(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

- (43) Дата публикации заявки 2023.01.24
- (22) Дата подачи заявки 2021.03.24

(51) Int. Cl. A61K 45/06 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01) A61K 9/127 (2006.01)

- (54) FAP-СПЕЦИФИЧНЫЕ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ И АГЕНТЫ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ, А ТАКЖЕ ВАРИАНТЫ ПРИМЕНЕНИЯ, ИМЕЮЩИЕ ОТНОШЕНИЕ К НИМ
- (31) 62/993,874
- (32) 2020.03.24
- (33) US
- (86) PCT/US2021/023862
- (87) WO 2021/195198 2021.09.30
- (71) Заявитель: ТРАСТИС ОФ ТАФТС КОЛЛЕДЖ (US)
- (72) Изобретатель: Бачовчин Уильям В., Лай Хун-сен, У Вэньгэнь (US)
- (74) Представитель: Нилова М.И. (RU)
- (57) Строма опухоли, на которую приходится значительная часть массы опухоли, является привлекательной мишенью для доставки диагностических и терапевтических соединений. В данном случае основное внимание уделяется субпопуляции стромальных клеток, известной как фибробласты, ассоциированные с раком, которые присутствуют более чем в 90% эпителиальных карцином, включая рак поджелудочной железы, толстой кишки и молочной железы. Фибробласты, ассоциированные с раком, характеризуются высокой экспрессией FAP, которая не обнаруживается в нормальной взрослой ткани, но связана с плохим прогнозом у онкологических пациентов. Настоящее изобретение относится к низкомолекулярным радиофармацевтическим и визуализирующим агентам на основе FAP-специфичного ингибитора.

FAP-специфичные радиофармацевтические препараты и агенты для визуализации, а также варианты применения, имеющие отношение к ним

5 ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 63/993874, поданной 24 марта 2020 года, которая полностью включена в настоящую заявку посредством ссылки.

10 УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

15

20

25

30

Рост и распространение опухоли определяются не только раковыми клетками, но и незлокачественными составляющими злокачественного новообразования, которые входят в понятие "строма". Строма может составлять более 90% массы в опухолях с десмопластической реакцией, например, карциноме молочной железы, толстой кишки и поджелудочной железы. В частности, известно, что субпопуляция фибробластов, называемая фибробластами, ассоциированными с раком, участвует в росте, миграции и прогрессировании опухоли. Таким образом, эти клетки являются привлекательной мишенью для диагностики и противоопухолевой терапии.

Отличительной особенностью фибробластов, ассоциированных с раком, является экспрессия белка активации фибробластов (FAP), мембраносвязанного гликопротеина II типа, принадлежащего к семейству дипептидилпептидазы 4. FAP обладает как дипептидилпептидазной, так и эндопептидазной активностью. Эндопептидазная активность отличает FAP от других членов семейства дипептидилпептидазы 4. Субстраты для эндопептидазной активности, выявленные на данный момент, представляют собой денатурированный коллаген I типа, а1-антитрипсин и несколько нейропептидов. FAP играет роль в процессах нормального развития во время эмбриогенеза и в моделировании тканей. В нормальных взрослых тканях он экспрессируется лишь незначительно или вообще не экспрессируется. Однако его высокая экспрессия отмечается при заживлении ран, артрите, атеросклеротических бляшках, фиброзе и более чем в 90% эпителиальных карцином.

Присутствие FAP в фибробластах, ассоциированных с раком (CAF), во многих эпителиальных опухолях и ассоциация его сверхэкспрессии с плохим

прогнозом у онкологических пациентов позволили сформулировать гипотезу о том, что активность FAP вовлечена в развитие рака, миграцию раковых клеток и распространение рака. Таким образом, адресное применение этого фермента для визуализации и эндорадиотерапии можно рассматривать как перспективную стратегию выявления и лечения злокачественных опухолей.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

5

10

15

20

25

Строма опухоли, на которую приходится значительная часть массы опухоли, является привлекательной мишенью для доставки диагностических и терапевтических соединений. В данном случае основное внимание уделяется субпопуляции стромальных клеток, известной как фибробласты, ассоциированные с раком (CAF), которые присутствуют более чем в 90% эпителиальных карцином, включая рак поджелудочной железы, толстой кишки и молочной железы. Фибробласты, ассоциированные с раком, характеризуются высокой экспрессией FAP, которая не обнаруживается в нормальной взрослой ткани, но связана с плохим прогнозом у онкологических пациентов.

Настоящее изобретение относится к низкомолекулярным радиофармацевтическим и визуализирующим агентам на основе FAP-специфичного ингибитора. В некоторых вариантах реализации FAP-специфичные агенты обладают структурой, представленной в формуле I:

$$R - L \xrightarrow{X} \begin{array}{c} R_1 \\ R_3 \end{array} \begin{array}{c} R_2 \\ R_4 \end{array}$$

Формула І

или представляют собой ее фармацевтически приемлемую соль, где:

R представляет собой радиоактивную группу, хелатирующий агент, флуоресцентную группу, фотоакустическую репортерную молекулу, раманактивную репортерную молекулу, контрастный агент, обнаружимую наночастицу или фермент;

 R_1 представляет собой (C_1 - C_6)-алкил;

 R_2 представляет собой -B(-Y¹)(-Y²) или -CN;

 Y^1 и Y^2 независимо представляют собой -OH или вместе с атомом бора, к которому они присоединены, представляют собой группу, гидролизуемую с образованием борной кислоты, или вместе с атомом бора, к которому они присоединены, образуют 5-8-членное кольцо, гидролизуемое с образованием борной кислоты;

 R_3 представляет собой H или (C_1 - C_6)-алкил;

 R_4 отсутствует или представляет собой один, два или три заместителя, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из (C_1-C_6) -алкила, -OH, $-NH_2$ и атома галогена;

X представляет собой О или S;

5

10

15

20

25

30

L представляет собой связь или линкер.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединение согласно формуле I содержит один или более радиоактивных изотопов.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединение согласно формуле I содержит один или более терапевтических радиоактивных изотопов.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединение согласно формуле I содержит один или более диагностических радиоактивных изотопов.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации R представляет собой радиоактивную группу.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации R представляет собой хелатирующий агент.

В дополнительных предпочтительных вариантах реализации R представляет собой хелатирующий агент, и соединение согласно формуле I содержит один или более радиоактивных изотопов. В некоторых аспектах таких вариантов реализации указанные один или более радиоактивных изотопов могут представлять собой терапевтические радиоактивные изотопы. В других некоторых аспектах таких вариантов реализации указанные один или более радиоактивных изотопов могут представлять собой диагностические радиоактивные изотопы.

В дополнительных предпочтительных вариантах реализации R представляет собой хелатирующий агент, содержащий один или более радиоактивных изотопов в составе комплекса. В некоторых аспектах таких вариантов реализации указанные один или более радиоактивных изотопов могут представлять собой терапевтические

радиоактивные изотопы. В других некоторых аспектах таких вариантов реализации указанные один или более радиоактивных изотопов могут представлять собой диагностические радиоактивные изотопы.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации R_1 представляет собой - CH_3 или - CH_2CH_3 , и в еще более предпочтительных случаях представляет собой - CH_3 .

В некоторых предпочтительных вариантах реализации R_2 представляет собой $-B(-Y^1)(-Y^2)$, и в еще более предпочтительных случаях представляет собой $-B(OH)_2$.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации R_3 представляет собой 10 $\,$ H.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации R4 отсутствует.

 ${\bf B}$ некоторых предпочтительных вариантах реализации X представляет собой ${\bf O}.$

В некоторых предпочтительных вариантах реализации указанное соединение представлено ниже в формуле II или формуле III:

Формула II

Формула ІІІ

или представляет собой их фармацевтически приемлемую соль, где R и L соответствуют определениям, приведенным выше.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединение согласно формулам II или III содержит один или более радиоактивных изотопов.

- 4 -

20

25

5

15

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединение согласно формулам I или III содержит один или более терапевтических радиоактивных изотопов.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединение согласно формулам II или III содержит один или более диагностических радиоактивных изотопов.

5

10

15

20

25

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединений согласно формулам II или III R представляет собой радиоактивную группу.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединений согласно формулам II или III R представляет собой хелатирующий агент.

В дополнительных предпочтительных вариантах реализации соединений согласно формулам II или III R представляет собой хелатирующий агент, а соединение согласно формуле I содержит радиоактивный изотоп. В некоторых аспектах таких вариантов реализации указанные один или более радиоактивных изотопов могут представлять собой терапевтические радиоактивные изотопы. В других некоторых аспектах таких вариантов реализации указанные один или более радиоактивных изотопов могут представлять собой диагностические радиоактивные изотопы.

В дополнительных предпочтительных вариантах реализации R представляет собой хелатирующий агент, содержащий один или более радиоактивных изотопов в составе комплекса. В некоторых аспектах таких вариантов реализации указанные один или более радиоактивных изотопов могут представлять собой терапевтические радиоактивные изотопы. В других некоторых аспектах таких вариантов реализации указанные один или более радиоактивных изотопов могут представлять собой диагностические радиоактивные изотопы.

В определенных вариантах реализации FAP-специфичные агенты содержат две или более FAP-ингибиторные группы, ковалентно связанные с радиофармацевтическими агентами или агентами для визуализации, например, обладающими структурой, представленной в формуле IV:

$$\begin{bmatrix} X & R_1 \\ \hline & & \\ &$$

Формула IV

или представляют собой ее фармацевтически приемлемую соль, где:

 $R,\ R_1,\ R_2,\ R_3,\ R_4,\ X$ и L соответствуют определениям, приведенным выше; и

п представляет собой целое число от 2 до 6.

5

10

15

20

25

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединение согласно формуле IV содержит один или более радиоактивных изотопов.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединение согласно формуле IV содержит один или более терапевтических радиоактивных изотопов.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединение согласно формуле IV содержит один или более диагностических радиоактивных изотопов.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединений согласно формуле IV R представляет собой радиоактивную группу.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединений согласно формуле IV R представляет собой хелатирующий агент.

В дополнительных предпочтительных вариантах реализации соединений согласно формуле IV R представляет собой хелатирующий агент, и соединение согласно формуле IV содержит радиоактивный изотоп. В некоторых аспектах таких вариантов реализации один или более радионуклидов могут представлять собой терапевтические радиоактивные изотопы. В других некоторых аспектах таких вариантов реализации указанные один или более радиоактивных изотопов могут представлять собой диагностические радиоактивные изотопы.

В дополнительных предпочтительных вариантах реализации R представляет собой хелатирующий агент, содержащий один или более комплексных радионуклидов. В некоторых аспектах таких вариантов реализации один или более радионуклидов могут представлять собой терапевтические радионуклеотиды. В

других некоторых аспектах таких вариантов реализации один или более радионуклидов могут представлять собой диагностические радионуклиды.

В некоторых вариантах реализации FAP-специфичные агенты включают группу, изменяющую фармакокинетику и/или биораспределение указанной молекулы, например, период полувыведения молекулы из сыворотки и/или распределение молекулы в опухоли. Такие FAP-специфичные агенты с модифицированной ФК/БР могут обладать структурой, представленной в формуле V:

5

10

15

20

25

$$\begin{bmatrix}
X & R_1 \\
R & R_3 & O
\end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix}
R_1 & R_2 \\
R & R_3 & O
\end{bmatrix}$$

Формула V

или представлять собой ее фармацевтически приемлемую соль, где:

 $R,\ R_1,\ R_2,\ R_3,\ R_4,\ X$ и L соответствуют определениям, приведенным выше;

 R_5 представляет группу, модифицирующую фармакокинетику и/или биораспределение молекулы; и

п представляет собой целое число от 1 до 6.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединение согласно формуле V содержит один или более радиоактивных изотопов.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединение согласно формуле V содержит один или более терапевтических радиоактивных изотопов.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединение согласно формуле V содержит один или более диагностических радиоактивных изотопов.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединений согласно формуле V R представляет собой радиоактивную группу.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации соединений согласно формуле V R представляет собой хелатирующий агент.

В дополнительных предпочтительных вариантах реализации соединений согласно формуле V R представляет собой хелатирующий агент, а соединение согласно формуле I содержит радиоактивный изотоп. В некоторых аспектах таких вариантов реализации указанные один или более радиоактивных изотопов могут представлять собой терапевтические радиоактивные изотопы. В других некоторых аспектах таких вариантов реализации указанные один или более радиоактивных изотопов могут представлять собой диагностические радиоактивные изотопы.

5

10

15

20

25

30

В дополнительных предпочтительных вариантах реализации R представляет собой хелатирующий агент, содержащий один или более радиоактивных изотопов в составе комплекса. В некоторых аспектах таких вариантов реализации один или более радионуклидов могут представлять собой терапевтические радиоактивные изотопы. В других некоторых аспектах таких вариантов реализации один или более радионуклидов могут представлять собой диагностические радиоактивные изотопы.

В настоящем изобретении также предложены фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение согласно любой из формул I-V и, необязательно, фармацевтически приемлемый носитель и/или вспомогательное вещество. В некоторых вариантах реализации фармацевтическая композиция предназначена для применения при диагностике или лечении заболевания, характеризующегося сверхэкспрессией белка активации фибробластов (FAP) у животного, предпочтительно субъекта-человека.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предложен набор, содержащий или состоящий из по меньшей мере одного соединения согласно любой из формул I-V, и инструкций по диагностике или лечению заболевания.

И в еще одном аспекте настоящего изобретения предложены способы диагностики, визуализации или снижения сверхэкспрессии FAP в ткани животного (предпочтительно пациента-человека), включающие введение указанному животному по меньшей мере одного соединения согласно любой из формул I-V.

Кроме того, предложены способы лечения субъекта, страдающего от опухоли или рака, которые могут включать введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества одного или более соединений, описанных в настоящем документе, включая одно или более соединений согласно любой из формул I-V. Субъекты, подлежащие лечению, могут включать пациента-человека, которому

поставлен диагноз "рак", например, опухоль (например, солидная опухоль), включая субъектов с диагнозом рака предстательной железы, отобранных для лечения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

На фигуре 1 показаны кривые роста опухолей для ¹⁷⁷Lu-6522.

На фигуре 2 показаны кривые выживаемости для ¹⁷⁷Lu-6522.

На фигуре 3 показано накопление и удержание 68 Ga-6522 с течением времени после введения дозы.

10

5

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Опухолевые образования состоят из раковых клеток, а также сосудистых структур, воспалительных клеток, фибробластов и коллагена, совместно образующих строму опухоли, которая может составлять до 90% массы при онкологических заболеваниях с высокой десмопластичностью. Раковые клетки индуцируют активацию фибробластов через ТБР. САГ поддерживают рост и инвазию рака. Они способствуют ремоделированию внеклеточного матрикса (коллагенолизу) и усиливают инвазивность и ангиогенез, а также за счет секреции факторов роста и цитокинов могут вызывать эпителиально-мезенхимальный переход. САГ также участвуют в иммунологических взаимодействиях между опухолью и организмом.

FAP-положительные CAF обнаруживаются более чем в 90% случаев эпителиального рака, таким образом представляя собой потенциальную мишень при всех видах рака. Адресное воздействие на FAP с целью истощения стромальных CAF может привести к нарушению функций, поддерживающих злокачественные новообразования, и ингибировать рост рака. Кроме того, за счет преодоления стромального барьера можно повысить эффективность других фармакологических, иммунологических, лучевых или клеточных системных способов лечения.

Считается, что при адресном воздействии на САF с помощью радиофармацевтического средства против FAP существует несколько вариантов противоопухолевого действия, но в основном оно основано на повреждении ДНК в опухолевых клетках ионизирующим излучением, локально испускаемым из соседних САF, подвергающихся адресной терапия. FAP-специфичная лучевая терапия может доставлять источник ионизирующего излучения непосредственно в САF, а также в раковые клетки за счет взаимного влияния. Объединение α - и β - излучающих изотопов может улучшить эти двойные противоопухолевые эффекты за счет ближнего действия α -излучения на САF и действия β -излучения со средних и дальних дистанций на раковые клетки.

30 Определения

5

10

15

20

25

Ниже приведены некоторые определения терминов, часто используемых в настоящем описании. Эти термины в каждом случае их использования в остальной части описания соответственно имеют определенное значение и предпочтительные

значения. В контексте настоящего описания и прилагаемой формулы изобретения формы единственного числа включают множественное число, если содержание явно не указывает иное. В дальнейшем представлены определения терминов: алкил, гетероалкил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил, аралкил, гетероарил, гетероаралкил, алкенил и алкинил. Эти термины в каждом случае их использования в остальной части описания соответственно имеют определенное значение и предпочтительные значения.

5

10

15

20

25

30

В настоящем документе термин «ОФЭКТ» представляет собой сокращение, означающее "однофотонная эмиссионная компьютерная томография".

В настоящем документе термин «ПЭТ» представляет собой сокращение, означающее "позитронная эмиссионная томография".

В настоящем документе термин «КТ» представляет собой сокращение, означающее "компьютерная томография".

В настоящем документе термин «МРТ» представляет собой сокращение, означающее "магнитно-резонансная томография".

В настоящем документе термин «SIRT» представляет собой сокращение, означающее "селективная внутренняя лучевая терапия".

В настоящем документе термин «ЭДТА» представляет собой сокращение, означающее "этилендиаминтетрауксусная кислота".

В настоящем документе термин "DOTA" представляет собой сокращение, означающее "1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-N,N',N"',N"'-тетрауксусная кислота".

В настоящем документе термин "DOTAGA" представляет собой сокращение, означающее "1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-(глутаровая кислота)-4,7,10-триуксусная кислота".

В настоящем документе термин "DTPA" представляет собой сокращение, означающее "диэтилентриаминпентауксусная кислота".

В настоящем документе термин «хелатирующий агент» или «хелатор» относится к полидентатному лиганду, образующему две или более отдельных координатных связей с одним центральным атомом, в частности, с радиоактивным изотопом.

В настоящем документе значение термина «терапевтически эффективное количество» включает нетоксичное, но достаточное количество соединения или

композиции для применения в настоящем изобретении с целью обеспечения желательного терапевтического эффекта. Точное требуемое количество варьирует от субъекта к субъекту в зависимости от таких факторов, как вид животного, подлежащего лечению, возраст, масса тела и общее состояние субъекта, сопутствующие заболевания, тяжесть состояния, подлежащего лечению, конкретный вводимый агент, способ введения и т.п. Таким образом, для любого конкретного случая соответствующее "эффективное количество" может определить специалист в данной области техники с использованием обычных способов.

5

10

15

20

25

30

Термин «алкил» относится к насыщенной прямой или разветвленной углеродной цепи. Указанная цепь предпочтительно содержит от 1 до 10, т.е. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 атомов углерода, например, метил, этил, метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, трет-бутил, пентил, гексил, пентил или октил. Алкильные группы необязательно являются замещенными.

Термин «гетероалкил» относится к насыщенной прямой или разветвленной углеродной цепи. Указанная цепь предпочтительно содержит от 1 до 9, т.е. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 атомов углерода, например, метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, гексил, пентил, октил, прерывающиеся одинаковыми или различными гетероатомами один или более, например, 1, 2, 3, 4, 5 раз. Указанные гетероатомы предпочтительно выбраны из О, S и N, например, -О-СН₃, -S-CH₃, -CH₂-O-CH₃, -CH₂-CH₂-CH₃, -CH₂-S-CH₃, -CH₂-S-CH₃, -CH₂-CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-S-CH₃, -CH₂-CH₂-CH₃, и т.д. Гетероалкильные группы необязательно являются замещенными.

Если не указано иное, термины «циклоалкил» и «гетероциклоалкил» сами по себе или в комбинации с другими терминами представляют циклические варианты «алкила» и «гетероалкила», соответственно, предпочтительно содержащие 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 атомов, образующих кольцо, например, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил и т.д. Термины "циклоалкил" и "гетероциклоалкил" также подразумевают включение ИΧ бициклических, И трициклических полициклических версий. Термин "гетероциклоалкил" предпочтительно относится к насыщенному кольцу, содержащему пять атомов, по меньшей мере один из которых представляет собой атом N, O или S, и необязательно содержащему один дополнительный атом О или один дополнительный атом N; насыщенному кольцу, содержащему шесть членов, по меньшей мере один из

которых представляет собой атом N, O или S, и необязательно содержащему один дополнительный атом О или один дополнительный атом N или два дополнительных атома N; или насыщенному бициклическому кольцу, содержащему девять или десять членов, по меньшей мере один из которых представляет собой атом N, O или S, и необязательно содержащему один, два или три дополнительных атома N. "Циклоалкильные" и "гетероциклоалкильные" группы необязательно являются замещенными. Кроме того, в гетероциклоалкиле гетероатом может занимать положение, по которому гетероцикл присоединен к остальной части молекулы. Примеры циклоалкила включают циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, 1-циклогексенил, 3-циклогексенил, циклогептил, спиро[3,3] гептил, спиро[3,4]октил, спиро[4,3]октил, спиро[3,5]нонил, спиро[5,3]нонил, спиро[3,6]децил, спиро[6,3] децил, спиро[4,5] децил, спиро[5,4] децил, бицикло[2.2.1]гептил, бицикло[2.2.2]октил, адамантил И Т.П. Примеры гетероциклоалкила включают 1-(1,2,5,6-тетрагидропиридил), 1-пиперидинил, 2пиперидинил, 3-пиперидинил, 4-морфолинил, 3-морфолинил, 1,8диазоспиро[4,5]децил, 1,7-диазоспиро[4,5]децил, 1,6-диазоспиро[4,5]децил, 2,8диазоспиро[4,5]децил, 2,7-диазоспиро[4,5]децил, 2,6-диазоспиро[4,5]децил, 1,8диазоспиро[5,4]децил, 1,7-диазоспиротетрагидрофуран-3-ил, тетрагидротиен-2-ил, тетрагидротиен-3-ил, 1-пиперазинил, 2-пиперазинил и т.п.

5

10

15

20

25

30

Термин «арил» предпочтительно относится к ароматическому моноциклическому кольцу, содержащему 6 атомов углерода, ароматической бициклической кольцевой системе, содержащей 10 атомов углерода, или ароматической трициклической кольцевой системе, содержащей 14 атомов углерода. Примерами являются фенил, нафтил или антраценил. Арильная группа необязательно является замещенной.

Термин «аралкил» относится к алкильному фрагменту, который замещен арилом, где алкил и арил имеют значения, указанные выше. Примером является бензильный радикал. В этом контексте алкильная цепь предпочтительно содержит от 1 до 8 атомов углерода, т.е. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8, например, метил, этилметил, этил, пропил, изо-пропил, бутил, изо-бутил, втор-бутенил, трет-бутил, пентил, гексил, пентил, октил. Аралкильная группа необязательно замещена по алкильному и/или арильному фрагменту группы.

Термин "гетероарил" предпочтительно относится к пяти- или шестичленному ароматическому моноциклическому кольцу, где по меньшей мере один из атомов углерода заменен на 1, 2, 3 или 4 (для пятичленного кольца) или 1, 2, 3, 4 или 5 (для шестичленного кольца) одних и тех же или различных гетероатомов, предпочтительно выбранных из O, N и S; ароматической бициклической кольцевой системе, где 1, 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода из 8, 9, 10, 11 или 12 атомов углерода заменены на одни и те же или различные гетероатомы, предпочтительно выбранные из O, N и S; или ароматической трициклической кольцевой системе, где 1, 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода из 13, 14, 15 или 16 атомов углерода заменены на одни и те же или различные гетероатомы, предпочтительно выбранные из О, N и S. Примерами являются оксазолил, изоксазолил, 1,2,5-оксадиазолил, 1,2,3-оксадиазолил, пирролил, имидазолил, пиразолил, 1,2,3-триазолил, тиазолил, изотиазолил, 1,2,3-тиадиазолил, 1,2,5-тиадиазолил, пиридинил, пиримидинил, пиразинил, 1,2,3-триазинил, 1,2,4триазинил, 1,3,5-триазинил, 1-бензофуранил, 2-бензофуранил, индоил, изоиндоил, бензотиофенил, 2-бензотиофенил, 1Н-индазолил, бензимидазолил, бензоксазолил, индоксазинил, 2,1-бензозоксазоил, бензотиазолил, 1,2-бензизотиазолил, бензизотиазолил, бензотриазолил, хинолинил, изохинолинил, хиноксалинил, хиназолинил, хинолинил, 1,2,3-бензотриазинил или 1,2,4-бензотриазинил.

5

10

15

20

25

30

Термин "гетероаралкил" относится к алкильному фрагменту, который замещен гетероарилом, где алкил и гетероарил имеют значения, указанные выше. Примером является 2-алкилпиридинил, 3-алкилпиридинил или 2-метилпиридинил. В этом контексте алкильная цепь предпочтительно содержит от 1 до 8 атомов углерода, т.е. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8, например, метил, этилметил, этил, пропил, изопропил, бутил, изо-бутил, втор-бутенил, трет-бутил, пентил, гексил, пентил, октил.

Гетероаралкильная группа необязательно замещена по алкильному и/или гетероарильному фрагменту группы.

Термины «алкенил» и «циклоалкенил» относятся к олефиновым ненасыщенным атомам углерода, составляющим цепи или кольца с одной или более двойными связями. Примерами являются пропенил и циклогексенил. Алкенильная цепь предпочтительно содержит от 2 до 8, т.е. 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода, например, этенил, 1-пропенил, 2-пропенил, изопропенил, 1-бутенил, 2-бутенил, 3-бутенил, изобутенил, втор-бутенил, 1-пентенил, 2-пентенил, 3-пентенил, 4-пентенил, гексенил, пентенил, октенил. Циклоалкенильное кольцо предпочтительно

содержит от 3 до 8, т.е. 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода, например, 1циклопропенил, 2-циклопропенил, 1-циклобутенил, 2-циклобутенил, 1циклопентенил, 2-циклопентенил, 3-циклопентенил, циклогексенил, циклопентенил, циклооктенил.

Термин «алкинил» относится к ненасыщенным атомам углерода, составляющим цепи или кольца с одной или более тройными связями. Примером является пропаргиловый радикал. Алкинильная цепь предпочтительно содержит от 2 до 8, т.е. 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода, например, этинил, 1-пропинил, 2-пропинил, 1-бутинил, 2-бутинил, 3-бутинил, 1-пентинил, 2-пентинил, 3-пентинил, 4-пентинил, гексинил, пентинил, октинил.

5

10

15

20

25

В одном варианте реализации атомы углерода или атомы водорода в алкильных, гетероалкильных, циклоалкильных, арильных, аралкильных, алкинильных радикалах могут быть независимо друг от друга замещены одним или более элементами, выбранными из группы, состоящей из O, S, N, или группами, содержащими один или более элементов, выбранными из группы, состоящей из O, S, N.

Варианты реализации включают алкокси-, циклоалкокси-, арокси-, аралкокси-, алкенилокси-, циклоалкенилокси-, алкинилокси-, алкилтио-, циклоалкилтио-, арилтио-, аралкилтио-, алкенилтио-, циклоалкенилтио-, алкинилтио-, алкиламино-, циклоалкиламино-, ариламино-, аралкиламино-, алкениламино-, циклоалкениламино-, алкиниламино-радикалы.

Другие варианты реализации включают гидроксиалкильные, гидроксициклоалкильные, гидроксиарильные, гидроксиаралкильные, гидроксиалкенильные, гидроксициклоалкенильные, гидроксиалкинильные, меркаптоалкильные, меркаптоциклоалкильные, меркаптоарильные, меркаптоаралкильные, меркаптоалкенильные, меркаптоциклоалкенильные, меркаптоалкинильные, аминоалкильные, аминоциклоалкильные, аминоарильные, аминоаралкильные, аминоалкенильные, аминоциклоалкенильные, аминоалкинильные радикалы.

30 В еще одном варианте реализации атомы водорода в алкильных, гетероалкильных, циклоалкильных, арильных, аралкильных, алкенильных, циклоалкенильных, алкинильных радикалах могут быть замещены независимо друг

от друга одним или более атомами галогена. Одним из радикалов является трифторметильный радикал.

Если два или более радикалов, или два или более остатков могут быть выбраны независимо друг от друга, то термин "независимо" означает, что радикалы или остатки могут быть одинаковыми или различными.

5

10

15

20

25

30

В настоящем документе формулировка, определяющая пределы диапазона длины, например, «от 1 до 6», означает любое целое число от 1 до 6, т.е. 1, 2, 3, 4, 5 и 6. Другими словами, подразумевается, что любой диапазон, заданный двумя целыми числами, упомянутыми в явном виде, содержит и описывает любое целое число, задающее указанные пределы, и любое целое число, содержащееся в указанном диапазоне.

В настоящем документе термин «гало» относится к остатку галогена, выбранному из группы, состоящей из F, Br, I и Cl. Галоген предпочтительно представляет собой F.

В настоящем документе термин «линкер» относится к любому химически подходящему линкеру. Линкер предпочтительно не расщепляется или лишь медленно расщепляется в физиологических условиях. Таким образом, линкер предпочтительно не содержит последовательностей распознавания протеаз или разлагающих структур распознавания других ферментов. Поскольку предпочтительным является системное введение соединений согласно настоящему изобретению с целью обеспечения широкого доступа ко всем компартментам организма и последующее обогащение соединений согласно настоящему изобретению, независимо от местонахождения опухоли в организме, линкер предпочтительно выбирать таким образом, чтобы он не расщеплялся или лишь медленно расщеплялся в крови. Расщепление считается медленным, если через 2 часа после введения соединения пациенту-человеку расщепляются менее 50% молекул линкера. Подходящие линкеры, например, содержат или состоят из необязательно замещенного алкила, гетероалкила, циклоалкила, циклогетероалкила, гетероарила, аралкила, гетероаралила, алкенила, гетероалкенила, циклоалкенила, циклогетероалкенила, алкинила, сульфонила, аминов, простых эфиров, тиоэфиров, фосфинов, фосфорамидатов, карбоксамидов, сложных эфиров, имидоэфиров, амидинов, тиоэфиров, сульфонамидов, 3-тиопирролидин-2,5-диона, карбаматов, производных мочевины, производных гуанидина, производных

тиомочевины, дисульфидов, оксимов, гидразинов, гидразидов, гидразонов, диазасвязей, триазолов, триазолинов, тетразинов, комплексов платины и аминокислот или их комбинаций. Линкер предпочтительно содержит или состоит из 1,4-пиперазина, 1,3-пропана и фенольного эфира или их комбинаций.

Выражение «необязательно замещенный» относится к группе, в которой один, два, три или более атомов водорода могут быть независимо друг от друга заменены соответствующими заместителями.

5

10

15

20

25

30

В настоящем документе термин «аминокислота» относится к любой органической кислоте, содержащей один или более аминных заместителей, например, α-, β- или γ-аминопроизводным алифатических карбоновых кислот.

Термин «обычная аминокислота» относится к двадцати встречающимся в природе аминокислотам и охватывает все их стереомерные изоформы, т.е. D, L-, D-и L-аминокислоты.

В настоящем документе термин «N-содержащий ароматический или неароматический моно- или бициклический гетероцикл» обозначает циклическое насыщенное или ненасыщенное углеводородное соединение, содержащее по меньшей мере один атом азота в качестве компонента циклической цепи.

В настоящем документе термин «радиоактивная группа» относится к молекулярному агрегату, несущему радиоактивный нуклид. Нуклид связан ковалентными либо координатными связями, сохраняющими стабильными в физиологических условиях. Примеры радиоактивных групп включают [1311]-3-иодбензойную кислоту или 68GaDOTA.

В настоящем документе «флуоресцентный изотоп» испускает электромагнитное излучение после возбуждения электромагнитным излучением с меньшей длиной волны.

В настоящем документе «радиоизотоп» или «радиоактивный изотоп» представляет собой радиоактивный изотоп элемента (включенного в термин «радионуклид»), испускающего α-, β- или γ-излучение. Примеры радиоактивных изотопов обсуждаются ниже и включают, например, ¹⁸F, ⁴³K, ⁴⁷Sc, ⁵¹Cr, ⁵⁷Co, ⁵⁸Co, ⁵⁹Fe, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ⁷¹Ge, ⁷²As, ⁷²Se, ⁷⁵Br, ⁷⁶Br, ⁷⁷As, ⁷⁷Br, ⁸¹Rb, ⁸⁸Y, ⁹⁰Y, ⁹⁷Ru, ^{99m}Tc, ¹⁰⁰Pd, ^{101m}Rh, ¹⁰³Pb, ¹⁰⁵Rh, ¹⁰⁹Pd, ¹¹¹Ag, ¹¹¹In, ¹¹³In, ¹¹⁹Sb ¹²¹Sn, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹²⁷Cs, ¹²⁸Ba, ¹²⁹Cs, ¹³¹Cs, ¹³¹I, ¹³⁹La, ¹⁴⁰La, ¹⁴²Pr, ¹⁴³Pr, ¹⁴⁹Pm, ¹⁵¹Eu, ¹⁵³Eu, ¹⁵³Sm, ¹⁵⁹Gr, ¹⁶¹Tb, ¹⁶⁵Dy, ¹⁶⁶Ho, ¹⁶⁹Eu, ¹⁷⁵Yb, ¹⁷⁷Lu, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁸⁹Re, ¹⁹¹Os, ¹⁹³Pt, ¹⁹⁴Ir, ¹⁹⁷Hg, ¹⁹⁸Au, ¹⁹⁹Ag,

¹⁹⁹Au, ²⁰¹Tl, ²⁰³Pb, ²¹¹At, ²¹²Bi, ²¹²Pb, ²¹³Bi, ²²⁵Ac, ²²⁷Th, Sc-44, Sc-47, As-77, In-110, Tb-152, Tb-149, Y-86, Sr-83, Sr-89, Zr-89 и Dy-166.

Термин «радиоактивное лекарственное средство» используется в контексте настоящего изобретения для обозначения биологически активного соединения, модифицированного радиоизотопом. Для доставки источника радиоактивного излучения в непосредственную близость к ДНК в особенности можно применять интеркалирующие вещества (например, производное Hoechst-33258, несущее ¹³¹I).

5

10

15

20

25

30

Термины «хелатирующий агент» или «хелат» в контексте настоящего изобретения используются взаимозаменяемо и относятся к веществу, часто органическому, и часто представляющему собой основание Льюиса, содержащему две или более неразделенные пары электронов, доступных для донации иону металла. Ион металла обычно координирован двумя или более электронными парами по отношению к хелатирующему агенту. Термины «бидентатный хелатирующий агент», «тридентатный хелатирующий агент» и «тетрадентатный хелатирующий агент» относятся к хелатирующим агентам, содержащим, соответственно, две, три и четыре электронные пары, легко доступные для одновременного донации иону металла, координируемого хелатирующим агентом. Как правило, электронные пары хелатирующего агента образуют координатные связи с одним ионом металла; однако в некоторых примерах хелатирующий агент может образовывать координатные связи с более чем одним ионом металла, при этом возможны различные режимы связывания.

Термин «флуоресцентный краситель» (также назваемый в настоящем документе «флуоресцентной группой», «флуорофором» или «флуорохромом») используется в контексте настоящего изобретения для обозначения соединения, испускающего видимое или инфракрасное излучение после возбуждения электромагнитным излучением, например, с более короткой и подходящей длиной волны. Специалист в данной области должен понимать, что у каждого флуоресцентного красителя есть заданная длина волны возбуждения. Данный термин включает все флуоресцентные группы. Конкретные примеры флуоресцентных групп, приведенные в настоящем документе, являются иллюстративными и не предназначены для ограничения флуоресцентных групп для применения с молекулами, обеспечивающими адресное воздействие и описанными в настоящем документе.

Термин «контрастный агент» используется в контексте настоящего изобретения для обозначения соединения, увеличивающего контрастность структур или жидкостей при медицинской визуализации. Усиление достигается путем поглощения электромагнитного излучения или изменения электромагнитных полей.

5

10

15

20

25

30

В настоящем документе термин «парамагнитный» относится к парамагнетизму, индуцированному неспаренными электронами в среде. Парамагнитное вещество индуцирует магнитное поле при приложении внешнего магнитного поля. В отличие от диамагнетизма направление наведенного поля совпадает с таковым у внешнего поля, а в отличие от ферромагнетизма, указанное поле не поддерживается при отсутствии внешнего поля.

В настоящем документе термин «наночастица» обозначает частицы, предпочтительно сферической формы, диаметр которых составляет от 1 до 100 нанометров. В зависимости от состава, наночастицы могут обладать магнитными, оптическими или физико-химическими качествами, поддающимися оценке. Для многих типов наночастиц возможна дополнительная модификация поверхности. Термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к соли соединения согласно настоящему изобретению. Подходящие фармацевтически приемлемые соли соединения согласно настоящему изобретению включают соли присоединения кислоты, которые могут, например, быть образованы путем смешивания раствора холина или его производного с раствором фармацевтически приемлемой кислоты, например, соляной кислоты, серной кислоты, фумаровой кислоты, малеиновой кислоты, янтарной кислоты, уксусной кислоты, бензойной кислоты, лимонной кислоты, винной кислоты, угольной кислоты или фосфорной кислоты. Кроме того, если соединение по изобретению несет кислотную группу, его подходящие фармацевтически приемлемые соли могут включать соли щелочных металлов (например, соли натрия или калия); соли щелочноземельных металлов (например, соли кальция или магния); и соли, образованные подходящими органическими лигандами (например, катионами аммония, четвертичными аммониевыми и аминными катионами, образованными с использованием контранионов, например, галогенида, гидроксида, карбоксилата, сульфата, фосфата, нитрата, алкилсульфоната и арилсульфоната).

Типичные примеры фармацевтически приемлемых солей включают: ацетат, адипинат, альгинат, аскорбат, аспартат, бензолсульфонат, бензоат, бикарбонат,

бисульфат, битартрат, борат, бромид, бутират, эдетат кальция, камфорат, камфорсульфонат, карбонат, камзилат, хлорид, цитрат, клавуланат, циклопентанпропионат, диглюконат, дигидрохлорид, додецилсульфат, эдетат, эдизилат, эстолат, эзилат, этансульфонат, формиат, фумарат, глюцептат, глицерофосфат, глюкогептонат, глюконат, глутамат, гликолиларсанилат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, гексилрезорцинат, гидрабамин, гидробромид, гидрохлорид, гидроиодид, 2-гидроксиэтансульфонат, гидроксинафтоат, иодид, изотионат, лактат, лактобионат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, малонат, манделат, мезилат, метансульфонат, метилсульфат, мукат, нафталинсульфонат, напзилат, никотинат, нитрат, N-метилглюкаминовая соль аммония, олеат, оксалат, памоат (эмбонат), пальмитат, пантотенат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат/дифосфат, пикрат, пивалат, полигалактуронат, пропионат, салицилат, стеарат, сульфат, субацетат, сукцинат, таннат, тартрат, теоклат, тозилат, триэтиодид, ундеканоат, валерат и т.п., но не ограничиваются ими (см., например, Berge, S. M., et al, "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19). Некоторые конкретные соединения согласно настоящему изобретению содержат как основные, так и кислотные функциональные группы, которые позволяют превращать указанные соединения в соли присоединения основания или кислоты.

5

10

15

20

25

30

Нейтральные формы соединений можно регенерировать путем приведения соли в контакт с основанием или кислотой и выделения исходного соединения обычным способом. Исходная форма соединения отличается от различных солевых форм определенными физическими свойствами, например, растворимостью в полярных растворителях, но в иных отношениях соли эквивалентны исходной форме соединения для целей настоящего изобретения.

В дополнение к солевым формам в настоящем изобретении предложены соединения, находящиеся в форме пролекарства. Пролекарства соединений, описанных в настоящем документе, представляют собой соединения, которые легко претерпевают химические изменения в физиологических условиях с получением соединения согласно формуле (I). Пролекарство представляет собой активное или неактивное соединение, химически модифицируемое посредством физиологического действия in vivo, например, гидролиза, метаболизма и т.п., с получением соединения согласно настоящему изобретению после введения

пролекарства пациенту. Кроме того, пролекарства можно преобразовывать в соединения согласно настоящему изобретению химическими или биохимическими способами в среде ех vivo. Например, пролекарства могут медленно преобразовываться в соединения согласно настоящему изобретению при помещении в резервуар трансдермального пластыря с подходящим ферментом. Пригодность и способы, используемые для получения и применения пролекарств, хорошо известны специалистам в данной области техники. Общее обсуждение пролекарств, включая сложные эфиры, см. в источниках Svensson and Tunek Drug Metabolism Reviews 16.5 (1988) и Bundgaard Design of Prodrugs, Elsevier (1985).

5

10

15

20

25

30

Примеры маскированного карбоксилат-аниона включают множество сложных эфиров, например, с участием алкила (например, метила, этила), циклоалкила (например, циклогексила), аралкила (например, бензила, пметоксибензила) и алкилкарбонилоксиалкила (например, пивалоилоксиметила). Амины маскируют в виде арилкарбонилоксиметилзамещенных производных, расщепляемых эстеразами in vivo с высвобождением свободного лекарственного средства и формальдегида (Bungaard J. Med. Chem. 2503 (1989)). Кроме того, лекарственные средства, содержащие кислую NH-группу, например, имидазол, имид, индол и т.п., маскируют N-ацилоксиметильными группами (Bundgaard Design of Prodrugs, Elsevier (1985)).

Гидроксильные группы маскируют в виде сложных и простых эфиров. В ЕР 0 039 051 (Sloan and Little, 11 апреля 1981 г.) описаны пролекарства на основе гидроксамовых кислот и оснований Манниха, их получение и применение.

Некоторые соединения согласно настоящему изобретению могут существовать в несольватированных формах, а также в сольватированных формах, включая гидратированные формы. В целом, сольватированные формы эквивалентны несольватированным формам, и предполагается, что они включены в область действия настоящего изобретения.

Некоторые соединения согласно настоящему изобретению могут существовать в нескольких кристаллических или аморфных формах. В целом, все физические формы эквивалентны для вариантов применения, предусмотренных настоящим изобретением, и предполагается, что они входят в область действия настоящего изобретения.

Некоторые соединения согласно настоящему изобретению содержат асимметричные атомы углерода (оптические центры) или двойные связи; предполагается, что все рацематы, диастереомеры, геометрические изомеры и отдельные изомеры включены в область действия настоящего изобретения.

Соединения согласно настоящему изобретению также могут содержать неестественные пропорции атомных изотопов одного или более элементов, которые составляют такие соединения. Например, соединения могут быть мечены радиоактивными изотопами, например, тритием (3 H), иодом-125 (125 I) или углеродом-14 (14 C). Предполагается, что в область действия настоящего изобретения входят все изотопные вариации соединений согласно настоящему изобретению, независимо от того, являются ли они радиоактивными или нет.

5

10

15

20

25

30

Термин «фармацевтическая композиция», используемый в настоящей заявке, относится к веществу и/или комбинации веществ, используемых для выявления, профилактики или лечения состояния ткани или заболевания. Фармацевтическую композицию составляют таким образом, чтобы она была пригодна для введения пациенту для профилактики и/или лечения заболевания. Кроме того, термин "фармацевтическая композиция" относится к комбинации активного агента с носителем, инертным или активным, что делает композицию подходящей для терапевтического применения. Фармацевтические композиции можно составлять для перорального, парентерального, местного, ингаляционного, ректального, сублингвального, трансдермального, подкожного или вагинального применения в соответствии с их химическими и физическими свойствами. Фармацевтические жидкие, композиции содержат твердые, полужидкие, трансдермальные терапевтические системы (ТТС). Твердые композиции выбраны из группы, состоящей из таблеток, таблеток с покрытием, порошка, гранулята, гранул, капсул, шипучих таблеток или трансдермальных терапевтических систем. Кроме того, этот термин включает жидкие композиции, выбранные из группы, состоящей из растворов, сиропов, вливаний, экстрактов, растворов для внутривенного введения, растворов для вливания или растворов систем-носителей согласно настоящему изобретению. Полужидкие композиции, которые можно применять в контексте настоящего изобретения, включают эмульсию, суспензию, кремы, лосьоны, гели, крупинки, буккальные таблетки и суппозитории.

«Фармацевтически приемлемый» означает одобренный нормативноправовым органом федеральной или региональной власти или приведенный в Фармакопее США или иной общепризнанной фармакопее для применения у животных, а в более конкретном случае - у людей.

5

10

15

20

25

30

В настоящем документе термин «носитель» относится к разбавителю, адъюванту, вспомогательному веществу или среде-носителю, с которыми вводят терапевтический агент. Такие фармацевтические носители могут представлять собой стерильные жидкости, например, растворы хлорида натрия в воде и маслах, в том числе полученных из нефти, животного, растительного или синтетического происхождения, например, арахисовом масле, соевом масле, минеральном масле, кунжутном масле и т.п. Раствор хлорида натрия является предпочтительным носителем при внутривенном введении фармацевтической композиции. Растворы хлорида натрия и водные растворы декстрозы и глицерина также можно применять в качестве жидких носителей, в частности, для инъекционных растворов. Подходящие фармацевтические вспомогательные вещества включают крахмал, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, солод, рис, муку, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропиленгликоль, воду, этанол и т.п. Композиция при желании может также содержать незначительные количества смачивающих или эмульгирующих агентов или буферных агентов для поддержания рН. Примеры подходящих фармацевтических носителей описаны в «Remington 's Pharmaceutical Sciences» под ред. E. W. Martin.

В настоящем документе термин «белок активации фибробластов (FAP)» также известен под термином «сепраза». Оба указанных термина могут использоваться взаимозаменяемо. Белок активации фибробластов представляет собой гомодимерный мембранный белок с третичной структурой, сходной со структурой дипептидилпептидазы IV (DPPIV), содержащий гидролазный альфа/бета-домен и бета-домен в виде восьмилопастного пропеллера.

Под "медицинской визуализацией" подразумевается любая методика, используемая для визуализации внутренних областей тела человека или животного для целей диагностики, исследования или терапевтического лечения. Например, FAP-специфичные агенты можно обнаруживать (и количественно оценивать) с помощью радиосцинтиграфии, магнитно-резонансной томографии (МРТ),

компьютерной томографии (КТ), ядерной визуализации, позитронно-эмиссионой томографии (ПЭТ) с контрастным агентом-металлом, оптической визуализации (например, флуоресцентной визуализации, включая визуализацию в ближней инфракрасной области спектра (NIRF)), биолюминесцентной визуализации или их комбинаций. Функциональная группа необязательно является контрастным веществом для рентгеновской визуализации. Агентами, пригодными для улучшения таких методик, являются материалы, позволяющие визуализировать конкретный очаг, орган или область заболевания в организме и/или приводящие к некоторому улучшению качества изображений, полученных с помощью методик визуализации, обеспечивая улучшенную или более простую интерпретацию этих изображений. Такие агенты в настоящем документе называют контрастными агентами, применение которых облегчает дифференциацию различных частей изображения путем увеличения «контрастности» между этими различными областями изображения. Таким образом, термин «контрастные агенты» включает агенты, используемые для повышения качества изображения, которое, тем не менее, можно получить в отсутствие такого агента (как, например, в случае с МРТ), а также агенты, необходимые для получения изображения (как, например, в случае с ядерной визуализацией).

20 Соединения

5

10

15

25

30

Ниже подробнее описаны различные аспекты настоящего изобретения. Каждый аспект, определенный_таким образом, можно объединить с любым другим аспектом или аспектами, если явно не указано_иное. В частности, любой признак, указанный как предпочтительный или выгодный, можно объединить с любым другим признаком или признаками, указанными как предпочтительные или выгодные.

Настоящее изобретение относится к низкомолекулярным радиофармацевтическим и визуализирующим агентам на основе FAP-специфичного ингибитора.

В некоторых вариантах реализации FAP-специфичные агенты обладают структурой, представленной в формуле I:

Формула І

или представляют собой ее фармацевтически приемлемую соль, где:

R представляет собой радиоактивную группу, хелатирующий агент, флуоресцентную группу, фотоакустическую репортерную молекулу, раманактивную репортерную молекулу, контрастный агент, обнаружимую наночастицу или фермент;

 R_1 представляет собой (C_1 - C_6)-алкил;

 R_2 представляет собой -B(-Y¹)(-Y²) или -CN;

10

5

 Y^1 и Y^2 независимо представляют собой -OH или вместе с атомом бора, к которому они присоединены, представляют собой группу, гидролизуемую с образованием борной кислоты, или вместе с атомом бора, к которому они присоединены, образуют 5-8-членное кольцо, гидролизуемое с образованием борной кислоты;

15

 R_3 представляет собой H или (C_1 - C_6)-алкил;

 R_4 отсутствует или представляет собой один, два или три заместителя, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из $(C_1\text{-}C_6)$ -алкила, -OH, -NH $_2$ и атома галогена;

X представляет собой О или S;

20

25

L представляет собой связь или линкер.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации R_1 представляет собой - CH_3 или - CH_2CH_3 , и в еще более предпочтительных случаях представляет собой - CH_3 .

В некоторых предпочтительных вариантах реализации R_2 представляет собой $-B(-Y^1)(-Y^2)$, и в еще более предпочтительных случаях представляет собой $-B(OH)_2$.

B некоторых предпочтительных вариантах реализации R_3 представляет собой H_{\cdot}

В некоторых предпочтительных вариантах реализации R4 отсутствует.

 ${\bf B}$ некоторых предпочтительных вариантах реализации X представляет собой O.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации R_2 представляет собой -CH₃, R_2 представляет собой -B(OH)₂, R_3 представляет собой H, а R_4 отсутствует.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации указанное соединение представлено ниже в формуле II или формуле III:

Формула II

10

15

20

25

5

Формула III

В некоторых вариантах реализации R представляет собой радиоактивную причем радиоактивная группа включает флуоресцентный изотоп, радиоактивный изотоп, радиоактивное лекарственное средство или их комбинации. включает радиоактивный изотоп, Радиоактивная группа предпочтительно выбранный из группы, состоящей из альфа-излучающих изотопов, бета-излучающих изотопов, гамма-излучающих изотопов, изотопов, излучающих электроны Оже, изотопов, излучающих рентгеновское излучение, изотопов, излучающих флуоресценцию.

Радиоактивный изотоп согласно настоящему изобретению можно выбрать для обеспечения возможности визуализации и/или лучевой терапии.

Радиоактивные изотопы согласно настоящему изобретению могут включать изотопы радиоактивных металлов или полуметаллов. Радиоактивные изотопы предпочтительно представляют собой водорастворимые катионы металлов.

Примеры радиоактивных изотопов включают ¹⁸F, ⁴³K, ⁴⁷Sc, ⁵¹Cr, ⁵⁷Co, ⁵⁸Co, ⁵⁹Fe, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ⁷¹Ge, ⁷²As, ⁷²Se, ⁷⁵Br, ⁷⁶Br, ⁷⁷As, ⁷⁷Br, ⁸¹Rb, ⁸⁸Y, ⁹⁰Y, ⁹⁷Ru, ^{99m}Tc, ¹⁰⁰Pd, ^{101m}Rh, ¹⁰³Pb, ¹⁰⁵Rh, ¹⁰⁹Pd, ¹¹¹Ag, ¹¹¹In, ¹¹³In, ¹¹⁹Sb ¹²¹Sn, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹²⁷Cs, ¹²⁸Ba, ¹²⁹Cs, ¹³¹Cs, ¹³¹I, ¹³⁹La, ¹⁴⁰La, ¹⁴²Pr, ¹⁴³Pr, ¹⁴⁹Pm, ¹⁵¹Eu, ¹⁵³Eu, ¹⁵³Sm, ¹⁵⁹Gr, ¹⁶¹Tb, ¹⁶⁵Dy, ¹⁶⁶Ho, ¹⁶⁹Eu, ¹⁷⁵Yb, ¹⁷⁷Lu, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁸⁹Re, ¹⁹¹Os, ¹⁹³Pt, ¹⁹⁴Ir, ¹⁹⁷Hg, ¹⁹⁸Au, ¹⁹⁹Ag, ¹⁹⁹Au, ²⁰¹Tl, ²⁰³Pb, ²¹¹At, ²¹²Bi, ²¹²Pb, ²¹³Bi, ²²⁵Ac, ²²⁷Th, Sc-44, Sc-47, As-77, In-110, Tb-152, Tb-149, Y-86, Sr-83, Sr-89, Zr-89 и Dy-166.

5

10

15

20

25

30

Диагностический радиоактивный изотоп можно подходящим образом применять для диагностической визуализации, такие изотопы включают, в числе прочего, 18 F, 123 I, 124 I, 125 I, 99m Tc. Терапевтический радиоактивный изотоп можно подходящим образом применять для различных вариантов лечения, в том числе для лечения рака, такие изотопы включают, в числе прочего, например, 225 Ac, 68 Ga, 177 Lu, 64 Cu, 67 Cu, 131 I, 32 P, 90 Sr, 90 Y, 186 Re, 188 Re и 189 Re.

В некоторых вариантах реализации радиоактивный изотоп предназначен для возможности визуализации, например, с помощью ОФЭКТвизуализации и/или ПЭТ-визуализации. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ) представляет собой методику томографической визуализации в ядерной медицине с использованием гамма-лучей и способна обеспечивать получение достоверной трехмерной информации. Указанную информацию часто представляют в виде поперечных сечений через организм пациента. Благодаря гамма-излучению изотопа можно видеть, где материал с радиоактивной меткой скопился в организме пациента. Такое истинное 3D-представление может быть полезно при визуализации опухоли. Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) это методика визуализации в ядерной медицине, позволяющая получать 3D изображение и характеризующаяся повышенной чувствительностью по сравнению с традиционной ОФЭКТ-визуализацией. Система обнаруживает пары гамма-лучей, косвенно излучаемых позитронно-излучающим радионуклидом (радиоизотопным индикатором), вводимым в организм. Затем с помощью компьютерного анализа строят 3D-изображения концентрации радиоизотопного индикатора в организме, а 3D-визуализацию часто выполняют с помощью рентгеновской компьютерной томографии (КТ), выполненной для пациента во время того же сеанса в том же аппарате. Позитрон-излучающие изотопы также можно применять в сочетании с КТ

для 3D-визуализации анатомического распределения меченого медицинского изделия.

В некоторых вариантах реализации радиоактивный изотоп представляет собой переходный металл, например, ⁴⁴Sc, ⁴⁷Sc, ⁵¹Cr, ⁵¹Mn, ⁵²Mn, ⁵⁷Co, ⁵⁸Co, ⁵⁹Fe, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ⁸⁶Y, ⁸⁸Y, ⁸⁹Zr, ⁹⁰Y, ⁹⁷Ru, ^{99m}Tc, ¹⁰⁰Pd, ^{101m}Rh, ¹⁰³Pd ¹⁰⁵Rh, ¹⁰⁹Pd, ¹¹¹Ag, ¹⁷⁷Lu, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁸⁹Re, ¹⁹¹Os, ¹⁹³Pt, ¹⁹⁴Ir, ¹⁹⁷Hg, ¹⁹⁸Au, ¹⁹⁹Ag и ¹⁹⁹Au, ²²⁵Ac, ²²⁶Th или ²²⁷Th. В некоторых аспектах радиоактивный изотоп предпочтительно представляет собой ⁴⁴Sc, ⁴⁷Sc, ⁶⁴Cu, ⁸⁹Zr, ⁹⁰Y, ^{99m}Tc, ¹⁷⁷Lu, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ²²⁵Ac, ²²⁶Th или ²²⁷Th.

5

10

15

25

30

В некоторых вариантам реализации радиоактивный изотоп представляет собой s-элемент, например, ⁴³K, ⁸¹Rb, ⁸³Sr, ⁸⁹Sr, ¹²⁷Cs, ¹²⁸Ba, ¹²⁹Cs и ¹³¹Cs.

В некоторых вариантах реализации радиоактивный изотоп находится в группе 13-16 периодическая системы элементов, например, 67 Ga, 68 Ga, 71 Ge, 72 As, 72 Se, 77 As, 110 In, 111 In, 113 In, 119 Sb, 121 Sn, 201 Tl, 203 Pb, 212 Bi, 212 Pb и 213 Bi. В некоторых аспектах предпочтительные радиоактивные изотопы включают 68 Ga, 111 In, 212 Pb или 213 Bi

В некоторых вариантах реализации радиоактивный изотоп представляет собой галоген, например, 18 F, 75 Br, 76 Br, 76 Br, 123 I, 124 I, 125 I, 131 I и 211 At. В некоторых аспектах предпочтительные радиоактивные изотопы включают 18 F, 123 I, 124 I, 131 I или 211 At.

В некоторых вариантах реализации радиоактивный изотоп представляет собой лантаноид, например, 139 La, 140 La, 142 Pr, 143 Pr, 149 Pm, 151 Eu, 153 Eu, 153 Sm, 159 Gr, 149 Tb, 152 Tb, 161 Tb, 165 Dy, 166 Dy, 166 Dy, 166 Ho и 169 Eu, 175 Yb. В некоторых аспектах предпочтительные радиоактивные изотопы включают 149 Tb, 152 Tb или 161 Tb.

В некоторых вариантах реализации радиоактивный изотоп представляет собой актиноид, например, 225 Ac, 226 Th и 227 Th. В некоторых аспектах предпочтительные радиоактивные изотопы включают 225 Ac или 227 Th.

Материал с радиоактивной меткой согласно настоящему изобретению также может подходящим образом содержать комбинацию по меньшей мере двух радиоактивных изотопов для обеспечения возможности визуализации и/или терапии. Комбинацию радиоактивных изотопов можно подходящим образом выбрать из,

например: Ga-68 и Lu-177; F-18 и Lu-177; In-111 и Lu-177; Ga-68 и Y-90; F-18 и Y-90; In-111 и Y-90; Ga-68 и Ac-225; F-18 и Ac-225; In-111 и Ac-225.

Настоящее изобретение может дополнительно включать применение по меньшей мере одного нерадиоактивного нетоксичного металла-носителя. Например, металл-носитель можно выбрать из Ві и Fe. Например, нерадиоактивный металл-носитель может обеспечивать возможность МРТ-визуализации (например, Fe) или рентгеновской контрастной визуализации (например, Ві). Другие примеры металлов-носителей включают трехвалентный висмут, который дополнительно обеспечивает рентгеновский контраст в микросферах, позволяя визуализировать их при КТ.

В некоторых вариантах реализации R представляет собой хелатирующий агент или группу, например, хелатор для иона радиоактивного металла или парамагнитного иона, включая радиоактивный изотоп.

Хелатирующий агент может содержать любой хелатор, известный в данной области техники, см., например, Parus et al., "Chemistry and bifunctional chelating agents for binding (177)Lu," Curr Radiopharm. 2015; 8(2):86-94; Wangler et al., "Chelating agents and their use in radiopharmaceutical sciences," Mini Rev Med Chem. 2011 October; 11(11):968-83; Liu, "Bifunctional Coupling Agents for Radiolabeling of Biomolecules and Target-Specific Delivery of Metallic Radionuclides," Adv Drug Deliv Rev. 2008 September; 60(12): 1347-1370.

Типичные примеры приведены в таблице 1.

Таблица 1

5

10

15

20

Хелатор	Структура	R
DOTA	COOH N COOH HOOC N N HOOC	HOOC N N HOOC
DOTA-NHS	COOH ()) HOOC HOOC	HOOC N N HOOC

Хелатор	Структура	R
ρ-SCN-Bn-NOTA	HOOC N COOH	HOOC N S COOH
p-SCN-Bn-PCTA	HOOC NCS	HOOC N COOH
p-SCN-Bn-оксо- DO3A	HOOC N NCS	HOOC N N N NH HOOC S
и дезферриоксамин - <i>p</i> -SCN	NH S OH OH THAT S NCS	ON THE STATE OF TH
Диэтилентриаминп ентауксусная кислота (DTPA)	HO	HO NOH NO O OH

Хелатор	Структура	R
1,4,8,11- тетраазациклотетрадека н-1,4,8,11-тетрауксусная кислота (ТЕТА)	OH N HO OH	O OH N HO
N,N'-ди(2- гидроксибензил)этиленд иамин-N,N'-диуксусная кислота (HBED)	HO	HO
4-(4,7-бис(2-(трет- бутокси)-2- оксоэтил)- 1,4,7-триазациклононан- 1-ил)-5-(трет-бутокси)-5- оксопентановая кислота (NODAG)	40 X X X X X X X X X X X X X X X X X X X	+3 5 2 2 6 K
2,2'-(1,4,8,11- тетраазобицикло[6.6.2]г ексадекан-4,11- диил)диуксусная кислота (СВ-ТЕ2А)	HO N N OH	HOLNN

Хелатор	Структура	R
6-амино-2-(11- (фосфонметил)-1,4,8,11- тетраазобицикло[6.6.2]ге ксадекан-4- ил)гексановая кислота (СВ-ТЕІКІР)	(HA HA MANA MANA MANA MANA MANA MANA MANA	(HO) ₂ P N N NH ₂
НОРО		
DTPA	HO } OH	но
ЭДТА	0H 2 OH 2	HO LO LOH
CHX-A"-DTPA	SC	S J OH OH OH OH

Хелатор	Структура	R
NODASA	HO OH NO HO	HO HO
тсмс	H ₂ N NH ₂ NH ₂ NH ₂ NH ₂	H ₂ N N HN-I N N NH ₂
TETA	H ² N \ H \ N \ NH ³	H ⁵ N~\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \
PEPA	() () () () () () () () () ()	HO N N OH
HEHA	0 HO NO	HO N N OH

В некоторых предпочтительных вариантах реализации R может представлять собой DOTA, связанную через любую из ее четырех карбоксильных групп.

В некоторых вариантах реализации изобретения хелатор включает радиоактивный изотоп, хелатированный с ним.

5

10

В некоторых вариантах реализации изобретения хелатор содержит парамагнитный ион, хелатированный с ним. Примеры парамагнитных ионов включают хром (III), марганец (II), железо (III), железо (II), кобальт (II), никель (II), медь (II), неодим (III), самарий (III), иттербий (III), гадолиний (III), ванадий (III), тербий (III), диспрозий (III), гольмий (III), эрбий (III) или комбинации этих парамагнитных ионов.

Если группа представляет собой обнаружимую метку, она также может являться флуоресцентной группой.

В некоторых вариантах реализации флуоресцентная группа выбрана из: флуоресцентного белка, флуоресцентного пептида, флуоресцентного красителя, флуоресцентного материала или их комбинации.

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации R представляет собой флуоресцентный краситель, например, может быть выбран из группы, состоящей из ксантенов, акридинов, оксазинов, цианинов, стириловых красителей, кумаринов (например, кумарина 343, метоксикумарина и диалкиламинокумарина), порфинов, металллигандных комплексов, флуоресцентных белков, нанокристаллов, периленов, бордипиррометенов и фталоцианинов, а также конъюгатов и комбинаций этих классов красителей. Примеры конкретных флуоресцентных меток включают органические красители, например, цианин, флуоресцеин и производные флуоресцеина, родамин и производные родамина, красители Alexa Fluor, флуорофоры Dylight (например, DyLight547 и Dylight647), флуорофоры Hylight (например, HiLyte Fluor 647, HiLyte Fluor 680 и HiLyte Fluor 750), красители IRDye (например, IR Dye800, IRDye 800CW, IRDye 800RS и IRDye 700DX), флуорофоры Dy (например, Dy677, Dy676, Dy682, Dy752 и Dy780), флуорофоры VivoTag (например, VivoTag-680, VivoTag-S680 и VivoTag-S750), красители ATTO, флуорофоры BODIPY (например, BODIPY FL, BODIPY R6G, BODIPY TMR, BODIPY TR, BODIPY 530/550, BODIPY 558/568, BODIPY 564/570, BODIPY 576/589, BODIPY 581/591, BODIPY 630/650 и BODIPY 650/665), карбоцианин, индокарбоцианин, оксакарбоцианин, туикарбоцианин, мероцианин, полиметин, бордипиррометановые красители (BODIPY), ADS780WS, ADS830WS и ADS832WS и других флуорофоров, известные специалисту в данной области техники, но не ограничиваются ими.

В качестве дополнительного примера, флуоресцентную группу можно выбрать из группы, состоящей из Су3, Су5, Су5.5 (также известного как Су5++), Су2, (FITC), 4',5'-дихлор-2',7'-CY7, CY7.5. изотиоцианата флуоресцеина 2',4',5',7'диметоксифлуоресцеина, нафтофлуоресцеина, тетрабромсульфонфлуоресцеина, изотиоцианата тетраметилргодамина (TRITC), фикоэритрина, Су7, флуоресцеина (FAM), Су3, Су3.5 (также известного как Су3++), Texas Red, Texas Red-X, Marina Blue, Oregon Green 488, Oregon Green 500, Oregon Green 514, Pacific Blue, PyMPO, AMCA, AMCA-S, Cascade Blue, Cascade Yellow, DM-NERF, эозина, эритрозина, FAM, флуорофора LightCycler (например, LightCyclerRed 640 и LightCycler Red 705), тетраметилродамина (TMR), родамина, производного родамина (ROX), гексахлорфлуоресцеина (HEX), родамина 6G (R6G), карбокси-Xродамина, лиссамин-родамина В, пирена, родамина В, родамина 6G, родамина зеленого, родамина красного, Rhodol Green, тетраметилродамина, карбокситетраметилродамина, производного родамина JA133, флуоресцентных красителей Alexa (например, Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 555, Alexa Fluor 647, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 750 и Alexa Fluor 790), 4',6-диамидин-2-фенилиндола (DAPI), иодида пропидия, AMCA, Spectrum Green, Spectrum Orange, Spectrum Aqua, лиссамина и флуоресцентных комплексов переходных металлов, например, европия. Флуоресцентное соединение, которое можно применять, также включает флуоресцентные белки, например, GFP (зеленый флуоресцентный белок), усиленный GFP (EGFP), синий флуоресцентный белок и его производные (BFP, EBFP, EBFP2, Azurite, mKalama1), голубой флуоресцентный белок и его производные (CFP, ECFP, Cerulean, CyPet) и желтый флуоресцентный белок и его производные (YFP, Citrine, Venus, YPet). См. также WO 2008/142571, WO 2009/056282 и WO 99/22026 (все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки).

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации обнаружимая группа представляет собой биологический флуорофор (например, флуоресцентный полипептид или пептид), включая зеленый флуоресцентный белок (GFP), производные GFP (например, EBFP, EBFP2, Azurite, mKalamal, ECFP, Cerulean, CyPet, YFP, Citrine, Venus, Ypet) и R-фикоэритрин, но не ограничиваясь ими.

В некоторых вариантах реализации R представляет собой фотоакустическую репортерную молекулу. Типичная фотоакустическая репортерная молекула включает индоцианин зеленый (ICG), Alexa Fluor 750, Evans Blue, BHQ3, QXL680, IRDye880CW, MMPSense 680, метиленовый синий, PPCy-C8 и Cypate-C 18.

В некоторых вариантах реализации обнаружимая группа представляет собой обнаружимую наночастицу, выбранную из группы, состоящей из плазмонной наночастицы, квантовой точки, наноалмаза, полипирроловой наночастицы, наночастицы сульфида меди, нанолиста графена, наночастицы с ядром-из оксида железа и оболочкой из золота, наночастицы Gd_2O_3 , однослойной углеродной

нанотрубки, перфторуглеродной наночастицы, нагруженной красителем, и суперпарамагнитной наночастицы оксида железа.

В некоторых вариантах реализации обнаружимая группа включает квантовую точку.

В некоторых вариантах реализации обнаружимая группа содержит квантовую точку, излучающую инфракрасное излучение.

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации обнаружимая группа представляет собой раман-активную репортерную молекулу, например, для иллюстрации, однослойную углеродную нанотрубку (SWNT) или агент с поверхностным усилением рамановского рассеивания (SERS). Примерами SERS-агента являются металлические наночастицы, меченные раман-активной репортерной молекулой. В некоторых случаях существуют флуоресцентные красители, которые также можно применять в качестве раман-активных репортерных молекул, например, красители Су3, Су5, родамин и халькогенопирилий.

Примеры R, представляющего собой ферментативную метку, включают пероксидазу хрена (HRP), щелочную фосфатазу (AP), глюкозооксидазу и β -галактозидазу, но не ограничиваются ими.

В некоторых вариантах реализации агент согласно настоящему изобретению представляет собой агент для визуализации, выбранный для использования в рамках способа выполнения хирургического вмешательства под контролем визуализации, например, резекции, диссекции, абляции, удаления или стентирования или размещения других устройств in situ. Например, агент можно вводить пациенту (человеку или животному) в количестве, достаточном для его преимущественной локализации в ткани, целевой для хирургического вмешательства, причем хирург может обнаружить присутствие или отсутствие агента для визуализации во время хирургической процедуры. В этой связи обнаружимая группа может быть преимущественно оптически обнаружимой, например, флуоресцентной или другой оптически активной группой, описанной выше. Такие агенты для визуализации можно эффективно применять в хирургическом театре, где операционное поле можно освещать электромагнитным излучением, достаточным для обнаружения обнаружимой группы, например, флуорофора или квантовой точки, которые хирург может визуализировать непосредственно либо с помощью средств мониторинга (например, экрана/монитора). Типичные варианты применения таких агентов для

визуализации включают, как правило, эндоскопические и лапароскопические хирургические процедуры, при которых хирург может наблюдать присутствие (или отсутствие) агента для визуализации оптически с помощью эндоскопических, лапароскопических или чрескожных средств.

В некоторых вариантах реализации хирургическое вмешательство под контролем визуализации может представлять собой хирургическое вмешательство с помощью робототехники под контролем визуализации.

В некоторых вариантах реализации FAP-специфичный агент представлен общей формулой IIB, где R соответствует определению, приведенному выше, а X представляет собой C или N. B некоторых предпочтительных вариантах реализации IIB R представляет собой хелатор.

Типичные FAP-специфичные агенты включают:

4613B

15

5

4536. X = **N**: DOTA-HyNic-D-Ala-борРrо

4536В. X = **C:** DOTA-HyBz-D-Ala-борРго

6415

6433.

10

5

В некоторых вариантах реализации FAP-специфичные агенты содержат две или более FAP-ингибиторные группы, ковалентно связанные с радиофармацевтическими агентами или агентами для визуализации, например, обладают структурой, представленной в формуле IV:

$$\begin{bmatrix} X & R_1 \\ \hline & & \\ &$$

Формула IV

или представлять собой ее фармацевтически приемлемую соль, где:

 $R,\,R_1,\,R_2,\,R_3,\,R_4,\,X$ и L соответствуют определениям, приведенным выше; и n представляет собой целое число от 2 до 6.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации формулы IV R представляет собой хелатирующую группу.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации Формулы IV R представляет собой хелатирующую группу, а n равен 2.

Особо предпочтительные соединения включают:

10

5

6555

20 6952

Также особо предпочтительными являются вышеуказанные соединения 6555, 6952 и 6522, содержащие радионуклид. Например, предпочтительными являются соединения следующих формул A, B и C:

Формула А

5

Формула В

Формула С,

10

15

где в каждой из этих формул A, B и C M представляет собой радиоактивный изотоп или металл.

В некоторых аспектах в формулах А, В и/или С М представляет собой диагностический радиоактивный изотоп.

В некоторых аспектах в формулах А, В и/или С М представляет собой терапевтический радиоактивный изотоп.

В некоторых аспектах в формулах A, B и/или C M представляет собой Ga-67, Ga-68, Lu-177 или Y-90.

В некоторых аспектах в формулах A, B и/или C M представляет собой s-элемент, например, 43 K, 81 Rb, 83 Sr, 89 Sr, 127 Cs, 128 Ba, 129 Cs и 131 Cs.

В некоторых аспектах в формулах A, B и/или C M находится в группе 13-16 периодической системы элементов, например, представляет собой 67 Ga, 68 Ga, 71 Ge, 72 As, 72 Se, 77 As, 110 In, 111 In, 113 In, 119 Sb, 121 Sn, 201 Tl, 203 Pb, 212 Bi, 212 Pb и 213 Bi, в частности, 68 Ga, 111 In, 212 Pb или 213 Bi.

В некоторых аспектах в формулах A, B и/или C M представляет собой галоген, например, 18 F, 75 Br, 76 Br, 76 Br, 123 I, 124 I, 125 I, 131 I и 211 At, в частности, 18 F, 123 I, 124 I, 131 I или 211 At.

В некоторых аспектах в формулах A, B и/или C M представляет собой лантаноид, например, 139 La, 140 La, 142 Pr, 143 Pr, 149 Pm, 151 Eu, 153 Eu, 153 Sm, 159 Gr, 149 Tb, 152 Tb, 161 Tb, 165 Dy, 166 Dy, 166 Ho и 169 Eu, 175 Yb, в частности, 149 Tb, 152 Tb или 161 Tb.

В некоторых аспектах в формулах A, B и/или C M представляет собой актиноид, например, 225 Ac, 226 Th и 227 Th, в частности, 225 Ac или 227 Th.

Кроме того, предпочтительными являются такие соединения, объединенные в комплекс с одним или более радиоактивными изотопами, включая:

15

5

В некоторых вариантах реализации FAP-специфичные агенты включают группу, изменяющую фармакокинетику и/или биораспределение указанной молекулы, например, период полувыведения молекулы из сыворотки и/или распределение молекулы в опухоли. Такие FAP-специфичные агенты с модифицированной ФК/БР могут обладать структурой, представленной в формуле V:

$$\begin{bmatrix}
X & R_1 \\
 & R_2 \\
 & R_3 & O
\end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix}
R_1 \\
 & R_2 \\
 & R_4
\end{bmatrix}$$

Формула V

5

10

15

20

или представлять собой ее фармацевтически приемлемую соль, где:

 $R,\ R_1,\ R_2,\ R_3,\ R_4,\ X$ и L соответствуют определениям, приведенным выше;

 R_5 представляет группу, модифицирующую фармакокинетику и/или биораспределение молекулы; и

п представляет собой целое число от 1 до 6.

B некоторых предпочтительных вариантах реализации формулы V R_5 представляет собой группу, связывающуюся с сывороточным альбумином.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации формулы V R5 представляет собой группу, связывающуюся с сывороточным альбумином, а п равен 1.

В некоторых предпочтительных вариантах реализации формулы V R₅ представляет собой группу, увеличивающую период полувыведения, например, небелковые группы, увеличивающие период полувыведения, например,

водорастворимый полимер, например, полиэтиленгликоль (ПЭГ) или дискретный ПЭГ, гидроксиэтилкрахмал (ГЭК), липид, разветвленную или неразветвленную ацильную группу, разветвленную или неразветвленную С8-С30-ацильную группу, разветвленную или неразветвленную алкильную группу и разветвленную или неразветвленную С8-С30-алкильную группу; и белковые группы, увеличивающие период полувыведения, например, сывороточный альбумин, трансферрин, аднектины (например, аднектины, связывающие альбумин или продляющие фармакокинетику (РКЕ)), Fc-домен и неструктурированный полипептид, например, полипептиды XTEN и PAS (например, конформационно неупорядоченные полипептидные последовательности, состоящие из аминокислот Pro, Ala и/или Ser), и фрагмент любого из вышеперечисленных.

5

10

15

20

25

30

Настоящие соединения, которые объединены в составе комплекса с радиоактивным изотопом или атомом металла, легко получать, например, для получения соединения согласно любой из вышеуказанных формул I-V, где R представляет собой радиоактивную группу, R представляет ИЛИ хелатирующий агент, и радиоактивный изотоп или атом металла образует комплекс с хелатирующим агентом. Например, водную смесь 1) радиоактивного изотопного реагента, например, галогенидного реагента радиоактивного изотопа, и 2) соединения-предшественника, например, соединения с хелатирующей группой, соответствующим образом подвергают взаимодействию с перемешиванием в течение времени и при температуре, достаточных для образования комплекса радиоактивного изотопа с соединением-предшественником. Типичные значения времени и температуры реакции включения приведены в указанных ниже примерах и могут соответственно включать время реакции от 5 до 60 минут и температуру реакции до 90°С или более.

Реакционная смесь может соответственно содержать одно или более стабилизирующих соединений, например, органические стабилизаторы, например, 2,5-дигидроксибензойную кислоту или ее соли, аскорбиновую кислоту или ее соли, метионин, гистидин, мелатонин, N-ацетилметионин или этанол, причем N-ацетилметионин является предпочтительным в некоторых аспектах. Предпочтительные стабилизаторы могут включать стабилизаторы, которые в целом признаны безопасными (GRAS) в соответствии со стандартами Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США.

В некоторых вариантах реализации серосодержащие стабилизирующие соединения, включая соединения, содержащие одну или более сульфидных групп, например, восстановленный N-ацетилметионин и L-глутатион, являются предпочтительными стабилизаторами для включения в смесь радионуклидного реагента/соединения-предшественника во время реакции включения.

5

10

15

20

25

30

С FAP-специфичным агентом согласно настоящему изобретению можно связывать широкий спектр макромолекулярных полимеров и других молекул с целью модулирования биологических свойств полученного FAP-специфичного агента и/или обеспечения новых биологических свойств FAP-специфичного агента. Эти макромолекулярные полимеры могут быть связаны с FAP-специфичным агентом посредством аминокислоты, кодируемой в естественных условиях, посредством аминокислоты, не кодируемой в естественных условиях, или любого функционального заместителя природной или неприродной аминокислоты, или любого заместителя или функциональной группы, добавленной к природной или неприродной аминокислоте. Молекулярная масса полимера может находиться в широком диапазоне, включая от приблизительно 100 Да до приблизительно 100000 Да или более, но не ограничиваясь этим. Молекулярная масса полимера может составлять от приблизительно 100 Да до приблизительно 100000 Да, включая 100000 Да, 95000 Да, 90000 Да, 85000 Да, 80000 Да, 75000 Да, 70000 Да, 65000 Да, 60000 Да, 55000 Да, 50000 Да, 45000 Да, 40000 Да, 35000 Да, 30000 Да, 25000 Да, 20000 Да, 15000 Да, 10000 Да, 9000 Да, 8000 Да, 7000 Да, 6000 Да, 5000 Да, 4000 Да, 3000 Да, 2000 Да, 1000 Да, 900 Да, 800 Да, 700 Да, 600 Да, 500 Да, 400 Да, 300 Да, 200 Да и 100 Да, но не ограничиваясь этим. В некоторых вариантах реализации молекулярная масса полимера составляет от приблизительно 100 Да до приблизительно 50000 Да. В некоторых вариантах реализации молекулярная масса полимера составляет от приблизительно 100 Да до приблизительно 40000 Да. В некоторых вариантах реализации молекулярная масса полимера составляет от приблизительно 1000 Да до приблизительно 40000 Да. В некоторых вариантах реализации молекулярная масса полимера составляет от приблизительно 5000 Да до приблизительно 40000 Да. В некоторых вариантах реализации молекулярная масса полимера составляет от приблизительно 10000 Да до приблизительно 40000 Да.

Для этой цели разработаны различные способы, включая ПЭГилирование, полисиалилирование, ГЭКилирование, гликозилирование или использование

рекомбинантного аналога ПЭГ, объединенного с гибкой и гидрофильной аминокислотной цепью (от 500 до 600 аминокислот) (см. Chapman, (2002) Adv Drug Deliv Rev. 54. 531-545; Schlapschy et al., (2007) Prot Eng Des Sel. 20, 273-283; Contermann (2011) Curr Op Biotechnol. 22, 868-876; Jevsevar et al., (2012) Methods Mol Biol. 901, 233-246).

5

10

15

20

25

30

Примеры полимеров включают простые полиалкиловые эфиры и их алкоксикэпированные аналоги (например, полиоксиэтиленгликоль, полиоксиэтилен/пропиленгликоль и их метокси- или этокси-кэпированные аналоги, особенно полиоксиэтиленгликоль, последний также известен как полиэтиленгликоль или ПЭГ); дискретный ПЭГ (dPEG); поливинилпирролидоны; поливинилалкиловые эфиры; полиоксазолины, полиалкилоксазолины полигидроксиалкилоксазолины; полиакриламиды, полиалкилакриламиды И полигидроксиалкилакриламиды (например, полигидроксипропилметакриламид и его производные); полигидроксиалкилакрилаты; полисиаловые кислоты и их аналоги; гидрофильные пептидные последовательности; полисахариды и их производные декстрана, производные, включая декстран И например, карбоксиметилдекстран, декстрансульфаты, аминодекстран; целлюлозу и ее производные, например, карбоксиметилцеллюлозу, гидроксиалкилцеллюлозу; хитин И его производные, например, хитозан, сукцинилхитозан, карбоксиметилхитин, карбоксиметилхитозан; гиалуроновую производные; крахмал; альгинаты; хондроитинсульфат; альбумин; пуллулан и карбоксиметилпуллулан; полиаминокислоты и их производные, например, полиаспарагиновые полиглутаминовые кислоты, полилизины, кислоты, полиаспартамиды; сополимеры малеинового ангидрида, например, сополимер малеинового ангидрида и стирола, сополимер малеинового ангидрида и дивинилэтилового эфира; поливиниловые спирты; их сополимеры; их терполимеры; их смеси; и производные вышеуказанного, но не ограничиваясь ими.

Выбранный полимер может быть водорастворимым, так что FAPспецифичный агент, к которому он присоединен, не осаждается в водной среде, например, физиологической среде. Водорастворимый полимер может характеризоваться любой структурной формой, включая линейную, раздвоенную или разветвленную, но не ограничиваясь ими. Как правило, водорастворимый полимер представляет собой поли(алкиленгликоль), например, поли(этиленгликоль) (ПЭГ), но можно использовать и другие водорастворимые полимеры. В качестве примера, ПЭГ используют для описания некоторых вариантов реализации настоящего изобретения. Указанный полимер может быть фармацевтически приемлемым для терапевтического применения FAP-специфичного агента.

Термин «ПЭГ» широко используется и включает любые молекулы полиэтиленгликоля, независимо от размера или концевой модификации ПЭГ, и может быть представлен как связанный с FAP-специфичным агентом в соответствии с формулой:

или

5

10

15

20

25

30

$$XO$$
— $(CH2CH2O)n—$

где п равно от 2 до 10000, а X представляет собой H или концевую модификацию, включая C1-4 алкил, защитную группу или концевую функциональную группу, но не ограничиваясь ими. В некоторых случаях ПЭГ, используемый в полипептидах согласно настоящему изобретению, на одном конце несет гидрокси- или метоксигруппу, т.е. X представляет собой H или CH3 ("метокси-ПЭГ").

Количество водорастворимых полимеров, связанных с FAP-специфичным агентом (T.e. степень ПЭГилирования или гликозилирования), онжом корректировать для модификации (включая увеличение или уменьшение, но не ограничиваясь этим) фармакологической, фармакокинетической или фармакодинамической характеристики, например, периода полувыведения полученного FAP-специфичного агента in vivo. В некоторых вариантах реализации период полувыведения полученного FAP-специфичного агента увеличивается по меньшей мере приблизительно на 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 процентов, в 2 раза, 5 pas, 6 pas, 7 pas, 8 pas, 9 pas, 10 pas, 11 pas, 12 pas, 13 pas, 14 pas, 15 pas, 16 pas, 17 раз, 18 раз, 19 раз, 20 раз, 25 раз, 30 раз, 35 раз, 40 раз, 50 раз или по меньшей мере приблизительно в 100 раз по сравнению с немодифицированным полипептидом.

Другим вариантом полимерной системы, пригодной для модификации ФК или других биологических свойств полученного FAP-специфичного агента, является применение неструктурированных гидрофильных аминокислотных полимеров, являющихся функциональными аналогами ПЭГ. Внутренняя биоразлагаемость полипептидной платформы делает ее привлекательной в качестве потенциально более доброкачественной альтернативы ПЭГ. Еще одним преимуществом является

точная молекулярная структура рекомбинантной молекулы в отличие от полидисперсности ПЭГ. В отличие от гибридов пептидов HSA и Fc, в которых необходимо поддерживать трехмерный фолдинг партнера по объединению, рекомбинантные гибриды с неструктурированными партнерами во многих случаях можно подвергать воздействию более высоких температур или жестких условий, например, ВЭЖХ-очистке.

5

10

15

20

25

30

Один из наиболее продвинутых полипептидов этого класса называется ХТЕМ (Amunix), его длина составляет 864 аминокислоты, и он состоит из шести аминокислот (A, E, G, P, S и T). См. Schellenberger et al. "A recombinant polypeptide extends the in vivo half-life of peptides and proteins in a tunable manner" 2009 Nat Biotechnol. 27(12):1186-90. За счет биоразлагаемой природы полимера он намного крупнее, чем обычно используемые 40-кДа ПЭГ, и обеспечивает сопутствующее увеличение периода полувыведения. Образование гибрида XTEN с FAPспецифичным агентом должно приводить к продлению периода полувыведения FAP-специфичного агента В 60-130 раз ПО сравнению немодифицированным полипептидом.

Второй полимер, основанный на аналогичных концептуальных соображениях, представляет собой PAS (XL-Protein GmbH). Schlapschy et al. "PASYlation: a biological alternative to PEGylation for extending the plasma half-life of pharmaceutically active proteins" 2013 Protein Eng Des Sel. 26(8):489-501. Это случайный спиральный полимер, состоящий из еще более ограниченного набора лишь трех небольших незаряженных аминокислот - пролина, аланина и серина.

B некоторых предпочтительных вариантах реализации формулы V R_5 представляет собой полиэтиленгликолевый полимер.

B некоторых предпочтительных вариантах реализации формулы V R_5 представляет собой полиэтиленгликолевый полимер, а n paвeн 1.

В настоящем изобретении также предложены фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение согласно любой из формул I-V и, необязательно, фармацевтически приемлемый носитель и/или вспомогательное вещество. В некоторых вариантах реализации фармацевтическая композиция предназначена для применения при диагностике или лечении заболевания, характеризующегося сверхэкспрессией белка активации фибробластов (FAP) у животного, предпочтительно субъекта-человека.

Подходящие фармацевтически приемлемые носители включают нетоксичные буферные компоненты, например, фосфат, цитрат и другие органические кислоты; соли, например, хлорид натрия; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты, например, хлорид октадецилдиметилбензиламмония, хлорид гексаметония, хлорид бензалкония, хлорид бензэтония, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, например, метил- или пропилпарабен, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол; низкомолекулярные приблизительно 10 полипептиды (например, содержащие менее чем аминокислотных остатков); белки, например, сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, например, поливинилпирролидон; аминокислоты, например, глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; углеводы, например, моносахариды, дисахариды, глюкозу, маннозу или декстрины; хелатообразующие агенты, например, ЭДТА; углеводы, например, сахарозу, маннит, трегалозу или сорбит; солеобразующие противоионы, например, натрия; комплексы металлов, например, комплексы Zn-белок; и неионогенные поверхностно-активные вещества, например, TWEEN или полиэтиленгликоль (ПЭГ), но не ограничиваются ими. (Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22. sup.nd Edition, 2012, Pharmaceutical Press, London.).

5

10

15

20

25

30

В предпочтительных аспектах фармацевтическая композиция может содержать одно или более стабилизирующих соединений, которые могут подавлять разложение радиофармацевтического агента после получения и перед введением. Предпочтительные стабилизаторы могут включать стабилизаторы, которые в целом признаны безопасными (GRAS) в соответствии со стандартами Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США.

Типичные соединения-стабилизаторы включают органические агенты, например, 2,5-дигидроксибензойную кислоту или ее соли, аскорбиновую кислоту или ее соли, метионин, гистидин, мелатонин, N-ацетилметионин или этанол, причем N-ацетилметионин является предпочтительным стабилизатором для включения в настоящие водные фармацевтические композиции.

В некоторых аспектах серосодержащие стабилизирующие соединения, включая соединения, содержащие одну или более сульфидных групп, например, восстановленный N-ацетилметионин и L-глутатион, являются предпочтительными

стабилизаторами для применения в настоящих фармацевтических композициях. Типичные количества одного или более стабилизаторов в настоящей фармацевтической композиции могут составлять от 5 до 120 мг стабилизатора(ов) на мл жидкости (например, водного состава) фармацевтической композиции.

5

10

15

20

25

30

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению можно вводить любым из нескольких способов для местного или системного лечения. Введение может быть местным с помощью эпидермальных или трансдермальных пластырей, мазей, лосьонов, кремов, гелей, капель, суппозиториев, спреев, жидкостей и порошков; легочным посредством ингаляции или инсуффляции порошков или аэрозолей, в том числе с помощью небулайзера, интратрахеальным и интраназальным; пероральным; или парентеральным, включая внутривенное, внутриартериальное, внутриопухолевое, внутрибрюшинное, подкожное, внутримышечное (например, посредством инъекции или вливания) или внутричерепным (например, интратекальным или внутрижелудочковым).

Типичное введение настоящего радиофармацевтического средства может представлять собой внутривенную инъекцию или другое парентеральное введение.

Терапевтический состав может находиться в единичной лекарственной форме. Такие составы включают таблетки, пилюли, капсулы, порошки, гранулы, растворы или суспензии в воде или неводных средах или суппозитории. В твердых композициях, например, таблетках основное действующее вещество смешивают с фармацевтическим носителем. Обычные ингредиенты для таблетирования включают кукурузный крахмал, лактозу, сахарозу, сорбит, тальк, стеариновую кислоту, стеарат магния, фосфат дикальция или камеди и разбавители (например, воду). Их можно использовать для формирования твердой предварительной композиции, содержащей однородную смесь соединения согласно настоящему изобретению или его нетоксичной фармацевтически приемлемой соли. Затем твердую предварительную композицию делят на единичные лекарственные формы, описанные выше. Таблетки, пилюли и т.д. состава или композиции могут быть покрыты оболочкой или составлены иным образом с получением лекарственной формы, обеспечивающей преимущество пролонгированного действия. Например, таблетка или пилюля может содержать внутреннюю композицию, покрытую внешним компонентом. Кроме того, эти два компонента можно разделить энтеросолюбильным слоем, обеспечивающим устойчивость к разрушению и

позволяющим внутреннему компоненту проходить неповрежденным через желудок или обеспечивающим отсрочку его высвобождения. Для таких энтеросолюбильных слоев или покрытий можно применять различные материалы, например, ряд полимерных кислот и смеси полимерных кислот с такими материалами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

Наборы и способы

5

10

15

20

25

30

В еще одном аспекте настоящего изобретения предложен набор, содержащий или состоящий из по меньшей мере одного соединения согласно любой из формул I-V, и инструкций по диагностике или лечению заболевания.

И в еще одном аспекте настоящего изобретения предложены способы диагностики, визуализации или снижения сверхэкспрессии FAP в ткани животного (предпочтительно пациента-человека), включающие введение указанному животному по меньшей мере одного соединения согласно любой из формул I-V.

В некоторых вариантах реализации ткань, сверхэкспрессирующая FAP, представляет собой опухоль, особенно солидную опухоль. В некоторых вариантах реализации указанная опухоль представляет собой опухоль, выбранную из группы, состоящей из: опухоли ободочной и прямой кишки, опухоли поджелудочной железы, опухоли легких, опухоли яичников, опухоли печени, опухоли молочной железы, опухоли почки, опухоли предстательной железы, нейроэндокринной опухоли, опухоли желудочно-кишечного тракта, меланомы, опухоли шейки матки, опухоли мочевого пузыря, глиобластомы и опухоли головы и шеи. В некоторых вариантах реализации указанная опухоль представляет собой опухоль ободочной и прямой кишки. В некоторых вариантах реализации указанная опухоль представляет собой опухоль яичников. В некоторых вариантах реализации указанная опухоль представляет собой опухоль легкого. В некоторых вариантах реализации указанная опухоль представляет собой опухоль поджелудочной железы. В некоторых вариантах реализации опухоль представляет собой меланому. В некоторых вариантах реализации указанная опухоль представляет собой опухоль мочевого пузыря. В некоторых вариантах реализации указанная опухоль представляет собой опухоль предстательной железы. В целях дополнительного иллюстрирования указанные агенты-аффимеры можно применять для лечения пациентов, страдающих от рака, например, остеосаркомы, рабдомиосаркомы, нейробластомы, рака почки,

лейкоза, переходноклеточного рака почки, рака мочевого пузыря, рака Вильмса, рака яичников, рака поджелудочной железы, рака молочной железы (включая трижды негативный рак молочной железы), рака предстательной железы, рака костей, рака легкого (например, мелкоклеточного или немелкоклеточного рака легкого), рака желудка, рака ободочной и прямой кишки, рака шейки матки, синовиальной саркомы, рака головы и шеи, плоскоклеточной карциномы, множественной миеломы, почечноклеточного рака, ретинобластомы, гепатобластомы, гепатоцеллюлярной карциномы, меланомы, рабдоидной опухоли почки, саркомы Юинга, хондросаркомы, рака головного мозга, глиобластомы, менингиомы, аденомы гипофиза, вестибулярной шванномы, примитивной нейроэктодермальной опухоли, медуллобластомы, астроцитомы, анапластической астроцитомы, олигодендроглиомы, эпендимомы, папилломы сосудистого сплетения, истинной полицитемии, тромбоцитемии, идиопатического миелофиброза, саркомы мягких тканей, рака щитовидной железы, рака эндометрия, карциноидного рака или рака печени, рака молочной железы или рака желудка. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения рак представляет собой метастатический рак, например, разновидностей, описанных выше.

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации в дополнение к введению FAPспецифичного агента, описанного в настоящем документе, способ или вариант дополнительно включает введение меньшей мере лечения ПО одного дополнительного агента, стимулирующего иммунный ответ. В некоторых вариантах реализации дополнительный агент, стимулирующий иммунный ответ, включает колониестимулирующий фактор (например, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор $(\Gamma MKC\Phi),$ макрофагальный $(MKC\Phi),$ колониестимулирующий фактор гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (ГКСФ), фактор стволовых клеток (SCF)), интерлейкин (например, ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-7, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18), ингибитор контрольных точек, антитело, блокирующее иммуносупрессивные функции (например, антитело против CTLA-4, антитело против CD28, антитело против CD3), Toll-подобный рецептор (например, TLR4, TLR7, TLR9) или член семейства В7 (например, CD80, CD86), но не ограничивается ими. Дополнительный агент, стимулирующий иммунный ответ, можно вводить до, одновременно с и/или после введения FAP-специфичного агента. Также предложены фармацевтические

композиции, содержащие FAP-специфичный агент и агент(ы), стимулирующий(е) иммунный ответ. В некоторых вариантах реализации агент, стимулирующий иммунный ответ, содержит 1, 2, 3 или более агентов, стимулирующих иммунный ответ.

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации в дополнение к введению FAPспецифичного агента, описанного в настоящем документе, способ или вариант лечения дополнительно включает введение ПО меньшей мере одного дополнительного терапевтического агента. Дополнительный терапевтический агент можно вводить до, одновременно с и/или после введения FAP-специфичного агента. Кроме того, предложены фармацевтические композиции, содержащие FAPспецифичный агент, и дополнительный(е) терапевтический(е) агент(ы). В некоторых вариантах реализации по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент содержит 1, 2, 3 или более дополнительных терапевтических агентов.

Комбинированная терапия двумя или более терапевтическими агентами часто использует агенты, характеризующиеся различными механизмами действия, хотя это не является обязательным. Комбинированная терапия с использованием агентов с различными механизмами действия может приводить к аддитивным или синергетическим эффектам. Комбинированная терапия может позволять использовать более низкую дозу каждого агента, чем при монотерапии, что уменьшает токсические побочные эффекты и/или повышает терапевтический индекс FAP-специфичного агента. Комбинированная терапия может снизить вероятность появления устойчивых раковых клеток. В некоторых вариантах реализации комбинированная терапия включает терапевтический агент, влияющий на иммунный ответ (например, усиливающий или активирующий указанный ответ), и терапевтический агент, влияющий на опухолевые/раковые клетки (например, ингибирующий или уничтожающий их).

В некоторых вариантах реализации способов, описанных в настоящем документе, комбинация FAP-специфичного агента, описанного в настоящем документе, и по меньшей мере одного дополнительного терапевтического агента приводит к аддитивным или синергическим результатам. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения комбинированная терапия приводит к увеличению терапевтического индекса FAP-специфичного агента. В некоторых вариантах реализации комбинированная терапия приводит к увеличению

терапевтического индекса дополнительного(ых) терапевтического(их) агента(ов). В некоторых вариантах реализации комбинированная терапия приводит к снижению токсичности и/или побочных эффектов FAP-специфичного агента. В некоторых вариантах реализации комбинированная терапия приводит к снижению токсичности и/или побочных эффектов дополнительного(ых) терапевтического(их) агента(ов).

5

10

15

20

25

30

Подходящие классы терапевтических агентов включают, противотубулиновые агенты, ауристатины, агенты, связывающиеся с малой бороздкой ДНК, ингибиторы репликации ДНК, алкилирующие агенты (например, комплексы платины, например, цисплатин, моно(платину), бис(платину) и трехядерные комплексы платины и карбоплатин), антрациклины, антибиотики, антифолаты, антиметаболиты, химиотерапевтические сенсибилизаторы, дуокармицины, этопозиды, фторированные пиримидины, ионофоры, лекситропсины, производные нитрозомочевины, платинолы, пуриновые антиметаболиты, пуромицины, радиационные сенсибилизаторы, стероиды, таксаны, ингибиторы топоизомеразы, алкалоиды барвинка и т.п. В некоторых вариантах реализации второй терапевтический агент представляет собой алкилирующий агент, антиметаболит, антимитотический агент, ингибитор топоизомеразы или ингибитор ангиогенеза.

Терапевтические агенты, которые можно вводить в комбинации с FAPспецифичным агентом, описанным В настоящем документе, включают химиотерапевтические агенты. Таким образом, в некоторых вариантах реализации указанный способ или лечение включает введение FAP-специфичного агента согласно настоящему изобретению в комбинации с химиотерапевтическим агентом или в комбинации со смесью химиотерапевтических агентов. Лечение FAPспецифичным агентом может происходить до, одновременно с или после введения химиотерапевтических агентов. Комбинированное введение может включать совместное введение в одном фармацевтическом составе либо с использованием отдельных составов, или последовательное введение в любом порядке, но, как обеспечивающего течение периода времени, одновременное осуществление биологической активности всех активных агентов. Схемы подготовки и введения таких химиотерапевтических агентов можно применять в соответствии с инструкциями производителей или в соответствии с эмпирическим определением специалистом-практиком. Схемы подготовки и введения таких

химиотерапевтических агентов также описаны в The Chemotherapy Source Book, 4.sup.th Edition, 2008, M. C. Perry, Editor, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa.

5

10

15

20

25

30

Химиотерапевтические агенты, которые можно применять в настоящем изобретении, включают алкилирующие агенты, например, тиотепу алкилсульфонаты, бусульфан, циклофосфамид (CYTOXAN); например, импросульфан и пипосульфан; азиридины, например, бензодопу, карбоквон, метредопу и уредопу; этиленимины и метиламины, включая альтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентиофосфорамид триметилолмеламин; аналоги азотистого иприта, например, хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, гидрохлорид оксида мехлорэтамина, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урациловый иприт; производные нитрозомочевины, например, кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин, ранимустин; антибиотики, например, аклациномицин, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, калихеамицин, карабицин, карминомицин, карцинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин, эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, микофеноловую марцелломицин, митомицины, кислоту, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, порфиромицин, пуромицин, квеламицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностатин, зорубицин; антиметаболиты, например, метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, например, деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметрексат; аналоги пурина, например, флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги анцитабин, азацитидин, пиримидина, например, 6-азауридин, кармофур, цитозинарабинозид, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин, 5-FU; андрогены, например, калустерон, пропионат дромостанолона, эпитиостанол, мепитиостан, тестолактон; антиадреналовые средства, например, аминоглутетимид, митотан, трилостан; пополнители фолиевой кислоты, например, фолиниевую кислоту; ацеглатон; гликозид альдофосфамида; аминолевулиновую кислоту; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; элформитин; ацетат эллиптиния; этоглюцид; нитрат галлия; гидроксимочевину; митоксантрон; лентинан; лонидамин; митогуазон; мопидамол; нитракрин;

пентостатин; фенамет; пирарубицин; подофиллиновую кислоту; 2-этилгидразид; прокарбазин; РЅК; разоксан; сизофуран; спирогерманий; тенуазоновую кислоту; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; уретан; виндезин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид (Ara-С); таксоиды, например, паклитаксел (таксол) и доцетаксел (таксотер); хлорамбуцил; гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; аналоги платины, например, цисплатин и карбоплатин; винбластин; платину; этопозид (VP-16); ифосфамид; митомицин С; митоксантрон; винкристин; винорелбин; навельбин; новантрон; тенипозид; дауномицин; аминоптерин; ибандронат; СРТ11; ингибитор топоизомеразы RFS дифторметилорнитин (ДМФО); ретиноевую кислоту; эсперамицины; капецитабин (кселоду); и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из агентов, указанных выше, но не ограничиваются ими. Химиотерапевтические агенты также включают антигормональные агенты, которые действуют, регулируя или ингибируя действие гормонов на опухоли, например, антиэстрогены, включая, например, тамоксифен, ралоксифен, 4(5)-имидазолы, ингибирующие ароматазу, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и торемифен (Fareston); и антиандрогены, например, флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гозерелин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных агентов. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой цисплатин. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой карбоплатин.

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации способов, описанных в настоящем химиотерапевтический агент представляет собой ингибитор документе, Ингибиторы собой топоизомеразы. топоизомеразы представляют химиотерапевтические агенты, мешающие действию фермента топоизомеразы (например, топоизомеразы I или II). Ингибиторы топоизомеразы включают гидрохлорид доксорубицина, цитрат даунорубицина, гидрохлорид митоксантрона, актиномицин D, этопозид, гидрохлорид топотекана, тенипозид (VM-26) и иринотекан, а также фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из них, но не ограничиваются ими. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой иринотекан.

В некоторых вариантах реализации указанный химиотерапевтический агент представляет собой антиметаболит. Антиметаболит - это химическое вещество со структурой, сходной со структурой метаболита, необходимой для нормальных биохимических реакций, но достаточно отличающейся для того, чтобы создавать помехи для одной или нескольких нормальных функций клеток, например, деления клеток. Антиметаболиты включают гемцитабин, фторурацил, капецитабин, метотрексат натрия, ралитрексед, пеметрексед, тегафур, арабинозид цитозина, тиогуанин, 5-азацитидин, 6-меркаптопурин, азатиоприн, 6-тиогуанин, пентостатин, фосфат флударабина и кладрибин, а также фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из них, но не ограничиваются ими. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой гемцитабин.

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации способов, описанных в настоящем документе, химиотерапевтический агент представляет собой антимитотический агент, включая агенты, связывающие тубулин, но не ограничиваясь ими. В некоторых вариантах реализации указанный агент представляет собой таксан. В некоторых вариантах реализации указанный агент представляет собой паклитаксел или доцетаксел или фармацевтически приемлемую соль, кислоту или производное паклитаксела или доцетаксела. В некоторых вариантах реализации указанный агент представляет собой паклитаксел (таксол), доцетаксел (таксотер), паклитаксел, связанный с альбумином (наб-паклитаксел; абраксан), DHA-паклитаксел или PGпаклитаксел. В некоторых альтернативных вариантах реализации указанный антимитотический агент содержит алкалоид барвинка, например, винкристин, винбластин, винорелбин или виндезин или их фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные. В некоторых вариантах реализации антимитотический агент представляет собой ингибитор кинезина Eg5 или ингибитор митотической киназы, например, Aurora A или Plk1. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой паклитаксел. В вариантах реализации дополнительный терапевтический представляет собой наб-паклитаксел.

В некоторых вариантах реализации способов, описанных в настоящем документе, дополнительный терапевтический агент содержит такой агент, как низкомолекулярное соединение. Например, лечение может включать

комбинированное введение FAP-специфичного агента согласно настоящему изобретению с низкомолекулярным соединением, действующим как ингибитор против опухоль-ассоциированных антигенов, включая EGFR, HER2 (ErbB2) и/или VEGF, но не ограничиваясь ими. В некоторых вариантах реализации FAP-специфичный агент согласно настоящему изобретению, вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы, выбранным из группы, состоящей из гефитиниба (IRESSA), эрлотиниба (тарцева), сунитиниба (сутент), лапатаниба, вандетаниба (ZACTIMA), AEE788, CI-1033, цедираниба (RECENTIN), сорафениба (нексавар) и пазопаниба (GW786034B). В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент содержит ингибитор mTOR.

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации способов, описанных в настоящем документе, дополнительный терапевтический агент представляет низкомолекулярное соединение, ингибирующее путь в раковых стволовых клетках. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор пути Notch. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор пути WNT. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор пути ВМР. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор пути Нірро. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор пути mTOR/AKR. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор пути RSPO/LGR.

В некоторых вариантах реализации способов, описанных в настоящем документе, дополнительный терапевтический агент содержит биологическую Например, лечение молекулу, например, антитело. может включать комбинированное введение FAP-специфичного агента согласно настоящему изобретению с антителами против опухоль-ассоциированных антигенов, включая антитела, связывающие EGFR, HER2/ErbB2 и/или VEGF, но не ограничиваясь ими. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой антитело, специфичное по отношению к маркеру раковых В реализации дополнительный стволовых клеток. некоторых вариантах терапевтический агент представляет собой антитело, связывающее компонент пути

Notch. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой антитело, связывающее компонент пути WNT. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой антитело, ингибирующее путь в раковых стволовых клетках. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор пути Notch. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор пути WNT. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор пути ВМР. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический представляет собой антитело, ингибирующее сигнальный путь бета-катенина. В реализации дополнительный некоторых вариантах терапевтический представляет собой антитело, являющееся ингибитором ангиогенеза (например, антитело против VEGF или рецептора VEGF). В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой бевацизумаб (авастин), рамуцирумаб, трастузумаб (герцептин), пертузумаб (OMNITARG), панитумумаб (VECTIBIX), нимотузумаб, залутумумаб или цетуксимаб (эрбитукс).

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации способов, описанных в настоящем документе, дополнительный терапевтический агент представляет собой антитело, модулирующее иммунный ответ. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой антитело против PD-1, антитело против LAG-3, антитело против CTLA-4, антитело против TIM-3 или антитело против TIGIT.

Кроме того, лечение FAP-специфичным агентом, описанным в настоящем документе, может включать комбинированное лечение другими биологическими молекулами, например, одним или более цитокинов (например, лимфокинов, интерлейкинов, факторов некроза опухоли и/или факторов роста), или может сопровождаться хирургическим удалением опухолей, удалением раковых клеток или любой другой терапией, которую лечащий врач считает необходимой. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой агент, стимулирующий иммунный ответ.

В некоторых вариантах реализации способов, описанных в настоящем документе, FAP-специфичный агент можно объединять с фактором роста, выбранным из группы, состоящей из: адреномедуллина (AM), ангиопоэтина (Ang),

ВМР, BDNF, EGF, эритропоэтина (EPO), FGF, GDNF, ГКСФ, ГМКСФ, GDF9, HGF, HDGF, IGF, фактора, стимулирующего миграцию, миостатина (GDF-8), NGF, нейротрофинов, PDGF, тромбопоэтина, TGF-α, TGF-β, TNF-α, VEGF, P1GF, ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-12, ИЛ-15 и ИЛ-18.

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации способов, описанных в настоящем документе, дополнительный терапевтический агент представляет собой агент, стимулирующий иммунный ответ. В некоторых вариантах реализации агент, стимулирующий иммунный ответ, выбран из группы, состоящей из гранулоцитарномакрофагального колониестимулирующего фактора (ГМКСФ), макрофагального колониестимулирующего фактора (МКСФ), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (ГКСФ), интерлейкина 3 (ИЛ-3), интерлейкина 12 (ИЛ-12), интерлейкина 1 (ИЛ-1), интерлейкина 2 (ИЛ-2), В7-1 (СD80), В7-2 (СD86), лиганда 4-1ВВ, антитела против СD3, антитела против СТLА-4, антитела против ТІМ-3.

В некоторых вариантах реализации способов, описанных в настоящем документе, агент, стимулирующий иммунный ответ, выбран из группы, состоящей из: модулятора активности PD-1, модулятора активности PD-L2, модулятора активности CTLA-4, модулятора активности CD28, модулятора активности CD80, модулятора активности CD86, модулятора активности 4-1BB, модулятора активности ОХ40, модулятора активности KIR, модулятора активности Tim-3, модулятора активности LAG3, модулятора активности CD27, модулятора активности CD40, модулятора активности GITR, модулятора активности TIGIT, модулятора активности CD20, модулятора активности CD96, модулятора активности IDO1, цитокина, хемокина, интерферона, интерлейкина, лимфокина, члена семейства факторов некроза опухоли (ФНО) и иммуностимулирующего олигонуклеотида.

В некоторых вариантах реализации способов, описанных в настоящем документе, агент, стимулирующий иммунный ответ, выбран из группы, состоящей из: антагониста PD-1, антагониста PD-L2, антагониста CTLA-4, антагониста CD80, антагониста CD86, антагониста KIR, антагониста Tim-3, антагониста LAG3, антагониста TIGIT, антагониста CD20, антагониста CD96 и/или антагониста IDO1.

В некоторых вариантах реализации способов, описанных в настоящем документе, антагонист PD-1 представляет собой антитело, специфично связывающее

РD-1. В некоторых вариантах реализации антитело, связывающее PD-1, представляет собой кейтруду (МК-3475), пидилизумаб (СТ-011), ниволумаб (ОРDIVO, BMS-936558, MDX-1106), MEDI0680 (АМР-514), REGN2810, BGB-A317, PDR-001 или STI-A1110. В некоторых вариантах реализации антитело, связывающее PD-1, описано в публикации PCT WO 2014/179664, например, антитело, идентифицированное как APE2058, APE1922, APE1923, APE1924, APE 1950 или APE1963, или антитело, содержащее CDR-области любого из этих антител. В других вариантах реализации антагонист PD-1 представляет собой гибридный белок, включающий PD-L2, например, AMP-224. В других вариантах реализации антагонист PD-1 представляет собой пептидный ингибитор, например, AUNP-12.

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации антагонист СТLA-4 представляет собой антитело, специфично связывающее СТLA-4. В некоторых вариантах реализации антитело, связывающее СТLA-4, представляет собой ипилимумаб (YERVOY) или тремелимумаб (CP-675,206). В некоторых вариантах реализации антагонист СТLA-4 представляет собой гибридный белок СТLA-4, например, КАНR-102.

В некоторых вариантах реализации антагонист LAG3 представляет собой антитело, специфично связывающее LAG3. В некоторых вариантах реализации антитело, связывающее LAG3, представляет собой IMP701, IMP731, BMS-986016, LAG525 и GSK2831781. В некоторых вариантах реализации антагонист LAG3 включает растворимый рецептор LAG3, например, IMP321.

В некоторых вариантах реализации антагонист KIR представляет собой антитело, специфично связывающее KIR. В некоторых вариантах реализации антитело, связывающее KIR, представляет собой лирилумаб.

В некоторых вариантах реализации агент, стимулирующий иммунный ответ, выбран из группы, состоящей из: агониста CD28, агониста 4-1ВВ, агониста ОХ40, агониста CD27, агониста CD80, агониста CD86, агониста CD40 и агониста GITR. В некоторых вариантах реализации изобретения агонист ОХ40 включает лиганд ОХ40 или его ОХ40-связывающий фрагмент. Например, агонист ОХ40 может представлять собой MEDI6383. В некоторых вариантах реализации агонист ОХ40 представляет собой антитело, специфично связывающее ОХ40. В некоторых вариантах реализации антитело, связывающее ОХ40, представляет собой MEDI6469, MEDI0562 или MOXR0916 (RG7888). В некоторых вариантах реализации агонист ОХ40 представляет собой вектор (например, экспрессирующий вектор или вирус,

например, аденовирус), способный экспрессировать лиганд ОХ40. В некоторых вариантах реализации ОХ40-экспрессирующий вектор представляет собой Delta-24-RGDOX или DNX2401.

В некоторых вариантах реализации агонист 4-1ВВ (CD137) представляет собой связывающую молекулу, например, антикалин. В некоторых вариантах реализации антикалин представляет собой PRS-343. В некоторых вариантах реализации агонист 4-1ВВ представляет собой антитело, специфично связывающее 4-1ВВ. В некоторых вариантах реализации антитело, связывающее 4-1ВВ, представляет собой PF-2566 (PF-05082566) или урелумаб (BMS-663513).

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации агонист CD27 представляет собой антитело, специфично связывающее CD27. В некоторых вариантах реализации антитело, связывающее CD27, представляет собой варлилумаб (CDX-1127).

В некоторых вариантах реализации агонист GITR содержит лиганд GITR или его GITR-связывающий фрагмент. В некоторых вариантах реализации агонист GITR представляет собой антитело, специфично связывающее GITR. В некоторых вариантах реализации антитело, связывающее GITR, представляет собой TRX518, МК-4166 или INBRX-110.

В некоторых вариантах реализации стимуляторы иммунного ответа включают цитокины, например, хемокины, интерфероны, интерлейкины, лимфокины и члены семейства факторов некроза опухоли (ФНО), но не ограничиваются ими. В некоторых вариантах реализации агенты, стимулирующие иммунный ответ, включают иммуностимулирующие олигонуклеотиды, например, динуклеотиды СрG.

В некоторых вариантах реализации изобретения агент, стимулирующий иммунный ответ, включает антитела против PD-1, антитела против PD-L2, антитела против CTLA-4, антитела против CD28, антитела против CD80, антитела против CD86, антитела против 4-1BB, антитела против OX40, антитела против KIR, антитела против Tim-3, антитела против LAG3, антитела против CD27, антитела против CD40, антитела против GITR, антитела против TIGIT, антитела против CD20, антитела против CD96 или антитела против IDO1, но не ограничивается ими.

В некоторых вариантах реализации FAP-специфичные агенты, описанные в настоящем документе, можно применять по отдельности или в сочетании с лучевой терапией.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAPспецифичные агенты, описанные в настоящей заявке, можно применять по
отдельности или в сочетании с адресными терапевтическими средствами. Примеры
адресных терапевтических средств включают: гормональные терапевтические
средств, ингибиторы передачи сигнала (например, ингибиторы EGFR, например,
цетуксимаб (эрбитукс) и эрлотиниб (тарцева)); ингибиторы HER2 (например,
трастузумаб (герцептин) и пертузумаб (Perjeta)); ингибиторы BCR-ABL (например,
иматиниб (Gleevec) и дазатиниб (Sprycel)); ингибиторы ALK (например, кризотиниб
(Xalkori) и церитиниб (Zykadia)); ингибиторы BRAF (например, вемурафениб
(Zelboraf) и дабрафениб (Tafinlar)), модуляторы экспрессии генов, индукторы
апоптоза (например, бортезомиб (Velcade) и карфилзомиб (Кургоlis)), ингибиторы
ангиогенеза (например, бевацизумаб (авастин) и рамуцирумаб (Сугатара),
моноклональные антитела, присоединенные к токсинам (например, брентуксимаб
ведотин (Аdсетрис) и адо-трастузумаб эмтанзин (Kadcyla)).

5

10

15

20

25

30

некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAPспецифичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании с агонистом STING, например, в составе фармацевтической композиции. Циклические динуклеотиды (CDN) циклический ди-АМФ (продуцируемый monocytogenes и другими бактериями) и его аналоги циклический-ди-ГМФ и циклический-ГМФ-АМФ - распознаются клеткой-хозяином как молекулярная структура, ассоциированная с патогеном (РАМР), связывающаяся с рецептором распознавания патогенов (PRR), известным как стимулятор генов интерферона (STING). STING представляет собой адаптерный белок в цитоплазме клеток млекопитающих-хозяев, активирующий TANK-связывающую киназу (ТВК1)-IRF3 и центральный компонент сигнальных путей NF-каппа-В, что приводит к индукции ИФН-бета и других продуктов гена, интенсивно активирующих врожденный иммунитет. В настоящее время признается, что STING является компонентом пути цитозольного контроля у хозяина, воспринимающим инфекцию внутриклеточными патогенами и в ответ индуцирующим продукцию ИФН-а, что приводит к развитию адаптивного протективного патоген-специфического иммунного ответа, включающего как антиген-специфичные CD4+ и CD8+ Т-клетки, так и патогенспецифичные антитела. Патенты США № 7709458 и 7592326; публикации РСТ № WO2007/054279, WO2014/093936, WO2014/179335, WO2014/189805,

WO2015/185565, WO2016/096174, WO2016/145102, WO2017/027645, WO2017/027646 и WO2017/075477 (все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки); и Yan et al., Bioorg. Med. Chem Lett. 18:5631-4, 2008.

5

10

15

20

25

30

некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAPспецифичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании с ингибитором Akt. Типичные ингибиторы АКТ включают GDC0068 (также известный как GDC-0068, ипатасертиб и RG7440), МК-2206, перифозин (также известный как KRX-0401), GSK690693, AT7867, трицирибин, CCT128930, A-674563, PHT-427, Akti-1/2, афуресертиб (также известный как GSK2110183), AT13148, GSK2141795, BAY1125976, упросертиб (также известный как GSK2141795), ингибитор Akt VIII (1,3-дигидро-1-[1-[[4-(6-фенил-1H-имидазо[4,5-g]хиноксалин-7ил)фенил]метил]-4-пиперидинил]-2Н-бензимидазол-2-он), ингибитор X (моногидрохлорид 2-хлор-N,N-диэтил-10Н-феноксазин-10-бутанамина), МК-2206 (8-(4-(1-аминоциклобутил)фенил)-9-фенил-[1,2,4]триазол[3,4-f][-1,6]нафтиридин-3 (2H)-он), упросертиб (N-((S)-1-амино-3-(3,4-дифторфенил)пропан-2-ил)-5-хлор-4-(4-хлор-1-метил-1Н-пиразол-5-ил)фуран-2-карбоксамид), ипатасертиб ((S)-2-(4хлорфенил)-1-(4-((5R,7R)-7-гидрокси-5-метил-6,7-дигидро-5Hциклопента[d]пиримидин-4-ил)пиперазин-1-ил)-3-(изопропиламино)пропан-1-он), **AZD** 5363 (4-пиперидинкарбоксамид, 4-амино-N-[(1S)-1-(4-хлорфенил)-3гидроксипропил]-1-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)), перифозин, GSK690693, GDC-0068, трицирбин, CCT128930, A-674563, PF-04691502, AT7867, милтефозин, PHT-427, хонокиол, трицирибинфосфат и KP372-1A (10-индено[2,1-e]тетразоло[1,5b][1,2,4]триазин-10-он), ингибитор Akt IX (CAS 98510-80-6). Дополнительные ингибиторы AKT включают: АТФ-конкурентные ингибиторы, изохинолин-5-сульфонамиды (например, H-8, H-89, NL-71-101), производные азепана (например, производные (-) -баланола), аминофуразаны (например, GSK690693), гетероциклические кольца (например, 7-азаиндол, производные 6фенилпурина, производные пирроло[2,3-d]пиримидина, CCT128930, аминопирролидин, производные анилинтриазола, производные спироиндолина, AZD5363, A-674563, A-443654), производные фенилпиразола (например, AT7867, афуресертиб AT13148), производные тиофенкарбоксамида (например, (GSK2110183), производное 2-пиримидил-5-амидотиофена (DC120), упросертиб (GSK2141795); аллостерические ингибиторы, например, аналоги 2,3дифенилхиноксалина (например, производные 2,3-дифенилхиноксалина, производное триазоло[3,4-f][1,6]нафтиридин-3(2H)-она (MK-2206)),алкилфосфолипиды (например, эдельфозин (1-О-октадецил-2-О-метил-рац-глицеро-3-фосфохолин, ET-18-OCH3), илмофозин (BM 41.440), милтефозин (гексадецилфосфохолин, HePC), перифозин (D-21266), эруцилфосфохолин (ErPC), эруфозин (ErPC3, эруцилфосфогомохолин), аналоги индол-3-карбинола (например, индол-3-карбинол, 3-хлорацетилиндол, дииндолилметан, диэтил-6-метокси-5,7дигидроиндоло[2,3-b]карбазол-2,10-дикарбоксилат (SR13668), OSU-A9), PH-316, PHT-427), производные сульфонамида (например, производные тиомочевины (например, PIT-1, PIT-2, DM-PIT-1, N-[(1-метил-1H-пиразол-4ил)карбонил]-N'-(3-бромфенил)-тиомочевину), производные пурина (например, трицирибин (TCN, NSC 154020), монофосфатный активный аналог трицирибина (TCN-P), производное 4-аминопиридо[2,3-d]пиримидина API-1, производные 3фенил-3H-имидазо[4,5-b]пиридина, ARQ 092), BAY 1125976, 3-метилксантин, хинолин-4-карбоксамид, 2-[4-(циклогекса-1,3-диен-1-ил)-1Н-пиразол-3-ил]фенол, 3оксотирукаллиновую кислоту, 3-альфа- и 3-бета-ацетокситирукаллиновые кислоты, ацетокситирукаллиновую кислоту; и необратимые ингибиторы, природные продукты, антибиотики, лактохиномицин, френолицин В, калафунгин, медермицин, Вос-Phe-винилкетон, 4-гидроксиноненаль (4-HNE), производные 1,6нафтиридинона и производные имидазо-1,2-пиридина.

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAP-специфичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании с ингибитором MEK. Типичные ингибиторы MEK включают AZD6244 (селуметиниб), PD0325901, GSK1120212 (траметиниб), U0126-EtOH, PD184352, RDEA119 (рафаметиниб), PD98059, BIX 02189, MEK162 (биниметиниб), AS-703026 (пимасертиб), SL-327, BIX02188, AZD8330, TAK-733, кобиметиниб и PD318088.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAPспецифичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании как с антрациклином, например, доксорубицином, так и с циклофосфамидом, включая пегилированный липосомальный доксорубицин.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAPспецифичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании как с антителом против CD20, так и с антителом против CD3 или биспецифичным агентом, связывающим CD20/CD3 (включая CD20/CD3 BiTE).

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAP-специфичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании с ингибитором CD73 и/или ингибитором CD39. Эти ингибиторы могут представлять собой CD73-связывающие агенты или CD39-связывающие агенты (например, антитела, фрагменты антител или миметики антител), ингибирующие активность эктонуклеозидазы. Ингибитор может представлять собой низкомолекулярный ингибитор активности эктонуклеозидазы, например, гидрат тринатриевой соли 6-N,N-диэтил-β-γ-дибромметилен-D-аденозин-5'-трифосфата, PSB069, PSB 06126,

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAPспецифичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании с ингибитором поли-АДФ-рибозополимеразы (PARP). Типичные ингибиторы PARP включают олапариб, нирапариб, русапариб, талазопариб, велипариб, СЕР9722, МК4827 и BGB-290.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAPспецифичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании с онколитическим вирусом. Типичный онколитический вирус представляет собой талимоген лахерпарепвек.

В некоторых вариантах реализации настоящего описания FAP-специфичный агент согласно настоящему описанию вводят в сочетании с антагонистом CSF-1, например, агентом, связывающимся с CSF-1 или CSF1R и ингибирующим взаимодействие CSF-1 с CSF1R на макрофагах. Типичные антагонисты CSF-1 включают эмактузумаб и FPA008.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAP-специфичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании с антителом против CD38. Типичные антитела против CD39 включают даратумумаб и изатуксимаб.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAP-специфичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании с антителом против CD40. Типичные антитела против CD40 включают селикрелумаб и дацетузумаб.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAPспецифичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании с ингибитором киназы анаплатической лимфомы (ALK). Типичные ингибиторы ALK включают аллектиниб, кризотиниб и церитиниб.

5

10

15

20

25

30

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAP-специфичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании с ингибитором множественных киназ, ингибирующим один или более рецепторов из группы, состоящей из членов семейства VEGFR, PDGFR и FGFR, или ингибитором антиангиогенеза. Типичные ингибиторы включают акситиниб, цедираниб, линифаниб, мотезаниб, нинтеданиб, пазопаниб, понатиниб, регорафениб, сорафениб, сунитиниб, тивозаниб, ваталаниб, LY2874455 или SU5402.

некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAPспецифичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании с одной или более вакцинами, предназначенными для стимуляции иммунного ответа на один предопределенных антигенов. Антиген(ы) онжом непосредственно в организм индивида или экспрессировать в организме индивида, например, из вакцины на основе опухолевых клеток (например, GVAX), которая может быть аутологичной или аллогенной, дендритной клеточной вакцины, ДНКвакцины, РНК-вакцины, вакцины на основе вируса, бактериальной или дрожжевой вакцины (например, Listeria monocytogenes или Saccharomyces cerevisiae) и т. д. См., например, Guo et al., Adv. Cancer Res. 2013; 119: 421-475; Obeid et al., Semin Oncol. 2015 August; 42(4): 549-561. Антиген-мишень также может представлять собой фрагмент или гибридный полипептид, содержащий иммунологически активный фрагмент антигенов, перечисленных в таблице.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAP-специфичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании с одним или более противорвотными средствами, включая: казопитант (GlaxoSmithKline), нетупитант (MGI-Helsinn) и другие антагонисты рецептора NK-1, палоносетрон (продается компанией MGI Pharma под названием Aloxi), апрепитант (продается компанией Merck and Co.; Рауэй, штат Нью-Джерси, США под названием Emend), дифенгидрамин (продается компанией Pfizer; Нью-Йорк, штат Нью-Йорк, США под названием Benadryl), гидроксизин (продается компанией Pfizer; Нью-Йорк, штат Нью-Йорк, США под названием Аtarax), метоклопрамид (продается компанией АН

Robins Co.,; Ричмонд, штат Виргиния, США под названием Reglan), лоразепам (продается компанией Wyeth; Мэдисон, штат Нью-Джерси, США под названием Ativan), алпразолам (продается компанией Pfizer; Нью-Йорк, штат Нью-Йорк, США под названием Xaxan). галоперидол (продается компанией Ortho-McNeil; Рауэй, штат Нью-Джерси, США под названием Haldol), дроперидол (инапсин), дронабинол (продается компанией Solvay Pharmaceuticals, Inc.; Мариетта, штат Джорджия, США под названием Marinol), дексаметазон (продается компанией Merck and Co.; Рауэй, штат Нью-Джерси, США под названием Decadron), метилпреднизолон (продается компанией Pfizer; Нью-Йорк, штат Нью-Йорк, США под названием Medrol), прохлорперазин (продается компанией Glaxosmithkline; Исследовательский Треугольник, штат Северная Каролина, США под названием Compazine), гранисетрон (продается компанией Hoffmann-La Roche Inc.; Натли, штат Нью-Джерси, США под названием Kytril), ондансетрон (продается компанией Glaxosmithkline; Исследовательский Треугольник, штат Северная Каролина, США под названием Zofran), доласетрон (продается компанией Sanofi-Aventis; Нью-Йорк, штат Нью-Йорк, США под названием Anzemet), трописетрон (продается компанией Newis; Ист-Гановер, штат Нью-Джерси, США под названием Navanoban), но не ограничиваясь ими.

5

10

15

20

25

30

Другие побочные эффекты лечения рака включают дефицит эритроцитов и лейкоцитов. Соответственно, в некоторых вариантах реализации настоящего описания FAP-специфичный агент вводят в сочетании с агентом, который лечит или предотвращает такой дефицит, например, филграстимом, ПЭГ-филграстимом, эритропоэтином, эпоэтином альфа или дарбэпоэтином альфа.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения FAP-специфичный агент согласно настоящему изобретению вводят в сочетании с противораковой лучевой терапией. Например, в некоторых вариантах реализации настоящего изобретения лучевая терапия представляет собой наружную лучевую терапию (ЕВТ): способ доставки луча высокоэнергетического рентгеновского излучения к месту расположения опухоли. Луч генерируют вне пациента (например, с помощью линейного ускорителя) и нацеливают на область опухоли. Это рентгеновское излучение может разрушить раковые клетки, а тщательное планирование лечения позволяет сберечь окружающие нормальные ткани. Внутри организма пациента источники радиоактивного излучения отсутствуют. В

некоторых вариантах реализации настоящего изобретения лучевая терапия представляет собой терапию протонным пучком - тип конформной терапии, при котором выполняют бомбардировку пораженной ткани протонами вместо рентгеновских лучей. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения лучевая терапия представляет собой конформную лучевую терапию с внешним источником луча - процедуру, использующую передовые технологии для адаптации лучевой терапии к структурам организма индивида. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения лучевая терапия представляет собой брахитерапию - временное размещение радиоактивных материалов в организме, обычно используемое для введения дополнительной дозы или усиления излучения в какой-либо области.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Синтез соединений 4613В и 4613С

5

10

Схема 1. Реагенты и условия: i. L-борРго-рп.HCl, HATU, ДИЭА; ii. 4 н. HCl в диоксане; iii. 6-(N'-Вос-гидразино)-никотиновая кислота (для 3a) или 6-(N'-Вос-гидразино)-бензойная кислота (для 3b), HATU, ДИЭА; iv. BCl₃ в дихлорметане, - 78°C; v. IRDye 800CW NHS Ester, буфер рН 7,8.

20 Экспериментальный раздел

Реагенты, полученные из коммерческих источников, использовали без дополнительной очистки. Синтез L-борРго-рп выполняли с использованием ранее описанного способа синтеза (TS. J. Coutts etc. J. Med. Chem. 1996, 39, 2087 - 2094). Все целевые соединения очищали с помощью ОФ-ВЭЖХ с использованием полупрепаративной системы Varian с ОФ-ВЭЖХ-колонкой Discovery C18 569226-U. Подвижную фазу, как правило, получали путем смешивания воды (0,1% ТФУК) с ацетонитрилом (0,08% ТФУК) в градиенте концентраций. Значения чистоты, определенные с помощью ВЭЖХ-анализа, составляли более 95%. Масс-спектры и времена удерживания при ВЭЖХ регистрировали в системе Hewlett Packard HP ЖХ/МСО с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм), используя колонку для ОФ-ВЭЖХ Eclipse Plus C18 (4,6 x 50 мм, 1,8 мкм) с градиентом растворителя А) вода (0,1% ТФУК) и В) ацетонитрил (0,08% ТФУК) при 0,5 мл/мин. Если не указано иное, все времена удерживания ВЭЖХ получали с учетом 2% градиента элюента В в течение первых 3 мин, затем от 2% до 98% В в течение 6 мин, которую поддерживали в течение следующих 5 мин. Спектры ¹H С ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker Avance 300 МГц с использованием 5 мм обратного многоядерного зонда. Химические сдвиги регистрировали в миллионных долях (δ) относительно DSS (в D_2O).

20 Синтез соединения 2

5

10

15

25

30

К перемешиваемому раствору *N*-Вос-*D*-Ala-OH (1, 1,9 г, 10 ммоль) в безводном ДМФ (40 мл) добавляли L-борРго-pn.HCl (3,0 г, 10,5 ммоль), НАТU (4,0 г, 10,5 ммоль) и ДИЭА (4,0 мл, 23 ммоль) при охлаждении на ледяной бане. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, а затем конденсировали в вакууме. Остаток растворяли с этилацетатом (150 мл), последовательно промывали 0,1 н. КНSО₄ (3 х 40 мл), водн. NaHCO₃ (3 х 40 мл), насыщенным раствором хлорида натрия (30 мл). Органическую фазу сушили над безводным MgSO₄, фильтровали и упаривали под вакуумом, получая N-Вос-D-Ala-L-борРго-pn, который затем добавляли к раствору 4 н. HCl в диоксане (30 мл) при охлаждении на ледяной бане. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, а затем конденсировали в вакууме. Остаток совместно упаривали с дихлорметаном (3 х 30 мл) в вакууме до полного высыхания. Таким образом получали соединение 2 в виде белого порошка (3,3 г, 92% за две стадии).

Синтез соединения 3860

5

10

15

25

30

К перемешиваемому раствору 6-(N'-Вос-гидразино)-никотиновой кислоты (253 мг, 1 ммоль) в безводном ДМ Φ (4 мл) добавляли соединение **2** (375 мг, 1,05 ммоль), НАТU (400 мг, 10,5 ммоль) и ДИЭА (0,40 мл, 2,3 ммоль) при охлаждении на ледяной бане. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, а затем конденсировали в вакууме. Остаток растворяли в дихлорметане (50 мл), последовательно промывали водн. NaHCO₃ (3 х 10 мл), насыщенным раствором хлорида натрия (10 мл). Органическую фазу сушили над безводным MgSO₄, фильтровали и упаривали под вакуумом, получая соединение **3a**, которое затем растворяли в сухом дихлорметане (5,0 мл) и охлаждали до -78 °C, добавляя по каплям BCl₃ (1 M в дихлорметане, 5,0 мл). Смесь перемешивали при -78°C в течение 1 часа и затем концентрировали в вакууме. Остаток разделяли между эфиром (5 мл) и водой (5 мл). Водный слой дважды промывали дополнительными порциями эфира (2 х 5 мл), концентрировали под вакуумом и дополнительно очищали с помощью полупрепаративной ОФ-ВЭЖХ, получая соединение 3860 в виде белого порошка (280 мг, 65%). ЖХ-МС (ИЭР⁺) m/z (относительная интенсивность): 322,1 ([M + H]⁺, 95); 304,1 ([M - $H_2O + H_1^{\dagger}$, 100); tr = 7,4 muh.

20 Синтез соединения 4613В

К перемешиваемому раствору IRDye 800CW NHS Ester (11,7 мг, 0,01 ммоль) в фосфатном буфере с рН 7,8 (10 мл) добавляли соединение **3860** (11 мг, 0,03 ммоль) при комнатной температуре. Значение рН при необходимости корректировали с помощью 5% NaHCO₃. Полученную смесь перемешивали при этой температуре в течение 3 часов и очищали с помощью полупрепаративной ОФ-ВЭЖХ, получая соединение **4613B** в виде пушистого зеленого порошка (11 мг, 84%). ЖХ-МС (ИЭР⁺) m/z (относительная интенсивность): 1288,1 ([M - H₂O + H]⁺, 25), 635,8 ([(M - 2 x H₂O)/2 + H]⁺, 100); tr = 7,7 мин. 1 H ЯМР (D₂O): δ 1,10 - 1,35 (m, 17 H), 1,50 - 2,02 (m, 14H), 2,20 - 2,80 (m, 6H), 2,88 - 2,93 (m, 3H), 3,52 - 3,55 (m, 2H), 3,88 - 3,91 (m, 4H), 4,58 - 4,61 (m, 1H), 6,00 - 6,09 (m, 1H), 7,12 - 7,21 (m, 5H), 7,67 - 7,76 (m, 9H), 8,25 (d, J = 9,3 Γ H, 1 H), 8,40 (s, 1H).

Синтез соединения 4634

Соединение **4634** получали взаимодействием 6-(N'-Вос-гидразин)-бензойной кислоты с соединением **2** способом, аналогичным способу получения **3860**. ЖХ-МС (ИЭР⁺) m/z (относительная интенсивность): 605,5 ([2 x (M - H₂O) + H]⁺, 100), 303,3 ([M - H₂O + H]⁺, 67); tr = 7,7 мин.

Синтез соединения 4613С

5

10

15

Соединение **4613С** получали взаимодействием IRDye 800CW NHS Ester с **4634** способом, аналогичным способу получения **4613B** из **3860**. ЖХ-МС (ИЭР $^+$) m/z (относительная интенсивность): 1287,6 ([M - H₂O + H] $^+$, 88), 635,6 ([(M - 2 x H₂O)/2 + H] $^+$, 100); tr = 7,9 мин.

Пример 2: Синтез соединений 4536В, 6481 и 5183

Схема 2. Реагенты и условия: і. Три-трет-бутил 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраацетат, ГБТУ, НОВt, ДИЭА; іі. ТФУК-СН₂Cl₂ (1:4), затем H_2O ; ііі. $CuCl_2$; iv. $GdCl_3$.

Синтез соединения 4536В

К перемешиваемому раствору три-трет-бутил 1,4,7,10-тетраазациклододекана-1,4,7,10-тетраацетата (57 мг, 0,10 ммоль) в безводном ДМФ (1 мл) добавляли ГБТУ (40 мг, 0,105 ммоль) и ДИЭА (40 мкл, 0,23 ммоль) при охлаждении на ледяной бане. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Соединение 4634 (40 мг, 0,11 ммоль) добавляли к вышеуказанному раствору и В течение еще 2 часов. Смесь перемешивали очищали посредством полупрепаративной ОФ-ВЭЖХ, сушили, а затем повторно растворяли в дихлорметане (0,5 мл). Добавляли ТФУК (2 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После удаления ТФУК и дихлорметана добавляли воду (2 мл) и перемешивали полученную смесь в течение 1 часа при комнатной температуре, получая неочищенный продукт, который непосредственно очищали с помощью полупрепаративной ОФ-ВЭЖХ, что давало 85 мг соединения **4536В** в виде белого порошка. ЖХ-МС (ИЭР⁺) m/z (относительная интенсивность): 689,2 ([M - H₂O + H]⁺, 100); tr = 7,4 мин. ¹H ЯМР (D₂O): δ 1,43 (d, J = 7,0 Γ ц, 3 H), 1,65 -1,71 (m, 1 H), 2,00-2,15 (m, 3H), 2,85-3,90 (m, 26H), 6,93-7,00 (m, 2H), 7,71-7,78(m, 2H).

Синтез соединения 6481

5

10

15

20

25

30

Соединение **4536B** (6 мг) растворяли в воде (1,0 мл). Добавляли CuCl₂ (1,0 М в воде, 20 мкл). Полученную смесь перемешивали в течение получаса и затем очищали с помощью полупрепаративной ВЭЖХ, элюируя 10-50% В (растворитель А: 0,05% ТФУК в воде; растворитель В: ацетонитрил). Целевую фракцию собирали и лиофилизировали с получением 4 мг соединения **6481** в виде порошка синезеленого цвета. ЖХ-МС (ИЭР⁺) m/z (относительная интенсивность): 750,9 ([М - H₂O + H]⁺, 49), 745,7 ([М - H₂O - H]⁺, 29), 377,5 ([(М - 2 x H₂O)/2 + H]⁺, 100); tr = 7,4 мин.

Синтез соединения 5183

Соединение **4536B** (6 мг) растворяли в воде (1,0 мл). Добавляли GdCl₃ (1,0 М в воде, 20 мкл). Полученную смесь доводили до рН 6 с помощью 1 н. NH₃.H₂O и перемешивали в течение получаса, а затем очищали с помощью полупрепаративной ВЭЖХ, элюируя 10%-50% В (растворитель A: 0,05% ТФУК в воде; растворитель В: ацетонитрил). Целевую фракцию собирали и лиофилизировали с получением 4 мг соединения **5183** в виде белого порошка. ЖХ-МС (ИЭР⁺) m/z (относительная

интенсивность): 843,9 ([M - $H_2O + H]^+$, 32), 421,8 ([(M - $2 \times H_2O)/2 + H]^+$, 100); tr = 9,1 мин (0-3 мин: 5% B; 3-9 мин: 5-15% B; 9-14 мин: 15-25% B).

Пример 3: Синтез соединений 6486S-6489S, 6486-6489

5 **Схема 3.** Реагенты и условия: і. Вос-NH-(CH₂)n-CO₂H, HATU, ДИЭА; іі. 4 н. HCl в диоксане; ііі. Три-трет-бутил-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраацетат, ГБТУ, HOBt, ДИЭА; іv. ТФУК-CH₂Cl₂ (1:4), затем H₂O; v. CuCl₂.

Синтез соединения 6487Ѕ

10

Соединение **4634** ws сначала присоединяли к N-Boc-Gly-OH, а затем удаляли защитную группу Вос в тех же условиях, что и при получении соединения **2** из Вос-D-Ala-OH и борРго-рп.HCl; а затем присоединяли к три-трет-бутил-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраацетату и удаляли все защитные

сложноэфирные группы -OtBu в тех же условиях, что и при получении соединения **4536B** из **4634**, получая соединение **6487S** в виде белого порошка. ЖХ-МС (ИЭР⁺) m/z (относительная интенсивность): 746,4 ([М - H₂O + H]⁺, 100); tr = 7,4 мин.

Синтез соединения 6487

Соединение **6487** получали из соединения **6487** тем же способом, что и при получении **6481** из **4536B**, в виде порошка сине-зеленого цвета. ЖХ-МС (ИЭР⁺) m/z (относительная интенсивность): 807,5 ([M - H₂O + H]⁺, 30), 802,9 ([M - H₂O - H]⁺, 100); tr = 7,7 мин.

10

5

Синтез соединения 6486\$

Соединение **6486S** получали тем же способом, что и при получении **6487S**, в виде белого порошка. ЖХ-МС (ИЭР $^+$) m/z (относительная интенсивность): 803,3 ([М - $^+$ 100); tr = 7,6 мин.

15

Синтез соединения 6486

Соединение **6486** получали из соединения **6486S** тем же способом, что и при получении **6481** из **4536B**, в виде порошка сине-зеленого цвета. ЖХ-МС (ИЭР $^+$) m/z (относительная интенсивность): 862,7 ([М - $\rm H_2O + \rm H]^+$, 100); tr = 7,7 мин.

20

Синтез соединения 6488\$

Соединение **6488S** получали тем же способом, что и при получении **6487S**, в виде белого порошка. ЖХ-МС (ИЭР⁺) m/z (относительная интенсивность): 762,8 ([М - $\rm H_2O + H]^+$, 100); tr = 7,4 мин.

25

Синтез соединения 6488

Соединение **6488** получали из соединения **6488** тем же способом, что и при получении **6481** из **4536B**, в виде порошка сине-зеленого цвета. ЖХ-МС (ИЭР $^+$) m/z (относительная интенсивность): 822,3 ([М - $\rm H_2O + \rm H]^+$, 100); tr = 7,7 мин.

30

Синтез соединения 6489\$

Соединение **6489S** получали тем же способом, что и при получении **6487S**, в виде белого порошка. ЖХ-МС (ИЭР $^+$) m/z (относительная интенсивность): 774,4 ([М - $^+$ H $_2$ O + $^+$ H $_3$ $^+$, 100); tr = 7,5 мин.

Синтез соединения 6489

5

Соединение **6489** получали из соединения **6489S** тем же способом, что и при получении **6481** из **4536B**, в виде порошка сине-зеленого цвета. ЖХ-МС (ИЭР $^+$) m/z (относительная интенсивность): 836,8 ([M - H $_2$ O + H] $^+$, 100), 832 ([M - H $_2$ O - H] $^+$, 63); tr = 7,6 мин.

Пример 4: Синтез соединений 6572 и 6572СU

Схема 4. Реагенты и условия: i. D-Ala-борРго, НАТU, ДИЭА; ii. 4 н. HCl в диоксане; iii. Три-трет-бутил-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраацетат, ГБТУ, HOBt, ДИЭА; iv. ТФУК-CH₂Cl₂ (1:4), затем H₂O; v. CuCl₂.

Пример 5: Синтез соединений 6521-6522 и 6521СU-6522СU:

Схема 5. Реагенты и условия: i. Gly-OMe, ГБТУ, HOBt, ДИЭА; ii. NaOH; iiia. Val-D-Ala-борРro, HATU, ДИЭА; iiib. Gly-Val-D-Ala-борРro, HATU, ДИЭА; iv. ТФУК- $\mathrm{CH_2Cl_2}$ (1:4), затем $\mathrm{H_2O}$; v. $\mathrm{CuCl_2}$.

5 Пример 6: Синтез соединений 6549 и 6551:

10

Схема 6. Реагенты и условия: i. L-борРго-pn, HATU, ДИЭА; ii. H_2/Pd -C; iii. Cbz-ГАМК-OH, HATU, ДИЭА; iv. H_2/Pd -C; v. Три-трет-бутил-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраацетат, ГБТУ, HOBt, ДИЭА; vi. $T\Phi$ УК-C H_2 Cl₂ (1:4), затем H_2 O; vii. PhB(OH)₂.

Пример 7: Синтез соединений 6555 и 6556:

Схема 7. Реагенты и условия: і. D-Ala-борРго, НАТU, ДИЭА; іі. 4 н. НСl в диоксане; ііі. Три-трет-бутил-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраацетат, ГБТУ, НОВt, ДИЭА; іv. ТФУК-CH₂Cl₂ (1:4), затем H₂O.

Пример 8: Синтез соединений 6508-6509 и 6508СU-6509СU:

Схема 8. Реагенты и условия: i. D-Ala-борРго, НАТU, ДИЭА; ii. ТФУК в дихлорметане; iii. Три-трет-бутил-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраацетат, ГБТУ, НОВt, ДИЭА; iv. ТФУК-CH₂Cl₂ (1:4), затем H₂O; v. CuCl₂.

В таблице 2 представлены соединения, приведенные в примерах 1-9.

PID	Соединение	Химическая структура	ЖХ-МС (ИЭР ⁺) <i>m/z</i> (относительная интенсивность); tr
6572	DOTA-PABA-D- Ala-борРго	HO HO OH	674,0 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 81), 339,0 (100); tr = 7,7 мин.
6572CU	DOTA[Cu(II)]- PABA-D-Ala- борРго	HO H	735,5 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100), 729,4 (33), 369,4 (36); tr = 7,7 мин.
6509	DOTA-Ser-D- Ala-борРго	HO HO HO HO HO HO	642,1 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100), 314,1 (32); tr = 7,1 мин.
6509CU	DOTA[(Cu(II)]- Ser-D-Ala-борРго	HO CH HO HO HO	703,0 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100), 345,9 (93); tr = 7,2 мин.
6508	DOTA-Val-DAla- борРго	HO H	654,1 ([M - $H_2O + H$] ⁺ , 100), 321,0 (17); tr = 7,5 мин.
6508CU	DOTA[(Cu(II)]- Val-D-Ala-борРго	HO HO HO HO	715,3 ([M - $H_2O + H$] ⁺ , 100), 351,2 (78); tr = 7,2 мин.
6521	DOTA-Gly-Val- D-Ala-борРго	HO HO HO HO HO HO	711,1 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100); tr = 7,5 мин.

PID	Соединение	Химическая структура	ЖХ-МС (ИЭР ⁺) <i>m/z</i> (относительная интенсивность); tr
6521CU	DOTA[(Cu(II)]- Gly-Val-D-Ala- борРго	HO COH	773,2 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100), 769,1 (25), 388,8 (33); tr = 7,7 мин.
6549	Lys(DOTA)- борРго	MAN AND ON	612,1 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100), 300,5 (10); tr = 6,9 мин.
6522	DOTA-Gly-Gly- Val-D-Ala-борРго	HO CH	768,2 ([M - $H_2O + H]^+$, 100), 377,3 (82); tr = 7,5 мин.
6522CU	DOTA[(Cu(II)]- Gly-Gly-Val-D- Ala-борРго	HO H	830,3 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100), 826,5 (18), 416,6 (64); tr = 7,7 мин.
6551	Lys(ΓΑΜΚ- DOTA)-борРго	HC CHI	696,7 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100); tr = 7,1 мин.
6555	DOTA- аминометил-Вz- D-Ala-борРго	HO H	688,0 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100), 345,4 (65); tr = 7,6 мин.

PID	Соединение	Химическая структура	ЖХ-МС (ИЭР ⁺) m/z (относительная интенсивность); tr
6556	DOTA- аминометил-Nic- D-Ala-борРго	HO H	689,2 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100), 345,8 (42); tr = 7,4 мин.
6511	DOTA-Ala-D- Ala-борРго	HO NO HO HO BOH	626,0 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100), 307,3 (9); tr = 7,3 мин.
6511Cu	DOTA[(Cu(II)]- Ala-D-Ala-борРго	HO CU HO HO HO	687,3 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100), 337,7 (44); tr = 7,4 мин.
6512	DOTA-Gly-D- Ala-борРго	HO NOH	612,1 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100); tr = 7,1 мин.
6512Cu	DOTA[(Cu(II)]- Gly-D-Ala-борРго	HO HO DOH	674,0 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100), 331,0 (22); tr = 7,3 мин.
6489Gd	DOTA[Gd]- ΓΑΜΚ-HyBz-D- Ala-борPro		928,4 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 23), 763,9 (27), 466,4 (100); tr = 7,6 мин.

PID	Соединение	Химическая структура	ЖХ-МС (ИЭР ⁺) m/z (относительная интенсивность); tr
6511Gd	DOTA[(Gd(III)]- Ala-D-Ala-борРго	HO HO HO	781,7 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 24), 774,1 (100), 392,8 (44); tr = 7,4 мин.
6508Gd	DOTA[(Gd(III)]- Val-D-Ala-борРго	NO HOLDON	803,0 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 100); tr = 7,6 мин.
5180	DOTA[Gd(III)]- HyNic-D-Ala- борРго	THE HOLDON	844,9 ([M - H ₂ O + H] ⁺ , 30), 422,5 (100); tr = 9,0 мин (0- 3 мин: 5% В; 3-9 мин: 5- 15% В; 9-14 мин: 15-25% В).

Пример 9: Синтез аналогов GHK 6415 и 6433

Схема 9

Синтез соединения 6415

5

10

Соединение **6415** получали в 7 стадий из соединения **5**, как показано на схеме **4**, в виде белого порошка. ЖХ-МС (ИЭР⁺) m/z (относительная интенсивность): 767,2 ([M - H₂O + H]⁺, 100); tr = 7,6 мин.

Синтез соединения 6433

Соединение **6415** (29 мг) растворяли в воде (0,2 мл). Добавляли Cu(OAc)₂ (0,3 М в воде, 103 мкл). Полученную смесь перемешивали в течение получаса и

непосредственно лиофилизировали, получая 11 мг соединения **6433**, в виде зеленосинего порошка (11 мг). ЖХ-МС (ИЭР⁺) m/z (относительная интенсивность): 829,2 ([М - $\rm H_2O + H]^+$, 100); tr = 7,5 мин (Примечание: растворители для этой ЖХМС были чистыми. ТФУК не добавляли).

5

10

15

20

25

30

Пример 10: Анализ in vitro

Биологические материалы: для анализа по определению IC50 in vitro рекомбинантные DPPIV, DPP9, FAP и PREP человека приобрели в R&D Systems, а DPP8 - в Biomol International. В качестве буферных систем использовали A (25 мМ трис, pH 8,0), B (50 мМ трис, pH 7,5), C (50 мМ трис, 140 мМ NaCl, pH 7,5), D (25 мМ трис, 250 мМ NaCl, pH 7,5) и E (20 мМ трис, 20 мМ KCl, pH 7,4). Флуорогенные субстраты представляли собой Gly-Pro-AMC, Z-GlyPro-AMC или Suc-Gly-Pro-AMC, приобретенные в Bachem, или FAP-специфичный субстрат, блокированный по Nконцу. Среда для культивирования клеток представляла собой RPMI 1640 без фенолового красного с добавлением 2 мМ L-глутамина, 10 мМ HEPES, 1 мМ пирувата натрия, 4500 мг/л глюкозы, 100 МЕ/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина. Анализ субстратной специфичности. Пептидные библиотеки (0,21 мМ) инкубировали в течение 24 ч с 1 нМ FAP в буфере Е при 37 °C. Реакцию останавливали путем добавления 1,2 н. НС1. Образцы анализировали с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ-МС на Thermo Finnigan LCQ Duo, количественно определяя пики на полученных хроматограммах базовых пиков. Относительные значения расщепления определяли путем сравнения количества интактных пептидов после остановки реакции с таковыми в исходной библиотеке.

Анализ IC50 ферментов in vitro. Ферментативную активность DPPIV, DPP8, DPP9, FAP и PREP измеряли при 25°C на ридере для титрационных микропланшетов Molecular Devices M2e, контролируя флуоресценцию при длине волны возбуждения 380 нм и длине волны излучения 460 нм. Субстратом являлся H-Gly-Pro-AMC для анализа DPPIV, DPP8 и DPP9 либо Z-Gly-Pro-AMC для анализа FAP и PREP. Реакционная смесь содержала 25 мкМ субстрата, фермент, буфер A (DPPIV и DPP9), буфер В (DPP8), буфер С (FAP) или буфер D (PREP) и подходящее количество ингибитора (в диапазоне от 10–4 до 10–11 М) в общем объеме 210 мкл. Конечные концентрации ферментов составляли 0,1, 0,8, 0,4, 1,2 и 0,6 нМ для DPPIV, DPP8, DPP9, FAP и PREP, соответственно. Значение IC50 определяли как концентрацию

ингибитора, необходимую для снижения активности фермента на 50% после 10-минутного предварительного инкубирования с ферментом при 25 °C до добавления субстрата. Базовые растворы ингибитора (100 мМ) получали в растворе HCl с pH 2,0 для соединений 1 и 20 или в ДМСО. Образцы ингибитора, полученные в растворе с pH 2,0 предварительно инкубировали при 25 °C в течение 4 ч перед разбавлением. Непосредственно перед началом эксперимента 100 мМ базовых растворов дополнительно разбавляли до 10–3 М соответствующим буфером для анализа, а из полученного раствора получали последовательные разведения 1:10. Все ингибиторы тестировали в трех повторностях.

10

5

Таблица 3

PID	Соединение	Химическая структура	FAP IC50
			(нМ)
2054	Val-борРro		5,8,
		H ₂ N N N N N N N N N N N N N N N N N N N	7,2
4536B	DOTA-HyBz-D- Ala-борРго	HO H	2,7
6481	DOTA[Cu(II)]- HyBz-D-Ala- борРго	HO NO HO	10,3

PID	Соединение	Химическая структура	FAP IC50 (HM)
6487S	DOTA-Gly- HyBz-D-Ala- борРго	HO HO HO HO HO HO HO	2,1
6487	DOTA[Cu(II)]- Gly-HyBz-D-Ala- борРго	HO NO HO	8,8
6488S	DOTA-бета-Ala- HyBz-D-Ala- борРго	HO HO HO BOH	8,8
6488	DOTA[Cu]-бета- Ala-HyBz-D-Ala- борРго	HO CU NO HO OH	34,3

PID	Соединение	Химическая структура	FAP IC50 (HM)
6489S	DOTA-ΓΑΜΚ- HyBz-D-Ala- борPro	HO H	0,8
6489	DOTA[Cu(II)]- ΓΑΜΚ-HyBz-D- Ala-борPro	HO NO HO OH	2,6
6486S	DOTA-EACA- HyBz-D-Ala- борРго	HO HO HO HO HO HO	1,7
6486	DOTA[Cu(II)]- EACA-HyBz-D- Ala-борPro	HO H	2,8
6572	DOTA-PABA-D- Ala-борPro	HO N N N N N N N N N N N N N N N N N N N	1,6

PID	Соединение	Химическая структура	FAP IC50 (нМ)
6572CU	DOTA[Cu(II)]- PABA-D-Ala- борРго	HO NO HO	12,6
6509	DOTA-Ser-D- Ala-борРго	HO NOH HO HO HO HO	186,2
6509CU	DOTA[(Cu(II)]- Ser-D-Ala-борРro	HO N OH HO HO BOOH	127,6
6508	DOTA-Val-DAla- борРго	HO NO HO BOH	61,96

PID	Соединение	Химическая структура	FAP IC50
6508CU	DOTA[(Cu(II)]- Val-D-Ala-борРго	HO NO HO BOH	(HM) 26,22
6521	DOTA-Gly-Val- D-Ala-борРго	HO H	6,9
6549	Lys(DOTA)- борРго	H ₂ N H ₀ B OH	3,2
6522	DOTA-Gly-Gly- Val-D-Ala-борРго	HO N HO	3,5

PID	Соединение	Химическая структура	FAP IC50 (HM)
6522CU	DOTA[(Cu(II)]- Gly-Gly-Val-D- Ala-борРго	HO CU HO HO HO HO	8,7
6551	Lys(ΓΑΜΚ- DOTA)-борРго	HO OH O	2,6
6555	DOTA- аминометил-Вz- D-Ala-борРro	HO HO HO HO HO	0,7

PID	Соединение	Химическая структура	FAP IC50
6556	DOTA- аминометил-Nic- D-Ala-борРго	HO H	(HM) 2,4
6511	DOTA-Ala-D- Ala-борРго	HO HO HO HO HO	71,7
6512	DOTA-Gly-D- Ala-бοpPro	HO N N N N N N N N N N N N N N N N N N N	73,1
6489Gd	DOTA[Gd]- ΓΑΜΚ-HyBz-D- Ala-борPro	N HO	1,1

PID	Соединение	Химическая структура	FAP IC50
6511Gd	DOTA[(Gd(III)]- Ala-D-Ala-борРго	N H HO HO HO	(HM) 428
5180	DOTA[Gd(III)]- HyNic-D-Ala- борРго	H N HO BOH	450
5183	DOTA[(Gd(III)]- HyBz-D-Ala- борРго	H H HO BOH	68

Пример 11: Типичные лиганды, синтезированные аналогичными способами

DOTA-ГАМК-аминометил-Вz-D-Ala-борРго

DOTA-APenA-PABA-D-Ala-борРго (APenA = 5-аминопентановая кислота)

6554 DOTA-HyNaph-D-Ala-борРго

6645 DOTA-Lys(ABM)-ΓΑΜΚ-HyBz-D-Ala-борPro

5

6640 DOTA-Lys(ABM)-Gly-Gly-Val-D-Ala-борРго

DOTA-Lys(пиперазиндиацетил-ГАМК-HyBz-D-Ala-борРго)-ГАМК-HyBz-Val-D-Ala-борРго

DOTA-Lys(пиперазиндиацетил-Gly-Gly-Val-D-Ala-борРго)-Gly-Gly-Val-D-Ala-борРго

6586 DOTA-MABA-D-Ala-борРго [МАВА = 4-метиламинобензойная кислота]

6637 DOTA-Lys(ABM)-Gly-Gly-Val-D-Ala-борРго

6638 DOTA-D-Lys(DOTA)-Gly-Gly-Val-D-Ala-борРго

5

6619 DOTA-[ΓΑΜΚ-ΗyΒz-D-Ala-бopPro]4

5

6635 DOTA-аминоэтил-Bz-D-Ala-борРго

6636 DOTA-аминопропил-Вz-D-Ala-борРго

6627 DOTA-диаминобутан-дикарбоксибензол-D-Ala-борРго

10

5

6628 DOTA-диаминопропан-СМВА-D-Ala-борРго [СМВА = 4-

(карбоксиметил)бензойная кислота]

5

6634 DOTA-DAVA-Gly-D-Ala-борРго [DAVA = 5-аминовалериановая кислота]

10 6633 DOTA-бета-Ala-Gly-D-Ala-борРго

6632 DOTA-Gly-Gly-D-Ala-борРго

6631 DOTA-Gly-Ser-D-Ala-борРго

5

6630 DOTA-Gly-Ala-БорРго

10

6629 DOTA-D-Ala-Gly-Val-D-Ala-борРго

6626 DOTA-DAVA-PABA-D-Ala-борРго [DAVA = 5-аминовалериановая кислота]

5

6623 DOTA-ГАМК-аминометил-Nic-D-Ala-борРro

10

6617 DOTA-EACA-Val-D-Ala-борРго [EACA = е-аминокапроновая кислота]

6618 DOTA-AEPA-Val-D-Ala-борРro [AEPA = -(2-Аминоэтокси)пропановая кислота]

DOTA-AEAC-Val-D-Ala-борРго [AEAC = (2-аминоэтокси)уксусная кислота]

DOTA-бета-Ala-Val-D-Ala-борРго

DOTA-DAVA-Val-D-Ala-бор Рго [DAVA = 5-аминовалериановая кислота]

DOTA-ΓΑΜΚ-Val-D-Ala-δopPro

6609 DOTA-ΓΑΜΚ-ΗΥΝΙC-D-Ala-δορPro

6601D DOTA-D-Lys(IRDye)-ΓΑΜΚ-HyBz-D-Ala-борPro

6589 DOTA-DAB-dcBn-D-Ala-борРго

DOTA-APenA-HyBz-D-Ala-борРго (APenA = 5-аминопентановая кислота)

6585 DOTA-AOA-HyBz-D-Ala-борРго (AOA = 8-аминооктановая кислота)

6580 DOTA-AHepA-HyBz-D-Ala-борРго (АНерА = 7-аминогептановая кислота)

6575 DOTA-диметил-амино-Bz-D-Ala-борРго

6566 DOTA-метиламино-Bz-D-Ala-борРго

6574 DOTA-винил-Вz-D-Ala-борРго

DOTASA-HyBz-D-Ala-борРго

DOTAGA-HyBz-D-Ala-борРго

NOTASA-ΓΑΜΚ-ΗyBz-D-Ala-бopPro

NOTAGA-ГАМК-НуВz-D-Ala-борРго

6570 NOTAGA-HyBz-D-Ala-борРго

NOTASA-HyBz-D-Ala-борРго

NOTA-аминометил-Вz-D-Ala-борРго

DO3A-Nic-D-Ala-борРго

DO3A-Bz-D-Ala-борРго

NOTA-HyBz-D-Ala-борРго

CB-TE2A-4613C

Производное D-Ala-борРго FAPI-2

6540 4536В с альбумин-связывающей группой

4536В с альбумин-связывающей группой (боковая цепь Lys)

Производное D-Ala-борРго FAPI-46

Производное Di Am Sar-4613 С (С7)

Производное N2S2-(С7)-4613С

Клик-производное N-(4-ВРА-С6-гидразинбензоил)-D-Ala-борРго

Производное DAHK-(4613C)

6431 SAR-NH-(C7)-4613C

Производное АНК-(4613C) (С7)

Производное GHK-(4613C) (С5)

6417 Производное GHK-(4613C) (С4)

6416 Производное GHK-(4613C) (С6)

<u>Пример 12: Синтез DOTA-PNP</u>

Схема 10

5

10

Схема синтеза 10. Реагенты и условия: i. DCC, PNP, Py-CAN-вода, 30%.

Экспериментальный раздел

Реагенты, полученные из коммерческих источников, использовали без дополнительной очистки. Все целевые соединения очищали с помощью ОФ-ВЭЖХ с использованием полупрепаративной системы Varian с ОФ-ВЭЖХ-колонкой Discovery C18 569226-U. Подвижную фазу для полупрепаративной ВЭЖХ обычно получали путем смешивания воды (4,8 мМ HCl) с ацетонитрилом в градиентной концентрации. Масс-спектры и времена удерживания при ВЭЖХ регистрировали в системе Hewlett Packard HP ЖХ/МСD с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм), используя колонку для ОФ-ВЭЖХ Eclipse Plus C18 (4,6 х 50 мм, 1,8 мкм) с градиентом растворителя А) вода (0,1% ТФУК) и В) ацетонитрил при 0,5 мл/мин. Если не указано иное, все времена удерживания ВЭЖХ приведены для градиента элюента 2% В в течение первых 3 мин, затем от 2% до 98% В в течение 6 мин, который поддерживали в течение следующих 6 мин.

Синтез DOTA-PNP

5

10

15

20

25

30

Синтез DOTA-PNP выполняли с использованием ранее описанного способа синтеза (Walter Mier, etc. Bioconjugate Chem., 2005, 16, 237 - 240. TS. J. Coutts etc. J. Med. Chem. 1996, 39, 2087 - 2094). DOTA (AstaTech, BN21603; 500 мг, 1,24 ммоль) растворяли в 10 мл воды. Добавляли 1,24 ммоль раствора 4-нитрофенола (ТСІ America, N022025G) в 8 мл ацетонитрила. Раствор 255 мг (1,24 ммоль) N,N'дициклогексилкарбодиимида в 8 мл пиридина добавляли по каплям при интенсивном перемешивании. Реакционную смесь перемешивали в течение 90 мин и концентрировали до сухого состояния при пониженном давлении. Остаток растворяли в 20% растворе ацетонитрила в воде. Суспензию фильтровали для удаления N,N' -дициклогексилмочевины, фильтрат очищали с помощью полупрепаративной колонки для ОФ-ВЭЖХ Discovery C18 569226-U (21,2 мм x 25 см, 5 мкм) с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм). В системе градиентного элюирования использовали подвижную фазу A (4,8 мМ HCl) и подвижную фазу В (ацетонитрил). Градиент подавали со скоростью потока 20 мл/мин, начиная с 98% А и 2% В в течение 5 минут; увеличивали до 70% А и 30% В в течение 15 минут; и выдерживали в течение еще 5 минут. Объединенные фракции непосредственно лиофилизировали, получая **DOTA-PNP** в виде белого порошка (4 х соль HCl, 250 мг,

30%). ЖХ-МС (ИЭР⁺) m/z (относительная интенсивность): 526,1 ([M + H]⁺, 100); tr = 7,7 мин.

Вспомогательные материалы

Масс-спектры и времена удерживания при ВЭЖХ регистрировали в системе Hewlett Packard HP ЖХ/МСD с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм), используя колонку для ОФ-ВЭЖХ ZORBAX Eclipse Plus C18 (4,6 x 50 мм, 1,8 мкм) с градиентом растворителя A) вода (0,1% ТФУК) и B) ацетонитрил при скорости 0,5 мл/мин. Градиент элюента представлял собой 2% B в течение первых 3 минут, затем от 2% до 98% B в течение 6 минут, который поддерживали в течение следующих 5 минут (0-3 мин: 2% B; 3-9 мин: 2-98% B; 9-15 мин: 98% B). МС запускали в положительном режиме. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Chemstation Software от Agilent.

Пример 13: Синтез 6555/6555LU/6555GA

Схема 11

5

10

15 Схема синтеза 11. Реагенты и условия: і. L-борРго-рп.HCl, НАТU, ДИЭА; іі. 4 н. HCl в диоксане, 92% за 2 стадии; ііі. 4-[(трет-бутоксикарбониламино)метил]бензойная кислота, НАТU, ДИЭА; іv. 4 н. HCl в диоксане, 85% за две стадии; способ І: v. DOTA-(OtBu)3, РуВОР, ДИЭА, ДХМ; vi. ТФУК-CH₂Cl₂ (4:1), затем H₂O; или способ ІІ: vii. DOTA-PNP, ТЭА, ДМФ; viii. PhB(OH)₂, H₂O-TBME-ACN, 37% за 3 стадии в способе

I или 40% за 2 стадии в способе II; ix. LuCl₃, ацетатный буфер (0,23 M, pH 5,2), 90°C - 23 мин, 44%; ix. GaCl₃, ацетатный буфер (0,23 M, pH 5,2), 90°C - 23 мин, 66%.

Растворимость и хранение

5

10

15

20

25

30

После лиофилизации целевое соединение 6555, 6555LU или 6555GA легко растворялось в воде (растворимость >50 мг/мл). В водном растворе с рН, приблизительно равным 3, авторы заявки не наблюдали никаких признаков разложения в период ВЭЖХ-очистки и последующей лиофилизации. При длительном хранении целевое соединение должно храниться в твердом виде в морозильной камере при температуре < -15 °C. Для кратковременного хранения достаточно холодильника (+4 °C).

Экспериментальный раздел

Реагенты, полученные из коммерческих источников, использовали без дополнительной очистки. Синтез L-борРго-рп выполняли с использованием ранее описанного способа синтеза (ТЅ. J. Coutts etc. J. Med. Chem. 1996, 39, 2087 - 2094). Все целевые соединения очищали с помощью ОФ-ВЭЖХ с использованием полупрепаративной системы Varian с ОФ-ВЭЖХ-колонкой Discovery C18 569226-U. Подвижную фазу для полупрепаративной ВЭЖХ, как правило, получали путем смешивания воды (0,1% ТФУК) с ацетонитрилом в градиентной концентрации. Масс-спектры и времена удерживания при ВЭЖХ регистрировали в системе Hewlett Packard HP ЖХ/МСD с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм), используя колонку для ОФ-ВЭЖХ Есlipse Plus C18 (4,6 x 50 мм, 1,8 мкм) с градиентом растворителя А) вода (0,1% ТФУК) и В) ацетонитрил при 0,5 мл/мин. Если не указано иное, все времена удерживания ВЭЖХ приведены для градиента элюента 2% В в течение первых 3 мин, затем от 2% до 98% В в течение 6 мин, который поддерживали в течение следующих 6 мин.

Синтез промежуточного соединения 1

К перемешиваемому раствору N-Вос-D-Ala-OH (Aldrich, 15048-25G; 1,9 г, 10 ммоль) в безводном ДМФ (40 мл) добавляли L-борPro-pn.HCl (3,0 г, 10,5 ммоль), НАТU (4,0 г, 10,5 ммоль) и ДИЭА (4,0 мл, 23 ммоль) при охлаждении на ледяной бане. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, а затем конденсировали в вакууме. Остаток растворяли с этилацетатом (150 мл), последовательно промывали 0,1 н. KHSO₄ (3 х 40 мл), водн. NaHCO₃ (3 х 40 мл),

насыщенным раствором хлорида натрия (30 мл). Органическую фазу сушили над безводным MgSO₄, фильтровали и упаривали под вакуумом, получая N-Boc-D-Ala-L-борРго-рп, который очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя этилацетатом/гексаном; а затем добавляли к раствору 4 н. HCl в диоксане (30 мл) при охлаждении в воде со льдом. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, а затем конденсировали в вакууме. Остаток совместно упаривали с дихлорметаном (3 х 30 мл) в вакууме до полного высыхания. Таким образом получали соединение 1 в виде белого порошка (3,3 г, 92% за две стадии).

10

15

20

25

30

5

Синтез промежуточного соединения 2

К перемешиваемому раствору 4-[(третбутоксикарбониламино)метил]бензойной кислоты (ТСІ, В4305; 505 мг, 2 ммоль) в безводном ДМ Φ (8 мл) добавляли соединение 1 (750 мг, 2,1 ммоль), HATU (800 мг, 2,1 ммоль) и ДИЭА (0,80 мл, 4,6 ммоль) при охлаждении на ледяной бане. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, а затем конденсировали в вакууме. Остаток растворяли в дихлорметане (100 мл), последовательно промывали 0,1 н. KHSO₄ (3 х 15 мл), водн. NaHCO₃ (3 х 15 мл), насыщенным раствором хлорида натрия (10 мл). Органическую фазу сушили над безводным MgSO₄, фильтровали и упаривали под вакуумом, получая 4-(N-Bocаминометил)-PhCO-D-Ala-L-борРго-рп, который очищали с помощью флэшхроматографии на силикагеле, элюируя этилацетатом/гексанами; а затем добавляли в раствор 4 н. HCl в диоксане (10 мл) при охлаждении на ледяной бане. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, а затем конденсировали в вакууме. Остаток совместно упаривали с дихлорметаном (3 х 20 мл) в вакууме для полного высыхания. Таким образом получали соединение 2 в виде белого порошка (830 г, 85% за две стадии). ЖХ-МС (ИЭР $^+$) m/z (относительная интенсивность): 453.7 ([M + H]⁺, 100); tr = 9.0 мин.

Синтез соединения 6555 (способ І)

К перемешиваемому раствору DOTA-(OtBu)₃ (AstaTech, 67012, CAS: 137076-54-1; 172 мг, 0,3 ммоль) в безводном ДХМ (3 мл) добавляли промежуточное соединение **2** (162 мг, 0,33 ммоль), РуВОР (172 мг, 0,33 ммоль) и ДИЭА (0,12 мл,

0,69 ммоль) при охлаждении на ледяной бане. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов и затем разбавляли большим количеством дихлорметана (30 мл), последовательно промывали 5% лимонной кислотой (3 х 5 мл), водн. NaHCO₃ (3 х 5 мл), насыщенным раствором хлорида натрия (5 мл). Органическую фазу сушили над безводным MgSO4, фильтровали и упаривали под вакуумом, получая неочищенный промежуточный продукт, который повторно растворяли в дихлорметане (1,5 мл) и ТФУК (6 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После удаления ТФУК и дихлорметана добавляли воду (9 мл) и полученную смесь перемешивали в течение 1 часа при комнатной температуре, а затем добавляли фенилборную кислоту (48 мг, 0,39 ммоль), ацетонитрил (3 мл) и ТВМЕ (18 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч, отделенную водную фазу промывали большим количеством ТВМЕ. Водный слой немного конденсировали под вакуумом и очищали с помощью полупрепаративной колонки для ОФ-ВЭЖХ Discovery C18 569226-U (21,2 мм x 25 см, 5 *мкм*) с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм). В системе градиентного элюирования использовали подвижную фазу А (0,1 % ТФУК) и подвижную фазу В (ацетонитрил). Градиент подавали со скоростью потока 20 мл/мин, начиная с 95% А и 5% В в течение 5 минут; и увеличивали до 70% А и 30% В в течение 20 минут; затем увеличивали до 2% А и 98% В в течение 1 минуты и выдерживали в течение еще 5 минут. Объединенные фракции непосредственно лиофилизировали, получая 6555 в виде белого порошка (4 х соль ТФУК, 130 мг, 37% за три стадии). ЖХ-МС (И Θ P⁺) m/z (относительная интенсивность): 688,0 ([M - H₂O +H]⁺, 100), 345,4 (63); tr = 7,6 мин.

Синтез соединения 6555 (способ II)

5

10

15

20

25

30

К перемешиваемому раствору DOTA-PNP (синтезированного собственными силами, 204 мг, 0,30 ммоль) и промежуточного соединения **2** (189 мг, 0,33 ммоль) в безводном ДМФ (4 мл) добавляли ТЭА (360 мкл, 2,07 ммоль) при охлаждении на ледяной бане. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Затем реакционную смесь конденсировали под вакуумом. Добавляли воду (9 мл), значение рН доводили до приблизительно 1,5 с помощью 1 н. ТФУК. Добавляли фенилборную кислоту (48 мг, 0,39 ммоль), ацетонитрил (3 мл) и ТВМЕ (18 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч

и обрабатывали, как описано выше, получая **6555** в виде белого порошка (4 х соль ТФУК, 140 мг, 40% за две стадии).

Синтез соединения 6522LU

5

10

15

20

25

30

Соединение **6555** (10 мг, 8,6 мкмоль) добавляли к раствору LuCl₃ (18 мг, 64 мкмоль) в ацетатном буфере (0,23 М, pH 5,2,3 мл). Полученную смесь перемешивали при 90°С в течение 23 минут и затем очищали с помощью полупрепаративной колонки для ОФ-ВЭЖХ Discovery C18 569226-U (21,2 мм х 25 см, 5 мкм) с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм). В системе градиентного элюирования использовали подвижную фазу А (0,05% ТФУК в воде) и подвижную фазу В (ацетонитрил). Градиент подавали со скоростью потока 20 мл/мин, начиная с 95% А и 5% В в течение 5 минут; и увеличивали до 70% А и 30% В в течение 20 минут; затем увеличивали до 2% А и 98% В в течение 1 минуты и выдерживали в течение еще 5 минут. Объединенные фракции непосредственно лиофилизировали, получая **6555LU** в виде белого порошка (4 х соль ТФУК, 5 мг, 44%). ЖХ-МС (ИЭР⁺) *m/z* (относительная интенсивность): 859,5 (100); tr = 15,2 мин (см. прилагаемые ЖХМС и условия).

Синтез соединения 6555GA

Соединение **6555** (10 мг, 8,6 мкмоль) добавляли к раствору GaCl₃ (12 мг, 66 мкмоль) в ацетатном буфере (0,23 M, pH 5,2,4 мл). Полученную смесь перемешивали при 90°С в течение 23 минут и затем очищали с помощью полупрепаративной колонки для ОФ-ВЭЖХ Discovery C18 569226-U (21,2 мм х 25 см, 5 мкм) с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм). В системе градиентного элюирования использовали подвижную фазу А (0,05% ТФУК в воде) и подвижную фазу В (ацетонитрил). Градиент подавали со скоростью потока 20 мл/мин, начиная с 95% А и 5% В в течение 5 минут; и увеличивали до 70% А и 30% В в течение 20 минут; затем увеличивали до 2% А и 98% В в течение 1 минуты и выдерживали в течение еще 5 минут. Объединенные фракции непосредственно лиофилизировали, получая **6555GA** в виде белого порошка (4 х соль ТФУК, 7 мг, 66%). ЖХ-МС (ИЭР⁺) *m/z* (относительная интенсивность): 754,4 (100); tr = 16,9 мин (см. прилагаемые ЖХМС и условия).

Вспомогательные материалы

Соединение 6555

5

10

15

20

25

30

ЖХМС-спектр соединения 6555:

ЖХМС выполняли с использованием системы Hewlett Packard HP LC/MSD с УФдетектором (мониторинг при 215 нм), содержащей колонку для ОФ-ВЭЖХ ZORBAX
Eclipse Plus C18 (4,6 x 50 мм, 1,8 мкм). В системе градиентного элюирования
использовали подвижную фазу А (0,1% ТФУК) и подвижную фазу В (ацетонитрил).
Градиент подавали со скоростью потока 0,5 мл/мин, начиная с 98% А и 2% В в
течение 3 минут; и увеличивали до 2% А и 98% В в течение 6 минут; который
поддерживали в течение еще 5 минут. Наконец, восстанавливали начальные
параметры градиента при запуске. МС запускали в положительном режиме. Данные
анализировали с использованием программного обеспечения Chemstation Software от
Agilent.

Соединение 6555LU

ЖХМС выполняли с использованием системы Hewlett Packard HP ЖХ/МСD с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм), содержащей колонку Luna C18, 4,6 мм х 150 мм, 3,0 мкм, 100 А. В системе градиентного элюирования использовали подвижную фазу А (50 мМ АсОNH₄) и подвижную фазу В (ацетонитрил). Градиент подавали со скоростью потока 1,0 мл/мин, начиная с 98% А и 2% В в течение 5 мин; увеличивали до 74% А и 26% В в течение 15 мин; затем увеличивали до 2% А и 98% В в течение 5 мин. Наконец, восстанавливали начальные параметры градиента при запуске. МС запускали в отрицательном режиме. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Chemstation Software от Agilent.

Соединение 6555GA

ЖХМС выполняли с использованием системы Hewlett Packard HP ЖХ/МСD с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм), содержащей колонку Luna C18, 4,6 мм х 150 мм, 3,0 мкм, 100 A. В системе градиентного элюирования использовали подвижную фазу A (50 мМ AcONH4) и подвижную фазу В (ацетонитрил). Градиент подавали со скоростью потока 1,0 мл/мин, начиная с 98% A и 2% В в течение 5 мин; увеличивали до 74% A и 26% В в течение 15 мин; затем увеличивали до 2% A и 98% В в течение 5 мин. Наконец, восстанавливали начальные параметры градиента при запуске. МС запускали в отрицательном режиме. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Chemstation Software от Agilent.

Пример 14: Синтез 6952/6952LU/6952GA

Схема 12.

Схема 12. Реагенты и условия: i. L-борРго-pn.HCl, HATU, ДИЭА; ii. 4 н. HCl в диоксане, 92% за две стадии; iii. транс-4-(трет-бутоксикарбониламинометил)циклогексанкарбоновая кислота, HATU, ДИЭА; iv. 4 н. HCl в диоксане, 90% за две стадии; способ I: v. DOTA-(OtBu)3, РуВОР, ДИЭА, ДХМ; vi. ТФУК-СН2Сl2 (4:1), затем H2O; или способ II: vii. DOTA-PNP, ТЭА, ДМФ; viii. PhB(OH)2, H2O-TBME-ACN, 35% за 3 стадии в способе I или 40% за 2 стадии в способе II; ix. LuCl3, ацетатный буфер (0,23 M, pH 5,2), 90°С - 23 мин, 44%; ix. GaCl3, ацетатный буфер (0,23 M, pH 5,2), 90°С - 23 мин, 57%.

Растворимость и хранение

5

10

15

20

После лиофилизации целевое соединение 6952, 6952LU или 6952GA легко растворялось в воде (растворимость >50 мг/мл). В водном растворе с рН, приблизительно равным 3, авторы заявки не наблюдали никаких признаков разложения в период ВЭЖХ-очистки и последующей лиофилизации. При длительном хранении целевое соединение должно храниться в твердом виде в морозильной камере при температуре < -15 °C. Для кратковременного хранения достаточно холодильника (+4 °C).

Экспериментальный раздел

5

10

15

20

25

30

Реагенты, полученные из коммерческих источников, использовали без дополнительной очистки. Синтез L-борРго-рп выполняли с использованием ранее описанного способа синтеза (ТЅ. Ј. Соиtts etc. Ј. Меd. Chem. 1996, 39, 2087 - 2094). Все целевые соединения очищали с помощью ОФ-ВЭЖХ с использованием полупрепаративной системы Varian с ОФ-ВЭЖХ-колонкой Discovery C18 569226-U. Подвижную фазу для полупрепаративной ВЭЖХ, как правило, получали путем смешивания воды (0,1% ТФУК) с ацетонитрилом в градиентной концентрации. Масс-спектры и времена удерживания при ВЭЖХ регистрировали в системе Hewlett Packard HP ЖХ/МСD с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм), используя колонку для ОФ-ВЭЖХ Есlipse Plus C18 (4,6 x 50 мм, 1,8 мкм) с градиентом растворителя А) вода (0,1% ТФУК) и В) ацетонитрил при 0,5 мл/мин. Если не указано иное, все времена удерживания ВЭЖХ приведены для градиента элюента 2% В в течение первых 3 мин, затем от 2% до 98% В в течение 6 мин, который поддерживали в течение следующих 6 мин.

Синтез промежуточного соединения 1

К перемешиваемому раствору *N*-Вос-*D*-Ala-OH (Aldrich, 15048-25G; 1,9 г, 10 ммоль) в безводном ДМФ (40 мл) добавляли L-борРго-рп.НСІ (3,0 г, 10,5 ммоль), НАТИ (4,0 г, 10,5 ммоль) и ДИЭА (4,0 мл, 23 ммоль) при охлаждении на ледяной бане. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, а затем конденсировали в вакууме. Остаток растворяли с этилацетатом (150 мл), последовательно промывали 0,1 н. КНЅО₄ (3 х 40 мл), водн. NaHCO₃ (3 х 40 мл), насыщенным раствором хлорида натрия (30 мл). Органическую фазу сушили над безводным MgSO₄, фильтровали и упаривали под вакуумом, получая N-Вос-D-Ala-L-борРго-рп, который очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя этилацетатом/гексаном; а затем добавляли к раствору 4 н. HCl в диоксане (30 мл) при охлаждении в воде со льдом. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, а затем конденсировали в вакууме. Остаток совместно упаривали с дихлорметаном (3 х 30 мл) в вакууме до полного высыхания. Таким образом получали соединение 1 в виде белого порошка (3,3 г, 92% за две стадии).

Синтез промежуточного соединения 2

5

10

15

20

25

30

К перемешиваемому раствору транс-4-(третбутоксикарбониламинометил)циклогексанкарбоновой кислоты (ТСІ, В3253; 515 мг, 2 ммоль) в безводном ДМФ (8 мл) добавляли соединение 1 (750 мг, 2,1 ммоль), НАТИ (800 мг, 2,1 ммоль) и ДИЭА (0,80 мл, 4,6 ммоль) при охлаждении на ледяной бане. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, а затем конденсировали в вакууме. Остаток растворяли в дихлорметане (100 мл), последовательно промывали 0,1 н. КНSO₄ (3 х 15 мл), водн. NaHCO₃ (3 х 15 мл), насыщенным раствором хлорида натрия (10 мл). Органическую фазу сушили над безводным MgSO₄, фильтровали и упаривали под вакуумом, получая N-Bocзащищенное соединение 2, которое очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя этилацетатом/гексанами; а затем добавляли в раствор 4 н. HCl в диоксане (10 мл) при охлаждении на ледяной бане. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, а затем конденсировали в вакууме. Остаток совместно упаривали с дихлорметаном (3 х 20 мл) в вакууме для полного высыхания. Таким образом получали соединение 2 в виде белого порошка (890 г, 90% за две стадии). ЖХ-МС (ИЭР $^+$) m/z (относительная интенсивность): 459,9 $([M + H]^+, 100); tr = 8.9 \text{ мин.}$

Синтез соединения 6952 (способ І)

К перемешиваемому раствору DOTA-(OtBu)₃ (AstaTech, 67012, CAS: 137076-54-1; 172 мг, 0,3 ммоль) в безводном ДХМ (3 мл) добавляли промежуточное соединение **2** (162 мг, 0,33 ммоль), РуВОР (172 мг, 0,33 ммоль) и ДИЭА (0,12 мл, 0,69 ммоль) при охлаждении на ледяной бане. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов и затем разбавляли большим количеством дихлорметана (30 мл), последовательно промывали 5% лимонной кислотой (3 х 5 мл), водн. NaHCO₃ (3 х 5 мл), насыщенным раствором хлорида натрия (5 мл). Органическую фазу сушили над безводным MgSO₄, фильтровали и упаривали под вакуумом, получая неочищенный промежуточный продукт, который повторно растворяли в дихлорметане (1,5 мл) и ТФУК (6 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После удаления ТФУК и

дихлорметана добавляли воду (9 мл) и полученную смесь перемешивали в течение 1 часа при комнатной температуре, а затем добавляли фенилборную кислоту (48 мг, 0,39 ммоль), ацетонитрил (3 мл) и ТВМЕ (18 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч, отделенную водную фазу промывали большим количеством ТВМЕ. Водный слой немного конденсировали под вакуумом и очищали с помощью полупрепаративной колонки для ОФ-ВЭЖХ Discovery C18 569226-U (21,2 мм х 25 см, 5 *мкм*) с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм). В системе градиентного элюирования использовали подвижную фазу А (0,1 % ТФУК) и подвижную фазу В (ацетонитрил). Градиент подавали со скоростью потока 20 мл/мин, начиная с 95% А и 5% В в течение 5 минут; и увеличивали до 70% А и 30% В в течение 20 минут; затем увеличивали до 2% А и 98% В в течение 1 минуты и выдерживали в течение еще 5 минут. Объединенные фракции непосредственно лиофилизировали, получая 6952 в виде белого порошка (4 х соль ТФУК, 123 мг, 35% за три стадии). ЖХ-МС (ИЭР+) *m/z* (относительная интенсивность): 694,1 ([М - Н₂О + H]+, 100), 348,9 (29); tr = 7,5 мин.

Синтез соединения 6952 (способ II)

5

10

15

20

25

30

К перемешиваемому раствору DOTA-PNP (синтезированного собственными силами, 204 мг, 0,30 ммоль) и промежуточного соединения **2** (162 мг, 0,33 ммоль) в безводном ДМФ (4 мл) добавляли ТЭА (360 мкл, 2,07 ммоль) при охлаждении на ледяной бане. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Затем реакционную смесь конденсировали под вакуумом. Добавляли воду (9 мл), значение рН доводили до приблизительно 1,5 с помощью 1 н. ТФУК. Добавляли фенилборную кислоту (48 мг, 0,39 ммоль), ацетонитрил (3 мл) и ТВМЕ (18 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч и обрабатывали, как описано выше, получая **6952** в виде белого порошка (4 х соль ТФУК, 140 мг, 40% за две стадии).

Синтез соединения 6952LU

Соединение **6952** (10 мг, 8,6 мкмоль) добавляли к раствору LuCl₃ (18 мг, 64 мкмоль) в ацетатном буфере (0,23 M, pH 5,2, 3 мл). Полученную смесь перемешивали при 90°С в течение 23 минут и затем очищали с помощью полупрепаративной колонки для ОФ-ВЭЖХ Discovery C18 569226-U (21,2 мм х 25 см, 5 мкм) с УФ-

детектором (мониторинг при 215 нм). В системе градиентного элюирования использовали подвижную фазу А (0,05% ТФУК в воде) и подвижную фазу В (ацетонитрил). Градиент подавали со скоростью потока 20 мл/мин, начиная с 95% А и 5% В в течение 5 минут; и увеличивали до 70% А и 30% В в течение 20 минут; затем увеличивали до 2% А и 98% В в течение 1 минуты и выдерживали в течение еще 5 минут. Объединенные фракции непосредственно лиофилизировали, получая **6952LU** в виде белого порошка (4 х соль ТФУК, 5 мг, 44%). ЖХ-МС (ИЭР⁺) *m/z* (относительная интенсивность): 865,5 (100); tr = 14,9 мин (см. прилагаемые ЖХМС и условия).

Синтез соединения 6952GA

Соединение **6952** (10 мг, 8,6 мкмоль) добавляли к раствору GaCl₃ (12 мг, 66 мкмоль) в ацетатном буфере (0,23 М, рН 5,2, 4 мл). Полученную смесь перемешивали при 90°С в течение 23 минут и затем очищали с помощью полупрепаративной колонки для ОФ-ВЭЖХ Discovery C18 569226-U (21,2 мм х 25 см, 5 мкм) с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм). В системе градиентного элюирования использовали подвижную фазу А (0,05% ТФУК в воде) и подвижную фазу В (ацетонитрил). Градиент подавали со скоростью потока 20 мл/мин, начиная с 95% А и 5% В в течение 5 минут; и увеличивали до 70% А и 30% В в течение 20 минут; затем увеличивали до 2% А и 98% В в течение 1 минуты и выдерживали в течение еще 5 минут. Объединенные фракции непосредственно лиофилизировали, получая **6952GA** в виде белого порошка (4 х соль ТФУК, 6 мг, 57%). ЖХ-МС (ИЭР⁺) *m/z* (относительная интенсивность): 760,9 (100); tr = 16,1 мин (см. прилагаемые ЖХМС и условия).

15

20

25

30

10

5

Вспомогательные материалы

Соединение 6952:

ЖХМС выполняли с использованием системы Hewlett Packard HP LC/MSD с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм), содержащей колонку для ОФ-ВЭЖХ ZORBAX Eclipse Plus C18 (4,6 х 50 мм, 1,8 мкм). В системе градиентного элюирования использовали подвижную фазу А (0,1% ТФУК) и подвижную фазу В (ацетонитрил). Градиент подавали со скоростью потока 0,5 мл/мин, начиная с 98% А и 2% В в течение 3 минут; и увеличивали до 2% А и 98% В в течение 6 минут; который поддерживали в течение еще 5 минут. Наконец, восстанавливали начальные параметры градиента при запуске. МС запускали в положительном режиме. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Chemstation Software от Agilent.

Соединение 6952LU

ЖХМС выполняли с использованием системы Hewlett Packard HP ЖХ/МСD с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм), содержащей колонку Luna C18, 4,6 мм х 150 мм, 3,0 мкм, 100 А. В системе градиентного элюирования использовали подвижную фазу А (50 мМ AcONH₄) и подвижную фазу В (ацетонитрил). Градиент подавали со скоростью потока 1,0 мл/мин, начиная с 98% А и 2% В в течение 5 мин;

увеличивали до 74% A и 26% B в течение 15 мин; затем увеличивали до 2% A и 98% В в течение 5 мин. Наконец, восстанавливали начальные параметры градиента при запуске. МС запускали в отрицательном режиме. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Chemstation Software от Agilent.

Соединение 6952GA

ЖХМС выполняли с использованием системы Hewlett Packard HP ЖХ/МСD с УФ-детектором (мониторинг при 215 нм), содержащей колонку Luna C18, 4,6 мм х 150 мм, 3,0 мкм, 100 А. В системе градиентного элюирования использовали подвижную фазу А (50 мМ АсОNН₄) и подвижную фазу В (ацетонитрил). Градиент подавали со скоростью потока 1,0 мл/мин, начиная с 98% А и 2% В в течение 5 мин; увеличивали до 74% А и 26% В в течение 15 мин; затем увеличивали до 2% А и 98% В в течение 5 мин. Наконец, восстанавливали начальные параметры градиента при запуске. МС запускали в отрицательном режиме. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Chemstation Software от Agilent.

15

20

25

30

10

5

<u>Пример 15: Анализ дипептидилпептидазы IV, белка активации фибробластов и</u> пролилолигопептидазы in vitro

Целью данного анализа являлось определение IC_{50} различных ингибиторов рекомбинантной дипептидилпептидазы IV (DPPIV) человека, белка активации фибробластов (FAP) или пролилолигопептидазы (PREP).

Анализ выполняли, используя следующие этапы:

- 1 Соединение растворяли в ДМСО до конечной концентрации 100 мМ. Из этого раствора получали 1 мМ базовый раствор при рН 7,5 в 50 мМ трис, 140 мМ NaCl буфере (FAP)/ рН 7,5 или в 25 мМ Трис, 250 мМ NaCl буфере / рН 8,0 140 мМ NaCl буфере (PREP).
- 2. Последовательно разбавляли (1:10) базовые 1 мМ растворы исходного соединения, полученного ранее, соответствующим буфером для анализа (FAP: 50 мМ трис, 140 мМ NaCl, pH 7,5 /PREP: 25 мМ трис, 0,25 М NaCl, pH 7,5/DPPIV: 25 мМ трис, pH 8,0) в одном ряду 96-луночного планшета.
- 3. Получали 20-кратный раствор субстрата (FAP и PREP: 2,5 мМ Z-Gly-Pro-AMC (VWR, № в каталоге I-1145.0050BA) в ДМСО / DPPIV : 100 мМ Gly-Pro-AMC (VWR, № в каталоге 100042-646) в ДМСО)

- путем разбавления базовых растворов в ДМСО соответствующим буфером для анализа.
- 4. Ферменты разбавляли соответствующими буферами для анализа. Конечные концентрации ферментов должны были составлять 0,1, 1,2 и 0,6 нМ для DPPIV, FAP и PREP, соответственно. Добавляли 180 µл в каждую лунку в столбцах 2-10. В столбец 1(A,B,C) следовало внести 200 мкл соответствующего буфера для анализа в качестве контроля. В столбец 1(D,E,F,G,H) следовало внести 20 мкл соответствующего буфера для анализа и 180 мкл фермента в качестве контроля без ингибитора.
- 5. При необходимости добавляли 20 µл исследуемого соединения из планшета для разбавления, приготовленного на этапе 2, в столбцы 2-10 планшета для анализа. Каждый образец следовало тестировать в трех повторностях. Планшет инкубировали в течение 10 минут при комнатной температуре, встряхивая в течение первых двух минут.
- 6. В каждую лунку добавляли по 10 µл 20-кратного субстрата, полученного на этапе 3, и инкубировали в течение 15 минут при комнатной температуре, встряхивая планшет в течение первых двух минут.
 - 7. Считывали флуоресценцию при $\lambda_{воз6}$: 380, $\lambda_{нсп}$: 460.

5

20 Сводная информация о соединениях, содержащих DOTA|DOTAGA-[XXaa]n-DPcore (группа I), и результатах их анализа in vivo приведены в таблице 4. (DPcore = [dAla|dSer|Gly]-[борРго|Рго-нитрил], XXaa = альфа-аминокислота)

Таблица 4: Соединения группы I, содержащие DOTA|DOTAGA-[XXaa]n-DPcore

Соединен	Структура, название	Групп	FAP IC50	ПРЕП. IC50	DPPIV IC50
ие		a	(HM)	(HM)	(HM)
4535		I	290	>10000	
	P		(нов	(новое	
	HO		ые 33)	10000)	
	HO N N O =				
	OH " Ö HO B OH				
	Ö				
	DOTA-D-ala-борРго				
4535CU	- Control and Coperio	I			
	Q.				
	HO N N O -				
	" о ^в он				
	DOTA[(Cu(II)]-D-ala-борРго				
4535GD		I	760	>10000	
	O				
	>n n n n n n n n n n n n n n n n n n n				
	о — Gd] Ö П Ö но В ОН				
	0 1				
	DOTAL(Cd/(III)) D ala SanDra				
	DOTA[(Gd(III)]-D-ala-борРго				<u> </u>

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	ПРЕП.	DPPIV
ие		a	IC50 (HM)	IC50 (нМ)	IC50 (нМ)
6508		I	62	(22.12)	(111/1)
	DOTA-Val-D-ala-борРro				
	ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная интенсивность): 654,1 ([М - H2O + H]+, 100), 321,0 (17); tr = 7,5 мин.				
6508CU	221,0 (11), the 1,0 min.	I	26,2		
	DOTA[(Cu(II)]-Val-D-ala-6opPro				
	ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная интенсивность): 715,3 ([М - H2O + H]+, 100), 351,2 (78); tr = 7,2 мин.				
6508GD	DOTA[(Gd(III)]-Val-D-Ala-борРго ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная интенсивность): 803,0 ([М - H2O + H]+, 100); tr = 7,6 мин.				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	ПРЕП.	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
(500		T	(HM)	(нМ)	(нМ)
6509	_	I	186,2		
	L L				
	HO OH OHONDOH				
	но				
	l				
	DOTA-Ser-D-ala-6opPro				
	ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная				
	интенсивность): 642,1 ([M - H2O + H]+, 100), 314,1 (32); tr = 7,1 мин.				
6509CU	514,1 (52), ti 7,1 MMII.	I	127,6		
	Ŷ				
	N N N N N N N N N N N N N N N N N N N				
	но С С В ОН В НО В ОН				
	DOTA[(Cu(II)]-Ser-D-ala-борРго				
	ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная				
	интенсивность): 703,0 ([M - H2O + H]+, 100),				
6511	345,9 (93); tr = 7,2 мин.	I	71,7		
0311	0	1	/ 1, /		
	OH 0 E				
	HO HO HO DOH				
	но				
	DOTA-ala-D-ala-борРro				
	ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная				
	интенсивность): 626,0 ([M - H2O + H]+, 100),				
	307,3 (9); tr = 7,3 мин.				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	ПРЕП.	DPPIV
ие		a	IC50 (HM)	IC50 (нМ)	IC50 (нМ)
6511CU		I	(HIVI)	(HIVI)	(HIVI)
	HO N CU N HO HO HO				
	DOTA[(Cu(II)]-ala-D-ala-борРго ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная интенсивность): 687,3 ([M - H2O + H]+, 100), 337,7 (44); tr = 7,4 мин.				
6511 GD	0	I	428,2		
	DOTA[(Gd(III)]-ala-D-ala-борРго ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная интенсивность): 781,7 ([М - H2O + H]+, 24), 774,1 (100), 392,8 (44); tr = 7,4 мин.				
6512	771,1 (100), 332,0 (11), ti 7,1 Mill.	I	73,1		
	DOTA-Gly-D-ala-борРго ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная интенсивность): 612,1 ([М - H2O + H]+, 100); tr = 7,1 мин.				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50	ПРЕП. IC50	DPPIV IC50
			(нМ)	(нМ)	(нМ)
6512CU	DOTA[(Cu(II)]-Gly-D-ala-борРго ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная	I			
	интенсивность): 674,0 ([M - H2O + H]+, 100),				
6521	331,0 (22); tr = 7,3 мин.	I	6,9		
	OH N N I HO HO OH				
	DOTA-Gly-Val-D-ala-борРго ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная интенсивность): 711,1 ([M - H2O + H]+, 100); tr = 7,5 мин.				
6521CU	DOTA[(Cu(II)]-Gly-Val-D-ala-борРго ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная интенсивность): 773,2 ([М - H2O + H]+, 100), 769,1 (25), 388,8 (33); tr = 7,7 мин.	I			
6521GA	DOTA(Ga)-Gly-Val-D-ala-борРго	I	277		

Соединен	Структура, название	Групп а	FAP IC50	ПРЕП. IC50	DPPIV IC50
			(нМ)	(нМ)	(нМ)
6521HCL		I			
	OH OH				
	HO N N				
	SH N N N N N N N N N N N N N N N N N N N				
	DOTA-Gly-Val-D-ala-борРro-OH				
6521LU		I			
	Î				
	о о о оно оно				
	Комплекс 6521-Lu: DOTA(Lu)-Gly-Val-D- ala-борРго				
6522	aia-00pi 10	I	12	13000	>100000
0322	0	1			
	HO HO OH				
	\\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\				
	DOTA-Gly-Gly-Val-D-ala-6opPro (POINT)				
	ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная интенсивность): 768,2 ([М - H2O + H]+, 100),				
	377,3 (82); tr = 7,5 мин.				
6522-03	, (/,	I			
	HO N N T T T T T T T T T T T T T T T T T				
	Ho, and				
	но				
	BOTH CL CL WID 1 7 D				
	DOTA-Gly-Gly-Val-D-ala-бopPro				
	(POINT)				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	ПРЕП.	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
			(нМ)	(нМ)	(нМ)
6522CU	HO NO HO OH	I	3,5		
	DOTA[(Cu(II)]-Gly-Gly-Val-D-ala-борРго ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная интенсивность): 830,3 ([M - H2O + H]+, 100), 826,5 (18), 416,6 (64); tr = 7,7 мин.				
6522GA		I			
	HO H				
	Комплекс 6522-Ga: DOTA(Ga)-Gly-Gly-Val-				
6522 G A-	D-ala-борPro	I	575	19000	>100000
02	Ga HO HO HO	1	373	15000	100000
	Комплекс 6522-Ga: DOTA(Ga)-Gly-Gly-Val-				
	D-ala-борPro				
6522L	HO H	I	>100 000	7,6	3400
	DOTA-Gly-Gly-Val-ala-борРго(L-ala)				
6522LU	DOTA(I) CI CI VID I C D	I	26	19000	>100000
	DOTA(Lu)-Gly-Gly-Val-D-ala-6opPro				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	ПРЕП.	DPPIV
ие		a	IC50 (HM)	IC50 (HM)	IC50 (нМ)
6522LU- 03	POTA(L) CL. CL. VI D. L. C. D.	I			
6522LU-	DOTA(Lu)-Gly-Gly-Val-D-ala-6opPro	I			
04	DOTA(Lu)-Gly-Gly-Val-D-ala-борРго				
6522M	DOTA(Lu)-Gry-Gry-Var-D-ara-oopFro	I	280		
	DOTA-Gly-Gly-Val-D-ala-6opPro-MIDA				
6522M-02	DOTA-OIY-Vai-D-ata-oopi 10-1VIIDA	I			
	OH N HO				
(522) (02	DOTA-Gly-Gly-Val-D-ala-борРго-MIDA	T			
6522M-03	OH NOH	I			
(700) 50	DOTA-Gly-Gly-Val-D-ala-борPro-MIDA				
6522MG A	DOTA(Ga)-Gly-Gly-Val-D-ala-6opPro-MIDA	I			
	DO 171(Oa)-Ory-Ory- var-D-ara-Oopt 10-MIDA		l		

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	ПРЕП.	DPPIV
ие		a	IC50 (HM)	IC50 (нМ)	IC50 (нМ)
6522MLU		I	(III.2)	(III.2)	(11.12)
	DOTA(Lu)-Gly-Gly-Val-D-ala-борРro-MIDA				
6522MLU -02		I			
(522MLII	DOTA(Lu)-Gly-Gly-Val-D-ala-6opPro-MIDA	T			
6522MLU -03	DOTA(Lu)-Gly-Gly-Val-D-ala-6opPro-MIDA	I			
6522MLU		I			
-04	DOTA(Lu)-Gly-Gly-Val-D-ala-бopPro-MIDA				
6790	BOTA(Lu)-City-City-Var-D-ata-coopt 10-tv1DA	I	106,8	157000	
	DOTA-Gly-Gly-Val-D-ala-дифтор-Pro-				
(5 0:	нитрил			15.00	
6794	SH S	I	33	17400	
	DOTAGA-Gly-Gly-Val-D-ala-борРro (6522-DOTAGA)				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	ПРЕП.	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
6505		*	(HM)	(HM)	(нМ)
6795		I	8,9	5520	
	° > > \				
	OH OH P				
	O HO B-OH				
	DOTAGA CLAVIDA C. D. (6521				
	DOTAGA-Gly-Val-D-ala-6opPro (6521-DOTAGA)				
6795D	DOTAGA)	I	17	7450	>100000
01930	o	ı	17	7430	7 100000
	но				
	OH OH				
	OH Y				
	н П н по в он				
	(R)-DOTAGA-Gly-Val-D-ala-борРro				
6795 D -05	(it) Do intoit Gif var D and copile	I			
	o II				
	но				
	OH OH				
	N M				
	OH				
	о то но в он				
	(R)-DOTAGA-Gly-Val-D-ala-борРro				
6795 D -07	0	I			
	J				
	Q +0				
	ÓH OH				
	J OH S ₽ ≣ [
	b ohn hin				
	Н ∥ <u></u> Н ∥ <u>}</u> Ь ОН				
	HO THE CALL OF WARD A CO.				
	(R)-DOTAGA-Gly-Val-D-ala-борРro				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	ПРЕП.	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
(705DC)		т	(HM)	(HM)	(HM)
6795DGA	(R)-DOTAGA(Ga)-Gly-Val-D-ala-6opPro	Ι	310	9400	>100000
	(комплекс 6795D-Ga)				
6795DGA -02	(R)-DOTAGA(Ga)-Gly-Val-D-ala-борРго (комплекс 6795D-Ga)	I			
6795DLU	(ROMILIERE 0792D Ga)	I	60	10000	>100000
	(P) DOTAGA(I v) Gly Val D ala SanPra				
	(R)-DOTAGA(Lu)-Gly-Val-D-ala-борРго (комплекс 6795D-Lu)				
6795DM- 02	(R)-DOTAGA-Gly-Val-D-ala-6opPro-MIDA	I			
	(6795D-MIDA)				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50	ПРЕП. IC50	DPPIV IC50
I MC		a	(HM)	(HM)	(HM)
6795DM GA		I			
	° / ° / ° / ° (R)-DOTAGA(Ga)-Gly-Val-D-ala-борРго- MIDA (комплекс 6795DM-Lu)				
6795DM GA-02	0	I			
	(R)-DOTAGA(Ga)-Gly-Val-D-ala-борРго- MIDA (комплекс 6795DM-Lu)				
6795DML	WIDT (ROMINERC 0173DW Ed)	I			
U					
	(R)-DOTAGA(Lu)-Gly-Val-D-ala-борРго- MIDA (комплекс 6795DM-Lu)				
6795LLU	HO H	I	20,1	6388	
	(S)-DOTAGA-Gly-Val-D-ala-борРго (комплекс 6795L-Lu)				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50 (HM)	ПРЕП. IC50 (нМ)	DPPIV IC50 (HM)
6804	HO H	I			
	DOTA-Gly-Gly-Val-D-ala-Pro(цис-4F)- нитрил				
6808	OH	I	11,5		
6808D	(R/S)-DOTAGA-(Gly)3-Val-D-ala-борРго	I	11,5	10980	
00000	(R)-DOTAGA-(Gly)3-Val-D-ala-борPro		11,0	10,00	
6808DGA	(N)-DOTAGA-(GIy)5- Vai-D-aia-oopi to	I	89		
	HO HOH				
6834	(R)-DOTAGA(Ga)-(Gly)3-Val-D-ala-борРго	I	26,8		
0054	DOTA-(Gly)3-Val-D-ala-борРro	1	20,0		

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	ПРЕП.	DPPIV
ие		a	IC50 (HM)	IC50 (HM)	IC50 (нМ)
6834GA		I	439	(IIIVI)	(IIIVI)
	, i				
	1 9-1-1-X				
	DOTA(Ga)-(Gly)3-Val-D-ala-борРго				
6839		I	21		
	HO OH IN THE HOUSE				
	DOTA-(Gly)4-Val-D-ala-борРro				
6839 G A		I	258		
60.40	DOTA(Ga)-(Gly)4-Val-D-ala-6opPro	т	14.0		
6848	DOTA-(Gly)5-Val-D-ala-борРro	I	14,8		
6848-02	•	I			
	HO S				
	DOTA-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Val-D-ala- борРго				
6848GA		I	180		
	DOTA(Ga)-(Gly)5-Val-D-ala-борРro				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50 (HM)	ПРЕП. IC50 (нМ)	DPPIV IC50 (HM)
6850		I	21		
607061	DOTA-(Gly)6-Val-D-ala-6opPro	7			
6850GA		I			
6060	DOTA(Ga)-(Gly)6-Val-D-ala-6opPro	т	21		
6868		I	21		
6868GA	DOTAGA-(Gly)4-Val-D-ala-борРго	I			
0000QA		1			
	DOTAGA(Ga)-(Gly)4-Val-D-ala-борРro				
6869	DOTAGA-(Gly)5-Val-D-ala-6opPro	I	1,1		
6869 G A		I			
	DOTACA (Ca) (Cl) 5 Val Dala San Da				
6870	DOTAGA(Ga)-(Gly)5-Val-D-ala-борРro	I	9,2		
06/0	DOTAGA-(Gly)6-Val-D-ala-бopPro	1	9,2		
6870GA		I			
	Explored States of the states				
	DOTAGA(Ga)-(Gly)6-Val-D-ala-6opPro				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	ПРЕП.	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
			(нМ)	(нМ)	(нМ)
6921	ОН Д Д Д Д Д Д Д Д Д Д Д Д Д Д Д Д Д Д Д	I			
	HO H				
	DOTA-Gly-Gly-Val-D-ala-OH (соль HCl) [продукт распада 6522 в кислоте]				
6936		I			
	OH NOH HO HO HO HO				
	DOTA-ala-Val-D-ala-борРго [ala-аналог 6521]				
6937	OH NO NO HO NO	I			
	DOTA-Val-Val-D-ala-борРго [аналог 6521 Val]				
6939	HO HO HO HO HO	I			
	DOTA-ala-Gly-Val-D-ala-борРго [аналог 6522]				

Сводная информация о соединениях, содержащих DOTA|DOTAGA-алкил-[XXaa]n-DPcore (группа IA), и результатах их анализа in vivo приведена в таблице 5.

Таблица 5: Соединения группы IA, содержащие DOTA|DOTAGA-алкил-[XXaa]n-DPcore

5

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	ПРЕП.	DPPIV
ие		a	IC50 (нМ)	IC50 (нМ)	IC50 (нМ)
6614		IA	(HIVI)	(HIVI)	(HIVI)
	un /2				
	HO				
	1 Tol K				
	но				
((1404	DOTA-ΓAMK-Val-D-ala-бopPro	TA	210		
6614 G A	0	IA	218		
	ر ا				
	of N da N a s a c				
	но в он				
	о DOTA(Ga)-ГАМК-Val-D-ala-борРro				
6615	DOTA(Ga)-i Aivik-vai-b-aia-ooprio	IA	121		
0010	QOH	1			
	OH N MIN HIT HIT				
	HO OH				
	но				
	\ <u>\</u>				
661504	DOTA-бета-ala-Val-D-ala-борРго	TA			
6615 G A	0	IA			
	ф но в он				
	\ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \				
	DOTA(Go) Some ale Vel D ale Sembre				
6940	DOTA(Ga)-бета-ala-Val-D-ala-борРго	IA	5,2		
0270	O	¹²	7,2		
	н н п				
	но но он				
	но				
	DOTA-PEN-Val-D-ala-борРro				
	[PEN = 5-аминопентановая кислота]				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50	ПРЕП. IC50	DPPIV IC50
l ne		a	(HM)	(HM)	(HM)
6940-02		IA			
	HO H				
	DOTA-AVA-Val-D-ala-борРго [6522 аналог]				
6940GA	Ga N HO HO	IA	109,8		
	DOTA(Ga)-PEN-Val-D-ala-борРго [PEN = 5- аминопентановая кислота]				
6940LU	,	IA	23,6		
	DOTA(Ly) DEN Val D als San Bus IDEN = 5				
	DOTA(Lu)-PEN-Val-D-ala-борРго [PEN = 5- аминопентановая кислота]				
6946	HO OH HO OH	IA			
	DOTAGA-PEN-Val-D-ala-борРго [PEN = 5-аминопентановая кислота]				
6947	DOTA-OCT-Val-D-ala-борРго	IA			
	[ОСТ= 8-аминооктановая кислота]	<u> </u>	<u> </u>	<u> </u>	

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	ПРЕП.	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
(a) 1 = (a)		T .	(HM)	(нМ)	(нМ)
6947 G A	o o	IA	219		
	Но но но но				
	DOTA(Ga)-OCT-Val-D-ala-борРго [OKT= 8-				
	аминооктановая кислота]				
6948		IA			
	L. L				
	OH N O = F				
	HO HO HO				
	O DOTA HEW MAD A G. D.				
	DOTA-HEX-Val-D-ala-борPro				
6948GA	[НЕХ = 6-аминогексановая кислота]	IA	144		
0340UA	O III	IA	177		
	но он				
	DOTA(Ga)-HEX-Val-D-ala-6opPro [HEX = 6-				
	аминогексановая кислота]				
6949		IA			
	Lou o				
	но в но в он				
	HO				
	DOTA-HEP-Val-D-ala-борPro				
	[НЕР = 7-аминогептановая кислота]				
6949 G A	,	IA	181		
	A.H.A.HIIA				
	но он				
	[° T)				
	DOTA(Ga)-HEP-Val-D-ala-6opPro [HEP = 7-				
	аминогептановая кислота]				

Сводная информация о соединениях, содержащих DOTA|DOTAGA-[XXaa]n-[ароматический радикал]-DPcore (группа II), и результатах их анализа in vivo приведена в таблице 6.

Таблица 6: Соединения группы II, содержащие DOTA|DOTAGA-[XXaa]n-5 [ароматический радика]-DPcore

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50 (нМ)	IC50 (HM)	IC50 (нМ)
4536		II	9	750	84000
	HO H				
4526.02	DOTA-HyNic-D-ala-борРro	TT			
4536-02	DOTA-HYNIC-D-ala-6opPro	II			
4536-03	•	II			
	DOTA-HyNic-D-ala-6opPro				
4536GA		II			
	DOTA(Ga)-HYNIC-D-ala-борРго [HYNIC = гидразинникотинамид]				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50 (нМ)	IC50 (нМ)	IC50 (нМ)
4536GD (то же, что и 5180)	DOTA(Gd)-HYNIC-D-ala-6opPro	П	450	>10000	>100000
	ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная интенсивность): 844,9 ([М - H2O + H]+, 30), 422,5 (100); tr = 9,0 мин (0-3 мин: 5% В; 3-9 мин: 5-15% В; 9-14 мин: 15-25% В).				
4536LU	THE HOP OH	II			
	DOTA(Lu)-HYNIC-D-ala-борРго [HYNIC = гидразинникотинамид]				
5183 (то же, что и 4536В)	DOTA-HyBz-D-ala-6opPro	П	5.3 (3.2 в пред варит ельно м вариа нте)	910	
5183-02 (то же, что и 4536В- 02)	HO H	II			
	DOTA-HyBz-D-ala-борРro				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50 (нМ)	IC50 (нМ)	IC50 (нМ)
5183CU		II	10,3	(III(I)	(III/I)
(то же, что и 6481)	HO NO HO HO BOH				
	DOTA(Cu)-HyBz-D-ala-борPro				
5183GA	HO CH	П	46,1		
	DOTA(Ga)-HyBz-D-ala-борРro				
6481	DOTA[Cu(II)]-HyBz-D-ala-6opPro	П			
6481S (то же, что и 5183)	H H H H H H H H H H H H H H H H H H H	II			
	DOTA-HyBz-D-ala-борРro				
6487 (то же, что и 6487S)	HO H	П	2,1		
	DOTA-Gly-HyBz-D-ala-борРго				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
			(нМ)	(нМ)	(нМ)
6487CU ****		II	8,8		
	DOTA(Cu)-Gly-HyBz-D-ala-борРго				
6487GA		II	20,8	1201	
640=777	DOTA(Ga)-Gly-HyBz-D-ala-борPro				
6487LU	DOTA(Lu)-Gly-HyBz-D-ala-борРго	II	8,8	34	
6487S-02	DOTA(Eu)-Gry-TryBz-B-ara-oopt to	II			
	DOTA-Gly-HyBz-D-ala-6opPro				
6555		II	3,8	870	>100000
	рота-Амву-р-аlа-борРго [Aмву: 4-аминометилбензойная кислота] жх-мс (иЭР+) m/z (относительная				
	интенсивность): 688,0 ([M - H2O + H]+, 100), 345,4 (65); tr = 7,6 мин.				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50 (нМ)	IC50 (нМ)	IC50 (нM)
6555-02		II	(HIVI)	(HIVI)	(HIVI)
	DOTA-AMBS-D-ala-6opPro[AMBS: 4-				
	DOTA-AMBS-D-ala-борРго[AMBS: 4-аминометилбензойная кислота]				
6555GA	HO HO HO	II	55	3600	>100000
	DOTA(Ga)-AMBS-D-ala-борРro [AMBS: 4-аминометилбензойная кислота]				
6555GA- 02	DOTA(Ga)-AMBS-D-ala-6opPro [AMBS: 4-	II			
	аминометилбензойная кислота				
6555GA- 03	HO HO	II			
	DOTA(Ga)-AMBS-D-ala-борРro [AMBS: 4-				
	аминометилбензойная кислота]				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
6555HCL		П	(нМ)	(нМ)	(нМ)
033311CL	9 =	11			
	OH N				
	N HO HO HO				
	QH O				
	HO				
	8				
	Соль HCl и DOTA-AMBS-D-ala-борРго [AMBS: 4-аминометилбензойная кислота]				
6555LU	[АМВЗ: 4-аминометилосизоиная кислота]	II	14	3400	>100000
033320	8 =	"	1.	3100	100000
	N HO HO HO HO				
	9				
	Ö				
	DOTA(Lu)-AMBS-D-ala-6opPro [AMBS: 4-				
6555LU-	аминометилбензойная кислота]	II			
02		111			
02					
	но но но				
	1 1 N N N N N N N N N N N N N N N N N N				
	[~ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \				
	DOTA(Lu)-AMBS-D-ala-борРro [AMBS: 4-				
	аминометилбензойная кислота]				
6555TB	,	II			
	9 9 1				
	" В но в он				
	The state of the s				
	DOTA/Th) AMDS D als Sear Day (AMDS) 4				
	DOTA(Tb)-AMBS-D-ala-борРго [AMBS: 4-аминометилбензойная кислота]				
	ammonominomoniomia knonoraj	l	l		

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50 (HM)	IC50 (нМ)	IC50 (HM)
6556		II	2,4	(HIVI)	(HIVI)
	DOTA-аминометил-Nic-D-ala-борРro		,		
	ЖХ-МС (ИЭР+) м/х (относительная				
	интенсивность): 689,2 ([М - H2O + H]+, 100),				
	345,8 (42); tr = 7,4 мин.				
6556GA	HO HO HO	II	32	248	
	DOTA(Ga)-аминометил-Nic-D-ala-борРго				
6556LU	DOTA(Lu)-аминометил-Nic-D-ala-борРro	II	2,9	895	
6572		II	1,6		
	DOTA-PABA-D-ala-борРго ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная интенсивность): 674,0 ([М - H2O + H]+, 81), 339,0 (100); tr = 7,7 мин.				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP IC50	PREP IC50	DPPIV IC50
ие		a	(HM)	(HM)	(HM)
6572-02		II			
	но				
	OH N				
	N N N N N N N N N N N N N N N N N N N				
	H FO				
	DOTA-PABA-D-ala-борPro				
6572CU	DOTATABA D did oopi io	II			
	Ŷ				
	HON				
	но за				
	DOTA[Cu(II)]-PABA-D-ala-борРго				
	ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная интенсивность): 735,5 ([М - H2O + H]+, 100),				
	729,4 (33), 369,4 (36); tr = 7,7 мин.				
6572GA	7 77 7 77 7	II	25	234	
	O II				
	HO OH				
	DOTA(Ga)-PABA-D-ala-борРro				
6572LU		II	9,5	891	
	N N N N N N N N N N N N N N N N N N N				
	DOTA(Lu)-PABA-D-ala-борРго				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
			(нМ)	(нМ)	(нМ)
6672CU		II			
	l l				
	HO C N				
	N N N N N N N N N N N N N N N N N N N				
	Γ ·				
	DOTA[Cu(II)]-PABA-D-ala-борРго				
6960	•	II			
	H WY				
	O O NAME OF THE PROPERTY OF TH				
	OH OH				
	L SN N				
	d Ho. \				
	(R)-DOTAGA-HYNIC-D-ala-борРго				
6960 G A	(19 20 111011 1111112 D mu oopi 10	II			
	8 = ~				
	O O H O HO BOH				
	N N N N N N N N N N N N N N N N N N N				
	(B) DOTACA(Ca) LIVINIC D ala 5 Di-				
	(R)-DOTAGA(Ga)-HYNIC-D-ala-борРro				

Сводная информация о соединениях, содержащих DOTA|DOTAGA-алкил-[ароматический радикал]-DPcore (группа IIA), и результатах их анализа in vivo приведена в таблице 7.

5

Таблица 7: Соединения группы IIA, содержащие DOTA|DOTAGA-алкил-[ароматический радикал]-DPcore

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
(49)		TTA	(HM)	(нМ)	(нМ)
6486	Q.	IIA	2,8		
	HOLEON BOOK				
	DOTA-HEX-HyBz-D-ala-6opPro				
(40(CI)	[HEX = 6-аминогексановая кислота]	TT A			
6486CU	Ö	IIA			
(то же, что и 6486)					
	DOTAGO LIEVILD D. 1. C. D. HEV				
	DOTA(Cu)-HEX-HyBz-D-ala-борРго [HEX = 6-аминогексановая кислота]				
6486GA	о-аминогексановая кислотај	IIA	81	4700	>100000
0460 G A	ç	ПА	01	4700	/100000
	DOTA(Ga)-HEX-HyBz-D-ala-6opPro [HEX =				
	6-аминогексановая кислота]				
6486LU		IIA			
(то же,	Å				
что и 6775)	THE PROPERTY OF THE PROPERTY O				
	DOTA(Lu)-HEX-HyBz-D-ala-борРro [HEX =				
	6-аминогексановая кислота]				
6486S		IIA			
	но				
	HO COM THE				
	DOTA-HEX-HyBz-D-ala-6opPro[HEX = 6-				
	аминогексановая кислота]				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50 (HM)	PREP IC50 (HM)	DPPIV IC50 (HM)
6486S-02		IIA			
	P P				
	9 HO				
	The state of the s				
	ОН				
	DOTA-HEX-HyBz-D-ala-6opPro[HEX = 6-				
	аминогексановая кислота				
6486S-03		IIA			
	No.				
	7				
	Lou °				
	DOTA-EACA-HyBz-D-ala-6opPro [EACA =				
	е-аминокапроновая кислота]				
6486 S -04		IIA			
	S HO BOH				
	DOTA-EACA-HyBz-D-ala-6opPro [EACA =				
	е-аминокапроновая кислота]				
6488		IIA	34,3		
	HO CAN TO THE HO. S.				
	DOTAIC (ID) Co. a ala II D. D. ala Camba				
6488S	DOTA[Cu(II)]-бета-ala-HyBz-D-ala-борРго	TTA	8,8		
04003	· ·	IIA	0,0		
	HO.				
	HO C. N. HO HO TO HOLD THE CONTRACT OF THE CON				
	HO GA				
	DOTA-бета-ala-HyBz-D-ala-борРго				
6488S-02	•	IIA			
	a Ho				
	I Su Mark I I Brown				
	Cot I I I I HO				
	DOTA-бета-ala-HyBz-D-ala-борРго				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP IC50	PREP IC50	DPPIV IC50
ие		a	(HM)	(HM)	(HM)
6489		IIA	0,8		
(то же,					
что и	9 = C				
6489S)					
	No hobon				
	рон ^ö				
	DOTA-ГАМК-HyBz-D-ala-борРro				
6489-02		IIA			
	o				
(400 CI I	DOTA[Cu(II)]-ГАМК-HyBz-D-ala-борРго	TTA			
6489CU	0	IIA			
(старое соединен					
ие 6489)					
	DOTA(Cu)-ΓΑΜΚ-HyBz-D-ala-бopPro				
6489GA		IIA	39	3400	>100000
	0				
	THE HOUSE				
	DOTA(Ga)-ГАМК-НуВz-D-ala-борРro				
6489GD	=(cu)	IIA	1,1		
	THE HOUSE				
	DOTA[Gd(III)]-ΓΑΜΚ-HyBz-D-ala-бοpPro				
	ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная				
	интенсивность): 928,4 ([M - H2O + H]+, 23),				
	763,9 (27), 466,4 (100); tr = 7,6 мин.				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50 (HM)	IC50 (нМ)	IC50 (нМ)
6489LU		IIA	(HIVI)	(HIVI)	(HIVI)
	DOTA(Lu)-ΓΑΜΚ-HyBz-D-ala-борPro				
6489S	DOTA-ГАМК-НуВz-D-ala-борРro	IIA			
6489S-02	* *	IIA			
	HO H				
	DOTA-ΓΑΜΚ-HyBz-D-ala-борPro				
6489S-03	но но но но он	IIA			
6489S-04	DOTA-ΓΑΜΚ-HyBz-D-ala-борPro	IIA			
0707 <i>0</i> 7 07	DOTA-ГАМК-HyBz-D-ala-борРro	11/1			
6590		IIA	1,6	129	
	DOTA-PEN-PABA-D-ala-борРго (PEN = 5-аминопентановая кислота)				
	DOTA-PEN-PABA-D-ala-борРго (PEN = 5-аминопентановая кислота)				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50	PREP IC50	DPPIV IC50
l ne		u	(HM)	(HM)	(HM)
6590-02	DOTA-PEN-PABA-D-ala-борРго (PEN = 5-аминопентановая кислота)	IIA			
6590GA	рота(Ga)-PEN-PABAD-ala-борРго (PEN = 5-аминопентановая кислота)	IIA	15		
6590LU	DOTA(Lu)-PEN-PABA-D-ala-борРго (PEN = 5-аминопентановая кислота)	IIA	0,4		
6591	DOTA-ГАМК-АМВS-D-ala-борРго [AMBS: 4-аминометилбензойная кислота]	IIA	0,36	103	
6591-02	рота-гамк-аминометил-Вz-D-ала-борРго	IIA			

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
6591 G A		IIA	(нМ)	(нМ)	(нМ)
	Ge N I N I N I N I N I N I N I N I N I N				
	The first state of the state of				
	DOTA(Ga)-ΓΑΜΚ-AMBSD-ala-борPro				
(FO1777	[AMBS: 4-аминометилбензойная кислота]	** 1			
6591LU	0	IIA			
	The state of the s				
	DOTA(Lu)-ΓΑΜΚ-ΑΜΒSD-ala-бορPro				
	[AMBS: 4-аминометилбензойная кислота]				
6609		IIA			
	HO.				
	HO N N N N N N N N N N N N N N N N N N N				
	COH HO HO				
	8				
6609 G A	DOTA-ΓAMK-HyNIC-D-ala-борРго	IIA			
0009 U A		IIA			
	N HOW OH				
CCOOLII	DOTA(Ga)-ΓΑΜΚ-HYNIC-D-ala-борPro	TTA	1	60	
6609LU	Q.	IIA	1	60	
	The state of the s				
	8				
	DOTA(Lu)-ΓΑΜΚ-HYNIC-D-ala-борPro				
6958	0	IIA	3,2		
	но				
	N N N N N N N N N N N N N N N N N N N				
	о от он				
	DOTA-HEX-HYNIC-D-ala-6opPro [HEX = 6-				
	аминогексановая кислота]				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50 (нМ)	IC50 (нМ)	IC50 (нM)
6958GA		IIA	(HIVI)	(HIVI)	(HIVI)
0320011	0	1111			
	OF THE HOUSE				
	DOTA(Ga)-HEX-HYNICD-ala-6opPro [HEX				
	= 6-аминогексановая кислота]				
6958LU		IIA	1,1	155	
	— — — — — — — — — — — — — — — — — — —				
	DOTA(Lu)-HEX-HYNICD-ala-6opPro [HEX				
	= 6-аминогексановая кислота]				
6962	(R)-DOTAGA-ΓΑΜΚ-HYNIC-D-ala-бopPro	IIA			
6962GA	(D) DOTA CA (Ca) FAMIC HVALIC D. also	IIA			
	(R)-DOTAGA(Ga)-ГАМК-HYNIC-D-ala- борРго				

Сводная информация о соединениях, содержащих DOTA|DOTAGA-[XXaa]n-[циклоалкил]-DPcore (группа III) и результатах их анализа in vivo приведена в таблице 8.

Таблица 8: Соединения группы III, содержащие DOTA|DOTAGA-[XXaa]n-[циклоалкил]-DPcore

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
		III	(нМ) 4,7	(нМ) 4600	(нM) >100000
BocHN	OH NO HO HO B OH	111	4,7	4000	~100000
	DOTA-TXA-D-ala-борРго [TXA = транексамовая кислота]				
6952					
6952-02	DOTA TYA D ala San Bra	III			
	DOTA-TXA-D-ala-борРго [TXA = транексамовая кислота]				
6952GA	Lo ALLAN	III	87	50000	80000
	H I HO NOH				
	DOTA(Ga)-TXA-D-ala-6opPro [TXA =				
	транексамовая кислота]				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50 (HM)	IC50 (нМ)	IC50 (нM)
6952GA-		III	(III·I)	(IIIVI)	(IIIVI)
02	N HO OH				
	DOTA(Ga)-TXA-D-ala-борPro [TXA =				
6952HCL	транексамовая кислота]	III			
	OH HO OH				
	Соль HCl и DOTA-TXA-D-ala-борРго [TXA				
	= транексамовая кислота]				
6952LU	HO HO	III	14	21000	>100000
	DOTA(Lu)-TXA-D-ala-6opPro [TXA =				
6952LU- 02	транексамовая кислота]	III			
	HO HO HO				
	DOTA(Lu)-TXA-D-ala-борРго[TXA = транексамовая кислота]				

	Групп	FAP	PREP	DPPIV
	a	IC50 (нМ)	IC50 (нМ)	IC50 (нМ)
NO POPOH	Ш			
о-TXA-D-ala-борРго [TXA = овая кислота]				
HO BOH	III			
GA-TXA-D-ala-борРro				
CA(Ca) TVA Parks Sau Park	III			
UA(Ua)-1XA-D-ala-00pPro	III			
GA-Gly-TYA-D-ala-fonPro				
	GA(Ga)-TXA-D-ala-борРго	GA(Ga)-TXA-D-ala-борРго III	GA(Ga)-TXA-D-ala-борРro	GA(Ga)-TXA-D-ala-борРro

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
			(нМ)	(нМ)	(нМ)
6964 G A		III			
	(R)-DOTAGA(Ga)-Gly-TXA-D-ala-6opPro				

Сводная информация о соединениях, содержащих DOTA|DOTAGA-алкил-[циклоалкил]-DPcore (группа IIIA), и результатах их анализа in vivo приведены в таблице 9.

5 Таблица 9: Соединения группы IIIA, содержащие OTA|DOTAGA-алкил-[циклоалкил]-DPcore

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
			(нМ)	(нМ)	(нМ)
6965	OH NO OH	IIIA			
	о (R)-DOTAGA-bala-TXA-D-ala-борРго				
6965 G A	(N)-DOTAGA-bala-TAA-D-ala-oopi to	IIIA			
	(R)-DOTAGA(Ga)-bala-TXA-D-ala-борРго				

6966	9	IIIA		
	OH OH OH			
	(R)-DOTAGA-ΓΑΜΚ-ΤΧΑ-D-ala-бopPro			
6966 G A		IIIA		
	(R)-DOTAGA(Ga)-ΓΑΜΚ-TXA-D-ala-			
	борРго			

Сводная информация о других соединениях и результатах их анализа in vivo приведена в таблице 10.

Таблица 10: Соединения

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
			(нМ)	(нМ)	(нМ)
2054			16	58	1
	H ₂ N BOH				
	Val-борРro				
3860	H ₂ N N HO HO HO		170	9800	>100000
	N-(6-гидразинилникотинкарбонил)-D-ala- борРго				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50	PREP IC50	DPPIV IC50
			(нМ)	(нМ)	(нМ)
4613B	HO SOH		8,8,	390	>100000
46126	IRDye800CW-3860		1,7	610	
4613C	HO H		1,/	610	
4624	IRDye 800CW-3860B				
4634	Н ₂ N НО В ОН НО В ОН N-(4-гидразинбензоил)-D-Ala-борРго				
6415	HIN HIN CH				
647.6	Производное GHK-(4613C) (C7)				
6416	Производное GHK-(4613C) (C6)				
6417					
	HN HN HO OH				
	Производное GHK-(4613С) (С4)				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50 (HM)	PREP IC50 (HM)	DPPIV IC50 (HM)
6418	HON				
C410	Производное GHK-(4613C) (C5)				
6419	Производное АНК-(4613C) (С7)				
6425	производное инк (1013с) (ст)				
- 1 <u>-</u> -	N HO OH				
	Клик-производное N-(4-BPA-C6-гидразинбензоил)-D-Ala-борРго				
6430					
	HIVE SHIP HOUSE				
6421	Производное N2S2-(C7)-4613C				
6431	Hen CH HO BOH				
	SAR-NH-(C7)-4613C				
6432	HAN HAN OH				
	Производное DAHK-(4613C)				
6433	HO OH HO OH				
6455	Производное GHK-медь-(4613C) (С7)				
6455	но н				
	OD 111211 1013 C	I	I		<u> </u>

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50 (HM)	PREP IC50 (HM)	DPPIV IC50 (HM)
6523	HO HO OH				(22.2)
	Производное D-Ala-борРго FAPI-2				
6524	HO NOH				
6540	Производное D-Ala-борРго FAPI-46				
02.10	HO OH HO NH HO BOH				
	4536В с альбумин-связывающей группой				
6541	но н				
6549	Н ₂ N ОН Lys(DOTA)-борРго ЖХ-МС (ИЭР+) m/z (относительная интенсивность): 612,1 ([М - H2O + H]+, 100), 300,5 (10); tr = 6,9 мин.		2,9		

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50 (HM)	PREP IC50 (HM)	DPPIV IC50 (HM)
6551	но он о		2		
6554					
	HO H				
6557	DOTA-HyNaph-D-Ala-борРrо				
	DO3A-Nic-D-Ala-6opPro				
6558	0				
	HO N N N N N N N N N N N N N N N N N N N				
	DO3A-Bz-D-Ala-борРro				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50	PREP IC50	DPPIV IC50
		u u	(нМ)	(HM)	(нМ)
6563	он он он но он он он он он он он он он о				
6564					
	HO H				
	NOTA-HyBz-D-Ala-борРro				
6565	NOTA-аминометил-Вz-D-Ala-борРго				
6566	1				
	HO HO HO				
	DOTA-метиламино-Bz-D-Ala-борРго				
6569	NOTASA-HyBz-D-Ala-6opPro				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50 (HM)	IC50 (нМ)	IC50 (HM)
6570			(==:=)	()	()
	HO H				
6571	NOTAGA-HyBz-D-Ala-борРго				
0371	OH OH OH OH OH OH				
6574	DOTASA-HyBz-D-Ala-борРго				
	HO NO HO BOH				
	DOTA-винил-Bz-D-Ala-борРго				
6575	но но во				
6580	2011 Amie III. wimio DE D'I ili vopi io				
	рота-Анера-Нувг-р-Аlа-борРго (Анера = 7-аминогептановая кислота)				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50 (HM)	PREP IC50 (HM)	DPPIV IC50 (HM)
6581	HO HO OH		(III-1)	(IIIVI)	(III-1)
	DOTA-APenA-HyBz-D-Ala-борРго (APenA = 5-аминопентановая кислота)				
6583	HO H				
6584	NOTASA-ΓAMK-HyBz-D-Ala-борРго				
	HO HO BOH				
	NOTAGA-ΓΑΜΚ-HyBz-D-Ala-σοpPro				
6585	рота-Аоа-НуВz-D-Аla-борРго (AOA = 8-аминооктановая кислота)				
6586					
	он Вон Вон Вон Вон Вон Вон Вон Вон Вон В				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50	PREP IC50	DPPIV IC50
			(нМ)	(нМ)	(нМ)
6610	HO H				
	DOTA-TATE (оксодотреотид) LUTATHERA				
6601D	HO OH HO OH				
	DOTA-D-Lys(IRDye)-ΓΑΜΚ-HyBz-D-Ala- σοpPro				
6613	HO HO HO HO HO				
	DOTA-DAVA-Val-D-Ala-борРго [DAVA = 5-аминовалериановая кислота]				
6616	DOTA-AEAC-Val-D-Ala-борРro [AEAC =				

Соединен	Структура, название	Групп а	FAP IC50	PREP IC50	DPPIV IC50
			(HM)	(HM)	(HM)
6617					
	но М Он				
	CH HO OH				
	рота-EACA-Val-D-Ala-борРго [EACA = e-				
	аминокапроновая кислота				
6618	,				
	8				
	но Л ОН				
	но он				
	DOTA-AEPA-Val-D-Ala-6opPro [AEPA = 3-				
6619	(2-Аминоэтокси)пропановая кислота]				
0019					
	The state of the s				
	04,000000000000000000000000000000000000				
	DOTA-[FAMK-HyBz-D-Ala-fopPro]4				
6623	DOTA-[TAMK-Hybz-D-Ala-oopF10]4				
5025	8				
	но у он				
	N NO HOUSE				
	но				
	DOTA-ГАМК-аминометил-Nic-D-Ala-				
	борРго				
6626					
	но У Он				
	N N N N N N N N N N N N N N N N N N N				
	HO THO				
	DOTA-DAVA-PABA-D-Ala-6opPro [DAVA				
	= 5-аминовалериановая кислота]				I

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
6627			(нМ)	(нМ)	(нМ)
	Q OH				
	8 N N N N N N N N N N N N N N N N N N N				
	но				
	DOTA-диаминобутан-дикарбоксибензол-D-Ala-борPro				
6628	Ala-00pi 10				
0020	Q OH				
	HO NO III				
	HO OH HO OH				
	DOTA-диаминопропан-CMBA-D-Ala-				
	бор Pro [CMBA = 4-				
6629	(карбоксиметил)бензойная кислота]				
0029	o.				
	OH H I H I I				
	HO N N				
	HO				
	0				
6630	DOTA-D-Ala-Gly-Val-D-Ala-6opPro				
6630	O, OH				
	HO (N N) 0 0 = (
	OH N N N N N N N N N N N N N N N N N N N				
	H H H H HOPEON				
	DOTA-Gly-Ala-D-Ala-борPro				
6631					
	OH				
	HO N N 8				
	H H H H H H H H H H H H H H H H H H H				
	он но				
((22	DOTA-Gly-Ser-D-Ala-борРro				
6632					
	OH OH				
	HO N K B				
	A T T T T T T T T T T T T T T T T T T T				
	НО				
	DOTA-Gly-Gly-D-Ala-борРro				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50	PREP IC50	DPPIV IC50
			(нМ)	(нМ)	(нМ)
6633	он Non				
6634	1				
	рота-рауановая кислота]				
6635					
	но н				
6636	рота-аминопропил-Вz-D-Ala-борРго				
6637					
	DOTA-Lys(ABM)-Gly-Gly-Val-D-Ala- fopPro				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50 (HM)	PREP IC50 (HM)	DPPIV IC50 (HM)
6638			(HIVI)	(HIVI)	(HIVI)
	DOTA-D-Lys(DOTA)-Gly-Gly-Val-D-Ala-				
6640	борРго				
0040					
	DOTA-Lys(ABM)-Gly-Gly-Val-D-Ala- борРго				
6643					
	DOTA-Lys(пиперазиндиацетил-Gly-Gly- Val-D-Ala-борРго)-Gly-Gly-Val-D-Ala- борРго				
6644	HO HO CH				
	DOTA-Lys(пиперазиндиацетил-ГАМК- HyBz-D-Ala-борРго)-ГАМК-HyBz-Val-D- Ala-борРго				

Соединен ие	Структура, название	Групп а	FAP IC50 (HM)	PREP IC50 (HM)	DPPIV IC50 (HM)
6645	OF OH HO OH		(HIVI)	(HIVI)	(filVI)
	DOTA-Lys(ABM)-ΓΑΜΚ-HyBz-D-Ala- σοpPro				
6951	HO H	Прочее			
	DOTA-TXA-Val-D-ala-борРго [TXA = транексамовая кислота]				
6951GA	DOTA(Ga)-TXA-Val-D-ala-6opPro [TXA =	Прочее			
	транексамовая кислота				
6967	HO H	Проч ее			
	DOTA-AMBS-Val-D-ala-борРго[AMBS: 4-аминометилбензойная кислота]				

Соединен	Структура, название	Групп	FAP	PREP	DPPIV
ие		a	IC50	IC50	IC50
			(нМ)	(нМ)	(нМ)
6967 G A		Проч	65		
	. 4	ee			
	Solution House				
	DOTA(GA)-AMBS-Val-D-ala-6opPro				
	[AMBS: 4-аминометилбензойная кислота]				

Пример 16: Получение [68Ga]-6522

5

10

15

20

Вышеописанное радиофармацевтическое средство [68Ga]-6522 можно получать при следующих условиях: 73 нмоль радиохимического предшественника 6522 (пример 5 выше), 0,5 М ацетата натрия, 0,4 М N-ацетилметионина и приблизительно 400 МБк GaCl₃ в общем объеме 7,875 мл при рН 4,0 нагревали при 90 °C в течение 20 мин при встряхивании. Реакционную смесь разбавляли 40 мл воды и очищали с использованием картриджа для твердофазной экстракции С18, предварительно кондиционированного этанолом и водой. Полученный продукт элюировали 2 мл этанола и выпаривали этанол. Упаренный продукт разбавляли 0,6 мл 0,9% физиологического раствора и добавляли 70 мкл 1 М раствора NaOH для доведения рН до значения 5,0. Полученный продукт стерильно фильтровали (Millex-GV, 0,22 мкм).

Эффективность мечения анализировали с помощью мгновенной тонкослойной хроматографии (iTLC), она, как правило, составляла >90%. Для iTLC-анализа 1 мкл продукта наносили на полоску бумаги для хроматографии iTLC-SG (Agilent, P/N SGI0001, 114 см х 2,5 см) и проявляли в 30% CH₃CN / 70% 1M NH₄OAc (миграция растворителя 6,5 см), оценивая свободный 68 Ga и 68 Ga-коллоид (Rf \sim 0) и [68 Ga]-6522 и родственные ему примеси (Rf \sim 0,7). iTLC-полоски анализировали с помощью сканера Eckert & Ziegler AR-2000 Radio-TLC Imaging Scanner.

Радиохимическую чистоту анализировали с помощью высокоэффективной хроматографии (ВЭЖХ), она обычно составляла >98%. Вкратце, продукт анализировали с использованием колонки Phenomenex Luna 3,0 мкм C18(2), 100Å, 150 мм х 4,6 мм. Элюент А: 50 мМ ацетат аммония в воде, элюент В: ацетонитрил. Градиент: 2% В от 0 - 5 мин; 2-26% В от 5 - 20 мин; 26-98% В от 20 - 25 мин; 98-2% В от 25 – 26 мин; 2% В от 26 - 30 мин. Скорость потока: 1,0 мл/мин, детектор радио-ВЭЖХ: NaI (Eckert & Zeigler FC-1000), УФ: 215 нм.

Пример 17: Получение [177Lu]-6522

10

15

20

25

5

Вышеописанное радиофармацевтическое средство [177Lu]-6522 можно получать при следующих условиях: 73 нмоль/мл радиохимического предшественника 6522 (пример 5 выше), 80 мМ ацетата натрия, 0,4 М N-ацетилметионина и 7,8 ГБк/мл 177LuCl3 при рН 4 в общем объеме 0,26 мл нагревали при 70°С в течение 15 мин при встряхивании. Реакционную смесь разбавляли 2,34 мл буфера, получая следующие конечные условия: 8 мМ ацетата натрия, 0,2 М N-ацетилметионина, 6,5 мг/мл аскорбата натрия и 0,1 мг/мл DTPA при рН 5. Полученный продукт стерильно фильтровали (Millex-GV, 0,22 мкм).

Эффективность мечения анализировали с помощью мгновенной тонкослойной хроматографии (iTLC), она, как правило, составляла >98%. Для iTLC-анализа 1 мкл разбавленного меченного раствора наносили на полоску бумаги для хроматографии iTLC-SA (Agilent P/N A120B12, 114 x 2,5 мм) и проявляли 0,1 М цитратным буфером (миграция растворителя 8 см), оценивая свободный ¹⁷⁷Lu (Rf >0,5) и [¹⁷⁷Lu]-6522 (Rf ~ 0). iTLC-полоски анализировали с помощью сканера Eckert & Ziegler AR-2000 Radio-TLC Imaging Scanner. Радиохимическую чистоту анализировали с помощью высокоэффективной хроматографии (ВЭЖХ), она обычно составляла >70%. Вкратце, продукт анализировали с использованием колонки Phenomenex Luna 3,0 мкм C18(2), 100Å, 150 мм х 4,6 мм. Элюент А: 50 мМ ацетат аммония в воде, элюент В: ацетонитрил. Градиент: 2% В от 0 - 5 мин; 2-26% В от 5 - 20 мин; 26-98%

В от 20 - 25 мин; 98-2% В от 25 – 26 мин; 2% В от 26 - 30 мин. Скорость потока: 1,0 мл/мин, детектор радио-ВЭЖХ: NaI (Eckert & Zeigler FC-1000), УФ: 215 нм.

Пример 18: Дополнительный вариант получения [177Lu]-6522

5

10

15

Вышеописанное радиофармацевтическое соединение [177Lu]-6522 можно получить при следующих условиях: приблизительно 58 мкг/мл соединения 6522 (пример 5 выше), 70 мМ ацетата натрия, 0,2 М N-ацетилметионина и 7,8 ГБк/мл 177LuCl₃ при рН 4 в общем объеме 1,27 мл нагревали при 90 °C в течение приблизительно 15 мин при встряхивании. Реакционную смесь разбавляли 17,43 мл буфера, получая следующие конечные условия: 0,2 М ацетат натрия, 0,2 М N-ацетилметионин, при рН 6.

Радиохимическую чистоту анализировали с помощью высокоэффективной хроматографии (ВЭЖХ), она обычно составляла >85%. Вкратце, 20 мкл разбавленного продукта анализировали с использованием колонки Luna C18(2). Элюент А: 50 мМ ацетат аммония в воде, элюент В: ацетонитрил, градиент 2% В (5 мин), от 2% до 26% В в течение 15 мин и до 98% В в течение 5 мин, скорость потока 1,1 мл/мин, детектор: радиодетектор NaI (Eckert & Ziegler), длина волны УФ/видимого света 215 нм.

20

Пример 19: [177Lu]-6555

Вышеописанное радиофармацевтическое средство [177Lu]-6555 можно получать при следующих условиях: 73 нмоль/мл радиохимического

предшественника 6555 (пример 13 выше), 0,2 М ацетата натрия, 10 мг/мл аскорбата натрия, 5 мг/мл гентизиновой кислоты, 0,1 М N-ацетилметионина и 4,0 ГБк/мл ¹⁷⁷LuCl₃ при рН 4,5 в общем объеме 0,5 мл нагревали при 50 °C в течение 40 мин при встряхивании. Реакционную смесь разбавляли 4,5 мл буфера, получая следующие конечные условия: 20 мМ ацетата натрия, 0,2 М N-ацетилметионина, 6,5 мг/мл аскорбата натрия, 0,5 мг/мл гентизиновой кислоты и 0,1 мг/мл DTPA при рН 5.

Эффективность мечения анализировали c помощью мгновенной тонкослойной хроматографии (iTLC), она, как правило, составляла >98%. Для iTLCанализа 1 мкл разбавленного меченного раствора наносили на полоску бумаги для хроматографии iTLC-SA (Agilent P/N A120B12, 114 x 2,5 мм) и проявляли 0,1 М цитратным буфером (миграция растворителя 8 см), оценивая свободный ¹⁷⁷Lu (Rf >0,5) и [177 Lu]-6555 (Rf \sim 0). iTLC-полоски анализировали с помощью сканера Eckert & Ziegler AR-2000 Radio-TLC Imaging Scanner. Радиохимическую чистоту анализировали с помощью высокоэффективной хроматографии (ВЭЖХ), она обычно составляла >90%. Вкратце, продукт анализировали с использованием колонки Phenomenex Luna 3,0 мкм C18(2), 100Å, 150 мм х 4,6 мм. Элюент А: 50 мМ ацетат аммония в воде, элюент В: ацетонитрил. Градиент: 2% В от 0 - 5 мин; 2-26% В от 5 - 20 мин; 26-98% В от 20 - 25 мин; 98-2% В от 25 – 26 мин; 2% В от 26 - 30 мин. Скорость потока: 1,0 мл/мин, детектор радио-ВЭЖХ: NaI (Eckert & Zeigler FC-1000), УФ: 215 нм. Радиохимическая чистота оставалась на уровне >90% в течение трех суток при комнатной температуре.

Пример 20: [177Lu]-6952

5

10

15

20

25

Вышеописанное радиофармацевтическое средство [177Lu]-6952 можно получать, как описано в примере 19, с использованием радиохимического предшественника 6952 (пример 14 выше). Эффективность мечения анализировали с помощью мгновенной тонкослойной хроматографии (iTLC), она, как правило, составляла >98%. Для iTLC-анализа 1 мкл разбавленного меченного раствора

наносили на полоску бумаги для хроматографии iTLC-SA (Agilent P/N A120B12, 114 х 2,5 мм) и проявляли 0,1 М цитратным буфером (миграция растворителя 8 см), оценивая свободный 177 Lu (Rf >0,5) и [177 Lu]-6952 (Rf \sim 0). iTLC-полоски анализировали с помощью сканера Eckert & Ziegler AR-2000 Radio-TLC Imaging Scanner. Радиохимическую чистоту анализировали с помощью высокоэффективной хроматографии (ВЭЖХ), она обычно составляла >90%. Вкратце, продукт анализировали с использованием колонки Phenomenex Luna 3,0 мкм C18(2), 100Å, 150 мм х 4,6 мм. Элюент А: 50 мМ ацетат аммония в воде, элюент В: ацетонитрил. Градиент: 2% В от 0 - 5 мин; 2-26% В от 5 - 20 мин; 26-98% В от 20 - 25 мин; 98-2% В от 25 – 26 мин; 2% В от 26 - 30 мин. Скорость потока 1,0 мл/мин, детектор радио-ВЭЖХ: NaI (Eckert & Zeigler FC-1000), УФ 215 нм. Радиохимическая чистота оставалась на уровне >90% в течение трех суток при комнатной температуре.

Пример 21: [68Ga]-6555

15

20

25

5

10

Вышеописанное радиофармацевтическое средство [68Ga]-6555 можно получать при следующих условиях: 73 нмоль радиохимического предшественника 6555 (пример 7 выше), 0,5 М ацетата натрия, 0,4 М N-ацетилметионина и приблизительно 1200 МБк GaCl₃ в общем объеме 7,875 мл при рН 4,0 нагревали при 90 °C в течение 20 мин при встряхивании. Реакционную смесь разбавляли 40 мл воды и очищали с использованием картриджа для твердофазной экстракции С18, предварительно кондиционированного этанолом и водой. Полученный продукт элюировали 3 мл этанола и выпаривали этанол. Упаренный продукт разбавляли 0,5 мл физиологического раствора с фосфатным буфером и добавляли 70 мкл 1 М раствора NaOH для доведения рН до значения 5,0. Полученный продукт стерильно фильтровали (Millex-GV, 0,22 мкм).

Эффективность мечения анализировали с помощью мгновенной тонкослойной хроматографии (iTLC), она, как правило, составляла >95%. Для iTLC-анализа 1 мкл продукта наносили на полоску бумаги для хроматографии iTLC-SG

(Agilent, P/N SGI0001, 114 см х 2,5 см) и проявляли в 30% СН₃CN / 70% 1М NH₄OAc (миграция растворителя 6,5 см), оценивая свободный 68 Ga и 68 Ga и 68 Ga-коллоид (Rf \sim 0) и [68 Ga]-6555 и родственные ему примеси (Rf \sim 0,7). iTLC-полоски анализировали с помощью сканера Eckert & Ziegler AR-2000 Radio-TLC Imaging Scanner. Радиохимическую чистоту анализировали с помощью высокоэффективной хроматографии (ВЭЖХ), она обычно составляла >95%. Вкратце, продукт анализировали с использованием колонки Phenomenex Luna 3,0 мкм C18(2), 100Å, 150 мм х 4,6 мм. Элюент А: 50 мМ ацетат аммония в воде, элюент В: ацетонитрил. Градиент: 2% В от 0 - 5 мин; 2-26% В от 5 - 20 мин; 26-98% В от 20 - 25 мин; 98-2% В от 25 – 26 мин; 2% В от 26 - 30 мин. Скорость потока: 1,0 мл/мин, детектор радио-ВЭЖХ: NaI (Eckert & Zeigler FC-1000), УФ: 215 нм. Радиохимическая чистота оставалась на уровне >95% в течение 4 часов при комнатной температуре.

Пример 22: [68Ga]-6952

15

20

25

5

10

Вышеописанный продукт [68Ga]-6952, меченный радиоактивным изотопом, получали при следующих условиях: 73 нмоль радиохимического предшественника 6952 (пример 14 выше), 0,5 М ацетата натрия, 0,4 М N-ацетилметионина и приблизительно 1200 МБк GaCl₃ в общем объеме 7,875 мл при рН 4,0 нагревали при 90 °C в течение 20 мин при встряхивании. Реакционную смесь разбавляли 40 мл воды и очищали с использованием картриджа для твердофазной экстракции С18, предварительно кондиционированного этанолом и водой. Полученный продукт элюировали 2 мл этанола и выпаривали этанол. Упаренный продукт разбавляли 0,5 мл физиологического раствора с фосфатным буфером и добавляли 65 мкл 1 М раствора NaOH для доведения рН до значения 5,0. Полученный продукт стерильно фильтровали (Millex-GV, 0,22 мкм).

Эффективность мечения анализировали с помощью мгновенной тонкослойной хроматографии (iTLC), она, как правило, составляла >95%. Для iTLC-анализа 1 мкл продукта наносили на полоску бумаги для хроматографии iTLC-SG

(Agilent, P/N SGI0001, 114 см х 2,5 см) и проявляли в 30% СН₃CN / 70% 1М NH₄OAc (миграция растворителя 6,5 см), оценивая свободный 68 Ga и 68 Ga и 68 Ga-коллоид (Rf \sim 0) и [68 Ga]-6952 и родственные ему примеси (Rf \sim 0,7). iTLC-полоски анализировали с помощью сканера Eckert & Ziegler AR-2000 Radio-TLC Imaging Scanner. Радиохимическую чистоту анализировали с помощью высокоэффективной хроматографии (ВЭЖХ), она обычно составляла >95%. Вкратце, продукт анализировали с использованием колонки Phenomenex Luna 3,0 мкм C18(2), 100Å, 150 мм х 4,6 мм. Элюент А: 50 мМ ацетат аммония в воде, элюент В: ацетонитрил. Градиент: 2% В от 0 - 5 мин; 2-26% В от 5 - 20 мин; 26-98% В от 20 - 25 мин; 98-2% В от 25 – 26 мин; 2% В от 26 - 30 мин. Скорость потока: 1,0 мл/мин, детектор радио-ВЭЖХ: NaI (Eckert & Zeigler FC-1000), УФ: 215 нм. Радиохимическая чистота оставалась на уровне >95% в течение 4 часов при комнатной температуре.

Пример 23: Исследование биораспределения in vivo

Исследование биораспределения выполняли с использованием [177Lu]-6522 (также называемого соединением №2) в группе самцов мышей Fox Chase ТКИН, несущих опухоль после инокуляции клеток линии НЕК-mFAP, с помощью гаммасчетчика. В схеме исследования использовали 15 мышей (средняя масса 22,7 ± 1,4 г), которым вводили [177Lu]-6522 посредством инъекции. Каждой мыши внутривенно (в/в) вводили [177Lu]-6522, объем инъекции составлял 175 мкл, 9,05 ± 0,70 МБк. Животных в каждой группе (n = 3-5) умерщвляли в определенные моменты времени, выполняли сердечную пункцию для сбора крови и собирали органы через 4 ч, 24 ч, 48 ч и 168 ч после инъекции. Органы иссекали, взвешивали и измеряли их активность с использованием γ-счетчика (165,6-364,3 кэВ). Поглощение в опухоли и в здоровой ткани выражали в %ПD/г.

Материалы и способы

5

10

15

20

25

30

Животные и их содержание

Мышей Fox Chase SCID, код линии 236, приобрели для этого исследования в Charles River Laboratories (Кингстон, штат Нью-Йорк, США). До начала эксперимента животных содержали в группах по 5 особей. Животных акклиматизировали в течение семи дней до начала исследования. Все эксперименты на животных были одобрены комитетом по уходу за животными Университетской

сети здравоохранения (UHN) и соответствуют этическим принципам Канадского совета по уходу за животными. Животных содержали при постоянной температуре (20 °C) и 40% относительной влажности при режиме 12 ч освещения/12 ч темноты, предоставляя свободный доступ к корму и воде.

Массу тела животных измеряли и регистрировали через 4 дня после инокуляции клеток линии НЕК-mFAP и контролировали до дня инъекции радиофармацевтического средства. Животные не голодали перед введением препарата. Масса тела в день введения радиоизотопного индикатора представлена в таблице 11.

10

5

Таблица 11: Масса тела на дату исследования.

Группа	Мышь	Пол	Macca
	MOU001	Самец	19,3 г
	MOU002	Самец	22,3 г
	MOU003	Самец	23,1 г
	MOU004	Самец	24,0 г
	MOU005	Самец	21,5 г
Полятия 2 —	MOU006	Самец	23,1 г
Партия 2 =	MOU007	Самец	21,1 г
соединение №2	MOU008	Самец	25,1 г
1102	MOU009	Самец	23,3 г
	MOU010	Самец	21,2 г
	MOU011	Самец	19,4 г
	MOU012	Самец	24,0 г
	MOU013	Самец	21,3 г
	MOU014	Самец	23,7 г
	MOU015	Самец	22,3 г

Культивирование и инокуляция клеток

- 5 Клетки НЕК-mFAP культивировали в RPMI 1640 (VWR, кат. № 45000-404) с добавлением:
 - 1. 2 мМ L-глутамина (VWR, № в каталоге 45000-676)
 - 2. 10 мМ HEPES (VWR, № в каталоге 45000-690)
 - 3. 1 мМ пирувата натрия (VWR, № в каталоге 45000-710)
 - 4. 4500 мг/л глюкозы (VWR, № в каталоге 45001-116)
 - 5. 1х пенициллина-стрептомицина (VWR, № в каталоге 45000-652)
 - 6. 10% FBS (Thermo Fisher Scientific, № в каталоге 10082147)

Клетки культивировали в атмосфере 5% CO₂ при 37 ° C. Ксенотрансплантаты опухоли вводили самцам Fox Chase ТКИН в возрасте 7-9 недель (Charles River Laboratories, код линии 236) путем подкожной инъекции в правый бок 4×10^6 клеток в 100 мкл RPMI 1640 без фенолового красного (VWR, № в каталоге 45000-410), с добавлением компонентов согласно описанию для ростовой среды, но без антибиотиков и FBS. Клетки инокулировали при пересеве №9, жизнеспособности >90%. Инокуляцию выполняли 16 мышам из 1 партии и 15 мышам из 2 партии.

20

10

15

Объем опухоли и рандомизация мышей

Исследования биораспределения проводили через 30 суток после инокуляции опухолевых клеток, когда средний объем опухоли составлял 51.8 ± 44.4 мм 3 для мышей, которым вводили соединение №2 ([177 Lu]-6522). Объем опухоли рассчитывали с использованием формулы V = длина \times ширина $^2 \times 0.5$. В таблице 13 показана рандомизация животных в соответствии с объемом опухоли.

Таблица 13: Объем опухоли мышей, которым вводили соединение №2 посредством инъекции во время введения

Мышь	Код мыши	Объем опухоли (мм³)	Группа	Средний объем опухоли (мм³)
MOU001	С1_красный	25,3		
MOU002	С3_синий	60,0	1 (4 ч)	$50,1\pm21,6$
MOU003	С3_черный	65,0		
MOU004	С2_синий	27,4		
MOU005	С1_белый	54,1	2 (24 ч)	$50,1\pm21,1$
MOU006	С1_черный	68,9		
MOU007	С2_зеленый	37,0		
MOU008	С2_белый	54,0	3 (48 ч)	42,8±31,1
MOU009	С1_синий	77,1	3 (40 4)	42,0±31,1
MOU010	В1_С2_красный	3,2		
MOU011	С2_красный	39,5		
MOU012	С3_красный -> синий	44,4		
MOU013	С1_зеленый	191,6	4 (168 ч)	$61,1\pm74,3$
MOU014	В1_С2_черный	22,1		
MOU015	В2_С2_черный	8,1		

10

15

20

5

Использование и качество партии [177Lu]-6522

Использовали один флакон, содержащий [177Lu]-6522 с радиохимической чистотой 85,98% (полученный в соответствии с примером 17A).

Подготавливали шприцы с дозой 9,05 ± 0,70 МБк [177Lu]-6522 (соединение №2). Дозу инъекции рассчитывали путем вычитания остаточной активности в шприце с поправкой на распад после инъекции из активности в шприце с поправкой на распад перед инъекцией. Сводная информация о дозе инъекции на животное и на группу приведена в таблице 15.

Анестезия, введение дозы

Мышей анестезировали изофлураном (Fresenius Kabi Canada Ltd.) (5% индукция, 1,5-2% поддержание). Катетер 27 калибра (набор для вливания 27G с крылышками, длина 15 см, SAI Infusion Technologies) помещали в хвостовую вену и вручную вводили ~ 145-175 мкл метки. Фактическая доза, вводимая каждому

животному, приведена в таблице 15. После инъекции катетер промывали 30 мкл физиологического раствора.

Таблица 15: Доза инъекции (МБк) соединения №2 ([¹⁷⁷Lu]-6522)

Мышь	Идентификатор мыши	Доза инъекции (МБк)	Группа	Среднее ± СО (МБк)
MO U001	С1_красный	8,5		
MOU002	С3_синий	8,46	1	$9,76 \pm 0,48$
MOU003	С3_черный	9,31		
MOU004	С2_синий	9,01	2	0.22 + 0.22
MOU006	С1_черный	9,66	2	$9,32 \pm 0,33$
MOU007	С2_зеленый	9,06		
MOU008	С2_белый	8,91	3	0.00 + 0.06
MOU009	С1_синий	10,22	3	$9,08 \pm 0,86$
MOU 010	В1_С2_красный	8,14		
MOU 011	С2_красный	8,02		
MOU012	С3_красный-> синий	10,15	4	0.07 . 0.00
MOU013	С1_зеленый	8,7		$8,97 \pm 0,98$
MOU014	В1_С2_черный	8,13		7
MOU015	В2_С2_черный	9,86		

Исследования биораспределения

5

10

15

20

Исследования биораспределения выполняли через 4, 24, 48 ч и 168 ч после инъекции (р.і). В каждый момент времени умерщвляли три-пять мышей, собирали и взвешивали опухоли, образцы крови и нормальных тканей и измеряли радиоактивность в каждой из них с помощью γ -счетчика. Поглощение в опухоли и здоровой ткани выражали как среднее \pm SEM от процента введенной дозы на грамм (%ID/г).

Сбор данных гамма-счетчика

Радиоактивность органов/тканей измеряли с помощью гамма-счетчика (1480 WIZARD 3", Perkin Elmer; 60 секунд времени подсчета на флакон). Количество импульсов преобразовывали в активность с использованием коэффициента пересчета, полученного из известного объема и известной радиоактивности (МВq) стандартного образца, подсчитываемой каждый раз при измерении органов с использованием образца [177Lu]-6522 в зависимости от используемой партии животных. В этом способе все значения активности по своей природе включали поправку на распад в зависимости от времени введения.

Процент введенной дозы (%ID) на орган рассчитывали по следующей формуле:

%ID = активность органа с поправкой на распад [МБк] / доза инъекции [МБк] х 100%

5

15

20

25

30

Процент введенной дозы на грамм массы органа (%ID/г) рассчитывали для каждого органа по следующей формуле:

 $\%ID/\Gamma = \%ID$ /масса органа [г]

10 Результаты и обсуждение

Одну (1) партию состава [177 Lu]-6522 вводили в общей сложности 15 самцам мышей Fox Chase ТКИН. Подсчет гамма-импульсов в различных органах *ex vivo* выполняли через 4 ч, 24 ч, 48 ч и 168 ч (n = 3-5) после введения радиоизотопного индикатора.

Сводные итоговые значения поглощения, выраженные в %ID/г для соединения №2, приведены ниже в таблице 19.

Для соединения №2 наибольшее поглощение в опухоли и наименьшие концентрации радиоактивности в крови и других здоровых тканях наблюдали в момент 4 ч после инъекции. Соединение №2 продемонстрировало высокое поглощение в опухоли уже через 4 часа после инъекции, составлявшее $33,04 \pm 5,29\%$ ID/г. Почки демонстрировали поглощение, аналогичное поглощению соединения №1 и составлявшее $2,35 \pm 0,51\%$ ID/г через 4 ч, причем указанное поглощение снижалось со временем до $0,17 \pm 0,02\%$ ID/г на 7 день, как показано в таблице 19.

В почках обнаружено более высокое поглощение по сравнению со всеми другими органами, что указывает на то, что основной путь выведения осуществляется через почки. Обнаружено, что кожа мышей демонстрировала высокую радиоактивность через 4 часа после инъекции, что могло быть связано с выведением соединения с мочой и загрязнением кожи мышей радиоактивной мочой. Таблица 19. %ID/г для каждого органа/ткани, представляющей интерес, по группам для соединения №2 ([¹¹7¹Lu]-6522)

	4 ч			24 ч			48 ч			168 ч		
	Среднее (%ID/г)	SEM	N									
Кровь	0,3063	0,0396	3	0,0085	0,0041	3	0,0029	0,0004	4	0,0015	0,0006	5
Сердце	0,1528	0,0268	3	0,0332	0,0017	3	0,0311	0,0019	4	0,0256	0,0024	5
Легкое	0,3331	0,0612	3	0,0306	0,0022	3	0,0312	0,0037	4	0,0257	0,0052	5
Печень	0,3774	0,1388	3	0,1585	0,0052	3	0,1237	0,0157	4	0,0725	0,0155	5
Селезенка	0,2587	0,0381	3	0,1418	0,0066	3	0,1340	0,0187	4	0,1437	0,0244	5
Поджелудоч ная железа	0,2167	0,0398	3	0,0347	0,0029	3	0,0275	0,0032	4	0,0197	0,0026	5
Желудок	0,1706	0,0422	3	0,0528	0,0062	3	0,0331	0,0033	4	0,0210	0,0013	5
Тонкий кишечник	0,2091	0,0406	3	0,0580	0,0107	3	0,0499	0,0035	4	0,0277	0,0023	5
Почки	2,3525	0,5142	3	0,9585	0,1048	3	0,5318	0,0748	4	0,1670	0,0192	5
Мышца	0,4649	0,1099	3	0,0315	0,0059	3	0,0518	0,0137	4	0,0604	0,0198	5
Кость	1,8037	0,4928	3	0,2658	0,0424	3	0,4106	0,0675	4	0,3959	0,0319	5
Кожа	0,9769	0,1414	3	0,1158	0,0058	3	0,0906	0,0047	4	0,0837	0,0173	5
Головной мозг	0,0281	0,0063	3	0,0036	0,0002	3	0,0033	0,0010	4	0,0020	0,0002	5
Опухоль	33,0435	5,2904	3	12,9944	0,3178	3	7,6749	1,0601	4	3,9910	0,5492	5

Вывод:

10

20

Соединение №2 ([177Lu]-6522) демонстрировало высокую степень локализации в ксенотрансплантатах опухоли и низкое поглощение в здоровой ткани до 168 ч р.i.

Пример 24: Исследование эффективности и выживаемости

Цель исследования заключалась в оценке терапевтической эффективности однократной инъекции 177 Lu-PNT2004 ([177 Lu]-6522) путем оценки задержки роста опухоли и медианной выживаемости.

 177 Lu-PNT2004 ([177 Lu]-6522) поставляли в 3 концентрациях, готовых для инъекции (80 мкл/мышь), вводимую дозу определяли с использованием счетчика для лунок (калибровка Capintec) №430х10.

15 $[^{177}$ Lu]-6522 поставляли, как описано выше в примере 17. Получили следующие композиции для обработки:

- 1. Среда-носитель (выбранный состав, 100 мкл)
- 2. Предшественник (соединение 6522) (80 мкл)
- 3. [¹⁷⁷Lu]-6522 15 МБк (80 мкл)
- 4. [¹⁷⁷Lu]-6522 30 МБк (80 мкл)
 - 5. [¹⁷⁷Lu]-6522 60 МБк (80 мкл)

Для исследования использовали в общей сложности 30 мышей с опухолью HEK-mFAP. Ксенотрансплантаты опухоли вводили самцам мышей Fox Chase ТКИН (6-8 недель, Charles River Laboratories) путем подкожной инъекции в правый бок 5 миллионов клеток HEK-mFAP в 100 мкл PBS.

Проверки состояния здоровья мышей выполняли на протяжении всего исследования на еженедельной основе, включая измерения массы тела. Рост опухоли контролировали еженедельно с помощью измерений штангенциркулем (объем опухоли = длина \times ширина $^2 \times 0,5$). Конечные показатели исследования включали размер опухоли \times 2 см в любом измерении, изъязвление опухоли, терминальное состояние мышей и потерю массы тела на \times 15% по сравнению с последним измерением. Мышей помещали в клетку со свободным доступом к пище и воде при температуре окружающей среды 20 °C, 40%—50% влажности и режиме 12 ч освещенности/12 ч темноты.

Мышей рандомизировали в 5 групп, n=6 мышей в группе. Композиции для обработки (1-5 выше) вводили внутривенно через хвостовую вену с использованием катетера (с иглой 30 калибра). Дозы инъекции определяли с помощью счетчика для лунок (калибровка Capintec). Рост опухоли контролировали еженедельно посредством измерений с помощью штангенциркуля, отслеживали выживаемость мышей.

20 Результаты:

5

10

15

25

30

Собирали данные об объеме опухоли и данные анализа выживаемости.

- Ни в одной из экспериментальных групп не наблюдали потери массы тела
- Только доза [177Lu]-6522 60 МБк продемонстрировала статистически значимое преимущество по отношению к выживаемости по сравнению с группой средыносителя или предшественника (см. фиг. 2). Все мыши из группы [177Lu]-652260 МБк все еще были живы через 50 дней после обработки (см. фиг. 2).
- Задержку роста опухоли наблюдали в группах [177 Lu]-6522 15 и 30 МБк (фигура 1), хотя эта задержка роста опухоли не приводила к повышению выживаемости (фигура 2).
- В группе [177 Lu] -6522 60 МБк опухоль регрессировала до \sim 43 дня после обработки, а затем начала повторно расти (см. рисунок 1)

Исследование прекратили через 57 дней после начала лечения.

Пример 25: ПЭТ-визуализация и биораспределение ⁶⁸Ga-6555

5

10

15

20

25

30

Часть 1. Динамическая ПЭТ-визуализация. Целью исследования являлась динамическая ПЭТ/КТ визуализация 68 Ga-6555 у мышей с опухолью НЕК-mFAP для оценки его поглощения и удержания в опухоли с течением времени, а также неспецифического поглощения. Для исследования использовали мышей с опухолями НЕК-mFAP (N=3). ПЭТ-визуализацию ⁶⁸Ga-6555 (полученного в соответствии с примером 20) выполняли на специальном ПЭТ/КТ-сканере для мелких животных (Siemens Multimodality Inveon, Siemens Medical Solutions USA, Inc.). Мышей анестезировали посредством ингаляции 3% изофлурана/медицинского воздуха перед инъекцией радиофармацевтического средства и в течение всего периода сканирования. Для поддержания здоровой центральной температуры тела мышей в периоды нахождения в бессознательном состоянии использовали согревание. После болюсной внутривенной инъекции (в латеральную хвостовую вену) ⁶⁸Ga-6555(в среднем 8 МБк, диапазон 7,7-8,1 МБк) регистрировали динамическую визуализацию эмиссии в формате списка в течение 60 минут. Затем полученные данные сортировали по 0,5-мм отрезкам синограммы и 19-кратным кадрам для реконструкции изображения с использованием FORE/3D-OSEM-MAP. После регистрации ПЭТ получали КТ при низкой дозе (80 кВп, 0,5 мА) для анатомического сопоставления и для обеспечения руководства по определению выбранного объема ткани, представляющего интерес (VOI). Реконструированные изображения ПЭТ/КТ анализировали с помощью программного обеспечения Siemens Inveon Research Workplace. Удержание радиоактивного материала в выбранной ткани получали из средних значений интенсивности воксела в пределах VOI, а затем преобразовывали в мегабеккерели на миллилитр с использованием калибровочного коэффициента, определенного для системы Inveon PET. Затем эти значения делили на введенную активность в мегабеккерелях и массу тела животного, получая стандартизированное значение поглощения на основе VOI изображения (SUV). Авторы изобретения использовали максимальное значение SUV (SUVмакс) в пределах VOI в качестве количественного показателя визуализации, не зависящего от внутренних вариаций ткани. Представленные ПЭТ-изображения представляют собой аксиальные, корональные и сагиттальные срезы, при этом мыши находятся в положении лежа на животе.

Поглощение ⁶⁸Ga-6555 (Ga-6555) наблюдали в опухоли и органах выделительной системы (почках и мочевом пузыре), оно было сопоставимым у трех мышей. Кривая зависимости времени в опухоли и активности ⁶⁸ Ga-6555 указывала на его быстрое накопление (<5 мин) и задержку в опухоли, достигая плато через 60 мин. Данные показаны на фигуре 3 для одной мыши.

5

10

15

20

Часть 2 Биораспределение. Целью исследования являлась оценка биораспределения ⁶⁸ Ga-6555 у мышей с опухолью HEK-mFAP. Для исследования использовали мышей с опухолями HEK-mFAP (N=3). Мышам вводили ~ 8 МБк (диапазон 7,3-8,5 МБк) ⁶⁸ Ga-6555 (полученного в соответствии с примером 20; в/в в хвостовую вену с использованием катетера с иглой 30 калибра). Через 50 минут поглощения (инъекцию выполняли под ингаляционной анестезией изофлураном, мышей выдерживали под анестезией в течение 50 минут), мышей умерщвляли (с использованием CO2) и собирали ткани (кровь посредством сердечной пункции, сердце, легкие, печень, селезенку, поджелудочную железу, желудок, тонкий кишечник, почки, мышцы, бедренную кость, кожу, головной мозг, опухоль). После иссечения в образцах ткани регистрировали радиоактивность галлия-68 на автоматическом гамма-счетчике Соbra-II Auto-Gamma (Packard Instruments, Мериден, штат Коннектикут, США), взвешивали и выражали данные в виде % введенной дозы на грамм (%ПD/г).

Большая часть активности находилась в опухоли (средний %ID/г 10,1). На втором месте по активности находилась почка (средний %ID/г 1,37). Все другие выбранные ткани характеризовались низким уровнем поглощения, сопоставимым с уровнем в мышцах, который считали фоновым уровнем.

%ID/г	#005	#009	#002	CPENIEZ	SEW
Кровь	0,38	0,64	0,67	0,57	0,09
Сердце	0,17	0,43	0,41	0,34	0,08
Легкие	0,39	0,67	0,62	0,56	0,08
Печень	0,79	1,23	1,00	1,51	0,13
Селезенка	0,74	1,34	0,23	0,77	0,32
Поджелудочная железа	0,93	0,42	1,41	0,92	0,29
Желудок	0,21	0,32	0,07	0,20	0,07
Тонкий кишечник	0,19	0,35	0,39	0,31	0,06
Почки	1,03	1,58	1,50	1,37	0,17
Мышца	0,21	1,92	0,09	0,74	0,59
Кость (бедренная)	0,50	0,20	0,31	0,33	0,09
Кожа	0,27	0,25	0,31	0,28	0,02
Головной мозг	0,07	0,10	0,03	0,07	0,02
Опухоль	8,47	11,83	10,01	10,10	0,97

Пример 26: ПЭТ-визуализация и биораспределение ⁶⁸Ga-6952

Выполняли в соответствии с описанием в примере 24 с использованием ⁶⁸Ga-6952, полученного в соответствии с примером 22.

Часть 1 Динамическая ПЭТ-визуализация. Мышам вводили \sim 8,6 МБк (диапазон 7,6-10,0 МБк) 68 Ga-6555. Поглощение 68 Ga-6952 наблюдали в опухоли и органах выделительной системы (почках и мочевом пузыре), оно было сопоставимым у трех мышей. Кривая зависимости времени в опухоли и активности 68 Ga-6952 указывала на его быстрое накопление (<5 мин) и задержку в опухоли, достигая плато через 60 мин.

Биораспределение. Мышам вводили ~8,6 МБк (диапазон 7,6-10,0 МБк). Большая часть активности находилась в опухоли (средний %ID/г 8,8). На втором месте по активности находилась почка (средний %ID/г 2,18). Все другие выбранные ткани характеризовались низким уровнем поглощения, сопоставимым с уровнем в мышцах, который считали фоновым уровнем. Данные представлены ниже.

%ID/r	#008	#016	#007	Creutee	SEM
Кровь	1,22	0,95	1,59	1,25	0,19
Сердце	0,42	0,60	0,76	0,59	0,10
Легкие	0,92	0,72	1,49	1,04	0,23
Печень	0,67	0,57	0,80	0,68	0,07
Селезенка	0,44	0,33	0,42	0,40	0,03
Поджелудочная железа	0,41	0,44	0,36	0,40	0,02
Желудок	0,39	0,29	0,37	0,35	0,03
Тонкий кишечник	0,34	0,19	0,75	0,43	0,17
Почки	2,03	1,66	2,84	2,18	0,35
Мышца	0,21	0,26	0,24	0,23	0,02
Кость (бедренная)	0,44	0,54	0,29	0,42	0,07
Кожа	0,75	0,60	0,92	0,76	0,09
Головной мозг	0,05	0,05	0,04	0,05	0,00
Опухоль	13,30	7,13	5,97	8,80	2,27

Пример 26: Протокол обработки

5

10

15

Пациента-человека отбирали для лечения после постановки диагноза метастатического рака.

[177Lu]-6522 в стерильном водном растворе вводили посредством внутривенной инъекции. Схема введения могла включать четыре вливания по 6,8 ГБк каждое с интервалом в 4 недели.

5

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, представленное следующей формулой I:

$$R - L \xrightarrow{X} R_{3} R_{3} R_{4}$$

Формула І

или его фармацевтически приемлемая соль, причем:

R представляет собой радиоактивную группу, хелатирующий агент (необязательно с хелатированным с ним ионом металла), флуоресцентную группу, фотоакустическую репортерную молекулу, раман-активную репортерную молекулу, контрастный агент, обнаружимую наночастицу или фермент;

 R_1 представляет собой (C_1 - C_6)-алкил;

 R_2 представляет собой -B(-Y¹)(-Y²) или -CN;

 Y^1 и Y^2 независимо представляют собой -OH или вместе с атомом бора, к которому они присоединены, представляют собой группу, гидролизуемую с образованием борной кислоты, или вместе с атомом бора, к которому они присоединены, образуют 5-8-членное кольцо, гидролизуемое с образованием борной кислоты;

 R_3 представляет собой H или (C_1 - C_6)-алкил;

 R_4 отсутствует или представляет собой один, два или три заместителя, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из (C_1-C_6) -алкила, -OH, -NH₂ и атома галогена;

X представляет собой О или S;

L представляет собой связь или линкер.

- 2. Соединение по п. 1, отличающееся тем, что R_1 представляет собой -CH₃ или CH_2CH_3 .
- 3. Соединение по п. 1, отличающееся тем, что R₁ представляет собой -CH₃.
- 4. Соединение по любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что R_2 представляет собой $-B(-Y^1)(-Y^2)$.
- 5. Соединение по любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что R_2 представляет собой $-B(OH)_2$.
- 6. Соединение по любому из пп. 1-5, отличающееся тем, что R_3 представляет собой H.
- 7. Соединение по любому из пп. 1-6, отличающееся тем, что R₄ отсутствует.
- 8. Соединение по любому из п.п. 1-7, отличающееся тем, что X представляет собой O.
- 9. Соединение, представленное следующими формулами II или III:

Формула II

Формула Ш

или его фармацевтически приемлемая соль, причем:

R представляет собой радиоактивную группу, хелатирующий агент (необязательно с хелатированным с ним ионом металла), флуоресцентную группу, фотоакустическую репортерную молекулу, раман-активную репортерную молекулу, контрастный агент, обнаружимую наночастицу или фермент;

L представляет собой связь или линкер.

- 10. Соединение, содержащее: две или более FAP-ингибиторных группы, ковалентно связанные с радиоактивным изотопом или хелатирующим агентом для него, причем указанный агент вызывает интернализацию FAP и радиоизотопа клетками, экспрессирующими FAP.
- 11. Соединение по п. 10, представленное формулой IV

$$R = \begin{bmatrix} X & R_1 \\ R_2 & R_3 & O \end{bmatrix}$$

Формула IV

или его фармацевтически приемлемая соль, причем:

R представляет собой радиоактивную группу или хелатирующий агент для нее, флуоресцентную группу, фотоакустическую репортерную молекулу, раман-активную репортерную молекулу, контрастный агент, обнаружимую наночастицу или фермент;

 R_1 представляет собой (C_1 - C_6)-алкил;

 R_2 представляет собой -B(-Y 1)(-Y 2) или -CN;

 Y^1 и Y^2 независимо представляют собой -OH или вместе с атомом бора, к которому они присоединены, представляют собой группу, гидролизуемую с образованием борной кислоты, или вместе с атомом бора, к которому они присоединены, образуют 5-8-членное кольцо, гидролизуемое с образованием борной кислоты;

 R_3 представляет собой H или (C_1 - C_6)-алкил;

 R_4 отсутствует или представляет собой один, два или три заместителя, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из (C_1-C_6) -алкила, -OH, -NH₂ и атома галогена;

X представляет собой О или S;

L представляет собой связь или линкер; и

п представляет собой целое число от 2 до 6.

- 12. FAP-специфичный модифицированными ФК/БР-для FAPагент c специфической доставки радиоизотопа или визуализирующего агента, содержащий FAP-ингибиторную группу, связанную: (i) с радиоактивной флуоресцентным группой, хелатирующим агентом, красителем или контрастным агентом; и (іі) группой, изменяющей фармакокинетику и/или биораспределение данной молекулы, например, период полувыведения молекулы в сыворотке и/или распределение FAP-специфичного агента с модифицированными ФК/БР в опухоли.
- 13. FAP-специфичный агент с модифицированными ФК/БР по п. 12, характеризующийся структурой, представленной в формуле V:

$$\begin{bmatrix}
X & R_1 \\
R & R_3 & O
\end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix}
R_1 & R_2 \\
R & R_3 & O
\end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix}
R_4 & R_4
\end{bmatrix}$$

Формула V

или его фармацевтически приемлемая соль, причем:

R представляет собой радиоактивную группу, хелатирующий агент, флуоресцентную группу, фотоакустическую репортерную молекулу, раманактивную репортерную молекулу, контрастный агент, обнаружимую наночастицу или фермент;

 R_1 представляет собой (C_1 - C_6)-алкил;

 R_2 представляет собой -B(-Y¹)(-Y²) или -CN;

 Y^1 и Y^2 независимо представляют собой -OH или вместе с атомом бора, к которому они присоединены, представляют собой группу, гидролизуемую с образованием борной кислоты, или вместе с атомом бора, к которому они присоединены, образуют 5-8-членное кольцо, гидролизуемое с образованием борной кислоты;

 R_3 представляет собой H или (C_1 - C_6)-алкил;

 R_4 отсутствует или представляет собой один, два или три заместителя, каждый из которых независимо выбран из группы, состоящей из (C_1-C_6) -алкила, -OH, -NH $_2$ и атома галогена;

R₅ представляет группу, модифицирующую фармакокинетику и/или биораспределение молекулы;

X представляет собой О или S;

L представляет собой связь или линкер; и

п представляет собой целое число от 1 до 6.

- 14. Соединение по любому из пп. 1-13, содержащее один или более радиоактивных изотопов.
- 15. Соединение по любому из пп. 1-13, отличающееся тем, что R представляет собой радиоактивную группу.

- 16. Соединение по любому из пп. 1-13, отличающееся тем, что R представляет собой хелатирующий агент.
- 17. Соединение, представляющее собой:

18. Соединение, представляющее собой:

19. Соединение, представляющее собой

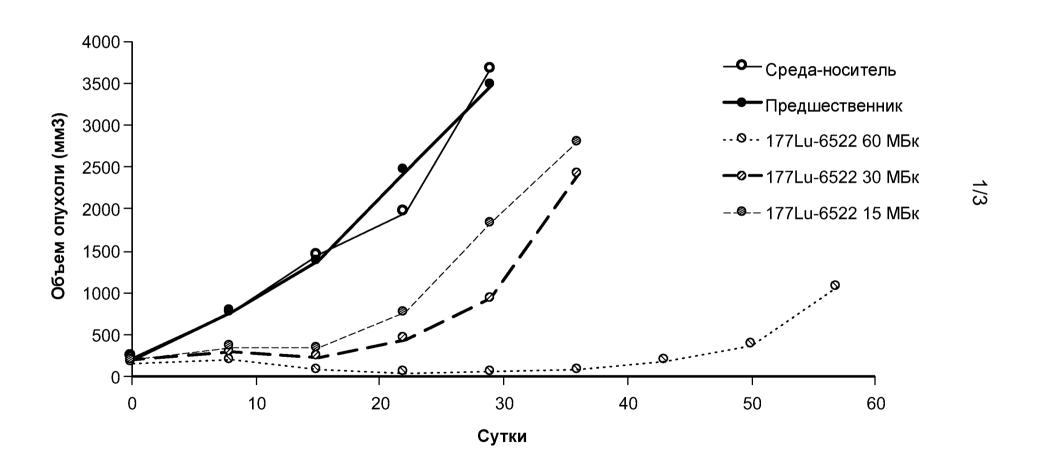
- 20. Соединение по любому из пп. 1-19, отличающееся тем, что указанное соединение образует комплекс с радиоактивным изотопом.
- 21. Соединение по любому из пп. 1-20, отличающееся тем, что указанное соединение образует комплекс с ионом металла.
- 22. Соединение по любому из пп. 1-21, отличающееся тем, что указанное соединение содержит диагностический нуклид.
- 23. Соединение по любому из пп. 1-22, отличающееся тем, что указанный радионуклид представляет собой 43 Sc, 44 Sc, 51 Mn, 52 Mn, 64 Cu, 67 Ga, 68 Ga, 86 Y, 89 Zr, 94m Tc, 99m Tc, 111 In, 149 Tb, 152 Tb, 155 Tb, 201 Tl, 203 Pb, 18 F, 76 Br, 77 Br, 123 I, 124 I или 125 I.
- 24. Соединение по любому из пп. 1-22, отличающееся тем, что указанный радионуклид представляет собой 43 Sc, 44 Sc, 64 Cu, 67 Ga, 68 Ga, 86 Y, 89 Zr, 99 mTc, 111 In, 152 Tb, 155 Tb, 203 Pb, 18 F, 76 Br, 77 Br, 123 1, 124 1 или 125 I.
- 25. Соединение по любому из пп. 1-22, отличающееся тем, что указанный радионуклид представляет собой 64 Cu, 68 Ga, 89 Zr, 99 mTc, 111 In, 18 F, 123 I или 124 I.

- 26. Соединение по любому из пп. 1-21, отличающееся тем, что указанное соединение содержит терапевтический нуклид.
- 27. Соединение по любому из пп. 1-26, отличающееся тем, что указанный радионуклид представляет собой ⁴⁷Sc, ⁶⁷Cu, ⁸⁹Sr, ⁹⁰Y, ¹⁵³Sm, ¹⁴⁹Tb, ¹⁶¹Tb, ¹⁷⁷Lu, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ²¹²Pb, ²¹³Bi, ²²³Ra, ²²⁵Ac, ²²⁶Th, ²²⁷Th, ¹³¹I или ²¹¹At.
- 28. Соединение по любому из пп. 1-26, отличающееся тем, что указанный радионуклид представляет собой 47 Sc, 67 Cu, 90 Y, 161 Tb, 177 Lu, 188 Re, 212 Pb, 213 Bi, 225 Ac, 227 Th, 131 I или 211 At.
- 29. Соединение по любому из пп. 1-26, отличающееся тем, что указанный радионуклид представляет собой 90 Y, 161 Tb, 177 Lu, 225 Ac, 227 Th, 131 I или 211 At.
- 30. Соединение по любому из пп. 1-21, отличающееся тем, что указанное соединение образует комплекс с 177-Lu.
- 31. Соединение по любому из пп. 1-21, отличающееся тем, что указанное соединение образует комплекс с 68-Ga.
- 32. Соединение по любому из пп. 1-21, отличающееся тем, что указанное соединение образует комплекс с 255-Ас.
- 33. Соединение по любому из пп. 1-22, отличающееся тем, что указанное соединение образует комплекс с 64-Си.
- 34. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение или агент по любому из пп. 1-33.
- 35. Фармацевтическая композиция по п. 34, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый носитель и/или вспомогательное вещество.
- 36. Фармацевтическая композиция по п. 34 или 35, составленная для применения у субъекта-человека.
- 37. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 34-36, дополнительно содержащая одно или более стабилизирующих соединений.
- 38. Фармацевтическая композиция по п. 37, отличающаяся тем, что указанное одно или более стабилизирующих соединений содержат серосодержащее соединение.

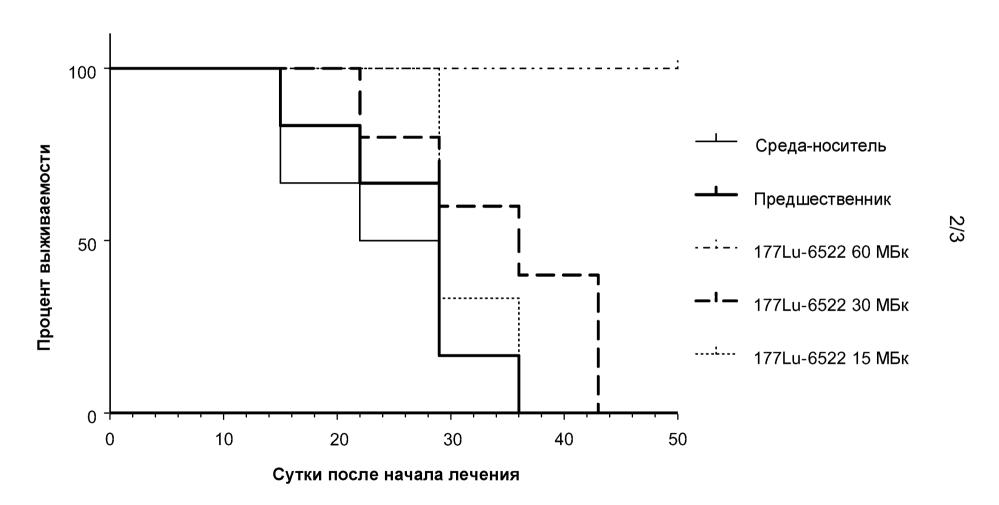
- 39. Фармацевтическая композиция по п. 37, содержащая одно или более стабилизирующих соединений, содержащих одну или более сульфидных групп.
- 40. Фармацевтическая композиция по п. 37, отличающаяся тем, что указанное одно или более стабилизирующих соединений содержат N-ацетилметионин.
- 41. Набор, содержащий соединение, агент или композицию по любому из пп. 1-40 и инструкции по диагностике или лечению заболевания.
- 42. Способ диагностики, визуализации или снижения сверхэкспрессии FAP в ткани животного (предпочтительно пациента-человека), включающий введение указанному животному по меньшей мере одного из соединения, агента или композиции по любому из пп. 1-40.
- 43. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение указанному субъекту эффективного количества соединения, агента или композиции по любому из пп. 1-40.
- 44. Способ по п. 42 или 43, отличающийся тем, что установлено, что указанный субъект страдает от рака.
- 45. Способ по любому из пп. 42-44, отличающийся тем, что установлено, что указанный субъект страдает метастатическим раком.
- 46. Способ по любому из пп. 42-45, отличающийся тем, что установлено, что указанный субъект страдает раком предстательной железы.
- 47. Способ по любому из пп. 42-46, отличающийся тем, что указанное животное или субъект представляет собой человека.
- 48. Способ по любому из пп. 42-47, отличающийся тем, что указанное животное или субъект представляет собой человека мужского пола.
- 49. Агент по п. 1, представляющий собой агент для визуализации, отличающийся тем, что R представляет собой флуоресцентную группу, выбранную из: флуоресцентного белка, флуоресцентного пептида, флуоресцентного красителя, флуоресцентного материала или их комбинации.
- 50. Агент по п. 1, отличающийся тем, что R представляет собой квантовую точку.

- 51. Способ выполнения хирургического вмешательства под контролем визуализации, включающий (i) введение агента по п. 1 пациенту в количестве, достаточном для его преимущественной локализации в ткани, являющейся объектом хирургического вмешательства (например, в ткани, подлежащей резекции, рассечению или удалению), и (ii) обнаружение присутствия или отсутствия агента во время операции.
- 52. Способ по п. 51, отличающийся тем, что R является оптически обнаружимым.
- 53. Способ по п. 51, отличающийся тем, что R оптически обнаруживают с помощью эндоскопических, лапароскопических или чрескожных хирургических средств.

Фигура 1. Кривые роста опухоли ([¹⁷⁷Lu]-6522)



Фигура 2. Кривые выживаемости ([¹⁷⁷Lu]-6522)



Фигура 3.

