V_1$  отсутствует или представляет собой конденсированный арил или гетероарил, конденсированный карбоцикл или гетероцикл, алкил, простой эфир, спирт, кислоту, сложный эфир, амид, фосфонат или сульфонат; и  $V_2$  представляет собой H, алкил или ацил.

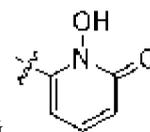
31. Соединение по п.29, где  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой -L-U, где L представляет собой необязательно замещенный  $C_1$  алкилен и U представляет собой  $-CO_2H$ .

32. Соединение по п.31, где L представляет собой  $CH_2$ .

33. Соединение по п.29, где  $W$  представляет собой

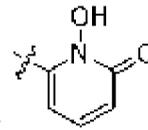


34. Соединение по п.33, где  $W$  представляет собой



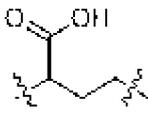
35. Соединение по п.29, где n обозначает 1.

36. Соединение по п.35, где каждый из  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$  представляет собой -L-U, где L представляет собой  $CH_2$  и U представляет собой  $-CO_2H$ .

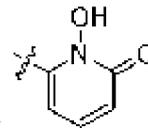


37. Соединение по п.35, где W представляет собой

38. Соединение по п.29, где X представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где  $L^1$

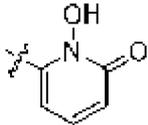
представляет собой  и R представляет собой H.

39. Соединение по п.38, где каждый из  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$  представляет собой  $-L-U$ , где L представляет собой  $CH_2$  и U представляет собой  $-CO_2H$ .

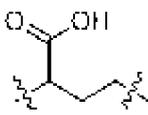


40. Соединение по п.38, где W представляет собой

41. Соединение по п.38, где каждый из  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$  представляет собой  $-L-U$ , где L представляет собой  $CH_2$  и U представляет собой  $-CO_2H$ ; и W представляет собой

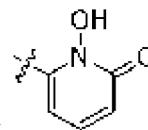


42. Соединение по п.29, где X представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-N(R)-(C=O)-$ , где  $L^1$

представляет собой  и R представляет собой  $-L^3-Z_2-B$ .

43. Соединение по п.42, где  $L^3$  представляет собой  $C_5-C_{20}$  полиэтиленгликоль и  $Z_2$  представляет собой  $-NR'-(C=O)-R''$ , где  $R'$  представляет собой H и  $R''$  представляет собой арилен.

44. Соединение по п.42, где каждый из  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$  представляет собой  $-L-U$ , где L представляет собой  $CH_2$  и U представляет собой  $-CO_2H$ .



45. Соединение по п.42, где W представляет собой

46. Соединение по п.45, где каждый из  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$  представляет собой  $-L-U$ , где L представляет собой  $CH_2$  и U представляет собой  $-CO_2H$ ;  $L^3$  представляет собой  $C_5-C_{20}$  полиэтиленгликоль; и  $Z_2$  представляет собой  $-NR'-(C=O)-R''$ , где  $R'$  представляет собой H и  $R''$  представляет собой арилен.

47. Соединение по п.42, где B представляет собой терапевтический фрагмент или нацеливающий фрагмент.

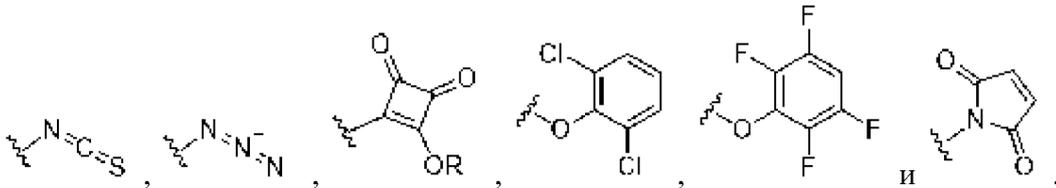
48. Соединение по п.47, где терапевтический фрагмент или нацеливающий фрагмент представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

49. Соединение по п.48, где антителио или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает инсулиноподобный рецептор фактора роста 1 (IGF-1R).

50. Соединение по п.42, где В представляет собой поперечно-связывающую группу, выбранную из группы, включающей аминокреактивную поперечно-связывающую группу, метионинреактивную поперечно-связывающую группу и тиолреактивную поперечно-связывающую группу.

51. Соединение по п.50, где поперечно-связывающая группа содержит активированный сложный эфир, имидат, ангидрид, тиол, дисульфид, малеимид, азид, алкин, напряженный алкин, напряженный алкен, галоген, сульфонат, галогенацетил, амин, гидразид, диазирин, фосфин, тетразин, изотиоцианат или оксазиридин, где активированный сложный эфир представляет собой сложный эфир гидроксисукцинимид, сложный эфир 2,3,5,6-тетрафторфенола, сложный эфир 2,6-дихлорфенола или сложный эфир 4-нитрофенола.

52. Соединение по п.51, где поперечно-связывающая группа выбрана из группы, включающей:



53. Соединение по п.29, где соединение включает комплекс металла, который содержит металл, выбранный из группы, включающий Bi, Pb, Y, Mn, Cr, Fe, Co, Zn, Ni, In, Ga, Cu, Re, Sm, лантанид и актинид.

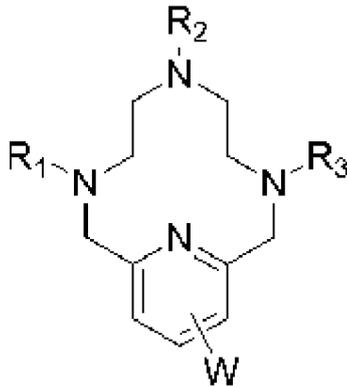
54. Соединение по п.29, где соединение включает комплекс металла, который содержит радионуклид, выбранный из группы, включающей  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{55}\text{Co}$ ,  $^{60}\text{Cu}$ ,  $^{61}\text{Cu}$ ,  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Ga}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{82}\text{Rb}$ ,  $^{86}\text{Y}$ ,  $^{87}\text{Y}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{117\text{m}}\text{Sn}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{52}\text{Mn}$ ,  $^{149}\text{Tb}$ ,  $^{152}\text{Tb}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{199}\text{Au}$ ,  $^{201}\text{Tl}$ ,  $^{203}\text{Pb}$ ,  $^{212}\text{Pb}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{213}\text{Bi}$ ,  $^{225}\text{Ac}$ ,  $^{223}\text{Ra}$  и  $^{227}\text{Th}$ .

55. Соединение по п.54, где радионуклид представляет собой  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{111}\text{In}$  или  $^{225}\text{Ac}$ .

56. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по п.29 и фармацевтически приемлемый носитель.

57. Способ лечения иммунорегуляторной аномалии у нуждающегося в этом субъекта, где способ включает введение указанному субъекту соединения по п.29 в количестве, эффективном для лечения указанной иммунорегуляторной аномалии.

58. Соединение, имеющее структурную формулу (II), представленную ниже, или его комплекс с металлом, или его фармацевтически приемлемая соль:



(II),

где

$R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ , каждый, независимо, представляют собой  $-L-U$  и  $W$  представляет собой  $H$  или  $-L^1-Z_1-L^2-Z_2-V$ ,

где

$L$  представляет собой  $C=O$  или  $-CH(R)-$ , где  $R$  представляет собой  $H$ , необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный гетероалкил или  $-L^1-Z_1-L^2-Z_2-V$ ;

$U$  представляет собой необязательно замещенный арил, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенную карбоновую кислоту или необязательно замещенную фосфоновую кислоту; или  $-L-U$  представляет собой  $-L^1-Z_1-L^2-Z_2-V$ ;

по меньшей мере один из  $R_1-R_3$  содержит  $U$  в виде необязательно замещенного гетероарила;

где

$L^1$  представляет собой связь, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  алкилен или необязательно замещенный  $C_1-C_6$  гетероалкилен;

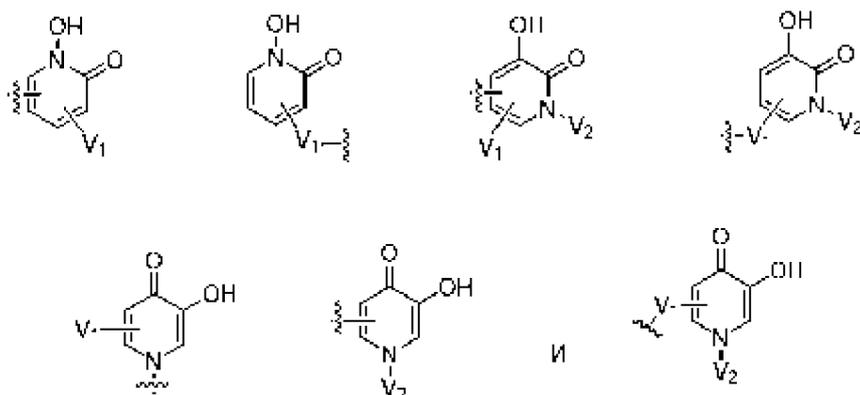
$Z_1$  представляет собой связь,  $C=O(NR^4)$ ,  $C=S(NR^4)$ ,  $OC=O(NR^4)$ ,  $NR^4C=O(O)$ ,  $NR^4C=O(NR^4)$ ,  $-CH_2PhC=O(NR^4)$ ,  $-CH_2Ph(NR^4)C=O$  или  $-CH_2Ph(NH)C=S(NR^4)$ , каждый  $R^4$  независимо представляет собой  $H$ , необязательно замещенный  $C_1-C_6$  алкил, необязательно замещенный  $C_1-C_6$  гетероалкил или необязательно замещенный арил или гетероарил;

$L^2$  представляет собой необязательно замещенный  $C_1-C_{50}$  алкилен или необязательно замещенный  $C_1-C_{50}$  гетероалкилен или  $C_5-C_{20}$  полиэтиленгликоль;

$Z_2$  представляет собой  $C=O$ ,  $-NR^-(C=O)-$  или  $-NR^-(C=O)-R''$ , где  $R'$  представляет собой  $H$  или  $C_1-C_6$  алкил и  $R''$  представляет собой  $C_1-C_{20}$  алкилен,  $C_2-C_{20}$  гетероалкилен или арилен; и

$V$  представляет собой терапевтический фрагмент, нацеливающий фрагмент или поперечно-связывающую группу.

59. Соединение по п.58, где  $U$  представляет собой донорскую группу, способную координироваться с радиометаллом, где донорная группа представляет собой необязательно замещенный гидроксипиридинон, имеющий структуру, выбранную из группы, включающей

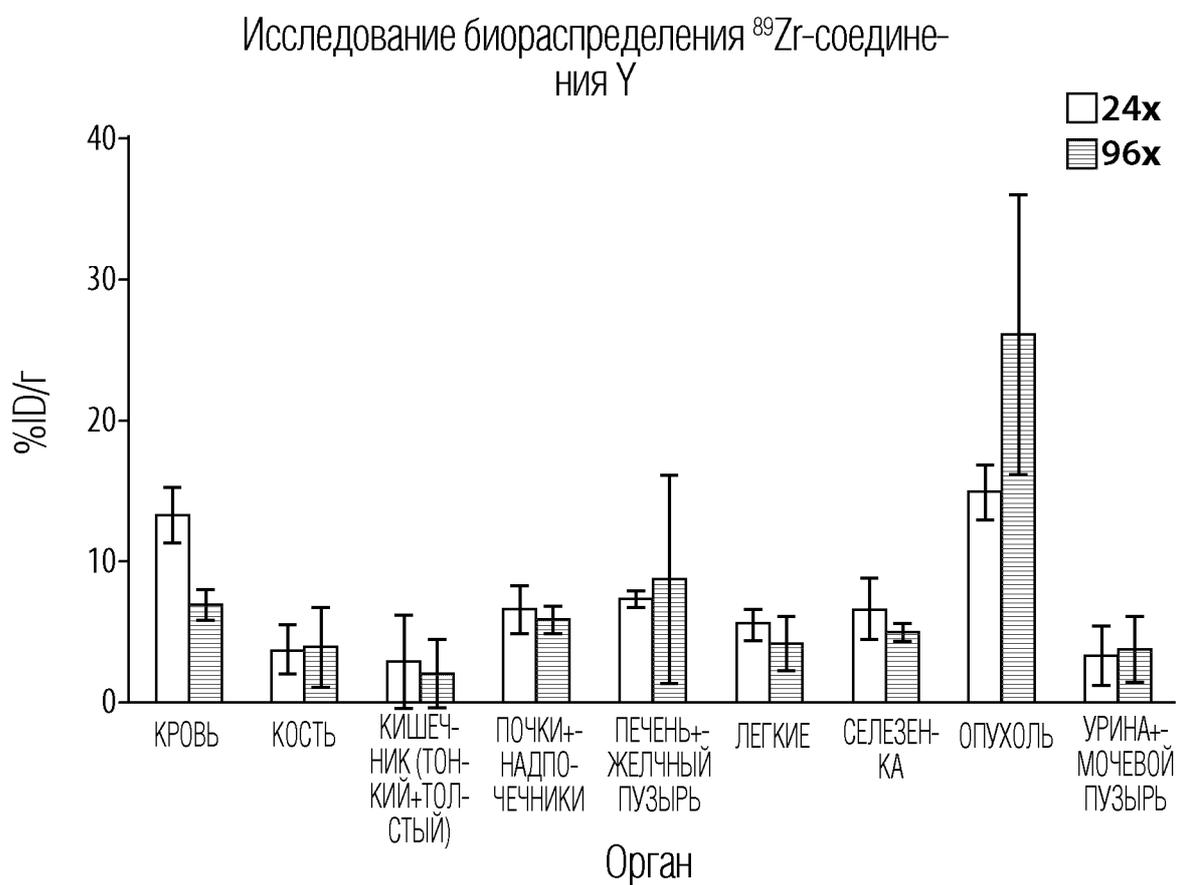


в которой  $V_1$  отсутствует или представляет собой конденсированный арил или гетероарил, конденсированный карбоцикл или гетероцикл, алкил, простой эфир, спирт, кислоту, сложный эфир, амид, фосфонат или сульфонат; и  $V_2$  представляет собой H, алкил или ацил.

60. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по п.58 и фармацевтически приемлемый носитель.

61. Способ лечения иммунорегуляторной аномалии у нуждающегося в этом субъекта, где способ включает введение указанному субъекту соединения по п.58 в количестве, эффективном для лечения указанной иммунорегуляторной аномалии.

По доверенности



ФИГ. 1