

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202190458 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.09.28

(22) Дата подачи заявки
2019.08.15

(51) Int. Cl. *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 47/56 (2017.01)
A61K 47/60 (2017.01)
A61K 49/12 (2006.01)
A61K 49/14 (2006.01)
B82Y 5/00 (2011.01)
C07D 211/22 (2006.01)
C08G 83/00 (2006.01)
A61K 31/445 (2006.01)
C08G 69/10 (2006.01)

(54) СОСТАВЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ДЕНДРИМЕР

(31) 62/719,319

(32) 2018.08.17

(33) US

(86) PCT/IB2019/056924

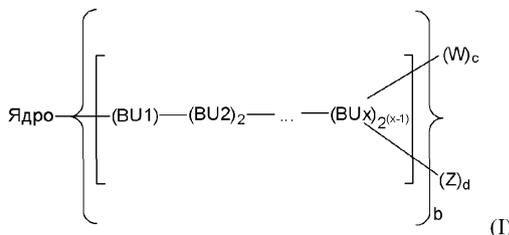
(87) WO 2020/035815 2020.02.20

(71) Заявитель:
АСТРАЗЕНЕКА АБ (SE)

(72) Изобретатель:
Геллерт Пол, Хилл Кэтрин, Стори
Ричард (GB)

(74) Представитель:
Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатъев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) Раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированное соединение формулы (I)



или его фармацевтически приемлемую соль, и способы их применения для лечения рака.

A1

202190458

202190458

A1

СОСТАВЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ДЕНДРИМЕР

Родственные заявки

Эта заявка в соответствии с 35 USC 119(e) испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США № 62/719 319, поданной 17 августа 2018 г., содержание которой полностью включено в настоящее описание ссылкой.

Предпосылки создания изобретения

Bcl-2 и Bcl-XL являются важными антиапоптозными представителями семейства белков BCL-2 и главными регуляторами выживания клеток (Chipuk JE *et al.*, The BCL-2 family reunion, *Mol.Cell* 2010 Feb 12;37(3):299-310). Транслокация, амплификация генов и/или сверхэкспрессия белков этих критических для выживания факторов была обнаружена в многочисленных типах рака, и они широко вовлечены в развитие и прогрессирование рака. (Yip *et al.*, Bcl-2 family proteins and cancer, *Oncogene* 2008 27, 6398-6406; и Beroukhim R. *et al.*, The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers, *Nature* 2010 Feb 18;463 (7283):899-905). Также было показано, что при многих злокачественных новообразованиях BCL-2 и/или BCL-XL опосредуют лекарственную устойчивость и рецидив, и их во многом связывают с плохим прогнозом (Robertson LE *et al.* Bcl-2 expression in chronic lymphocytic leukemia and its correlation with the induction of apoptosis and clinical outcome, *Leukemia* 1996 Mar;10(3):456-459; и Ilievska Poposka B. *et al.*, Bcl-2 as a prognostic factor for survival in small-cell lung cancer, *Makedonska Akademija na Naukite i Umetnostite Oddelenie Za Bioloski i Meditsinski Nauki Prilozi* 2008 Dec; 29(2):281-293).

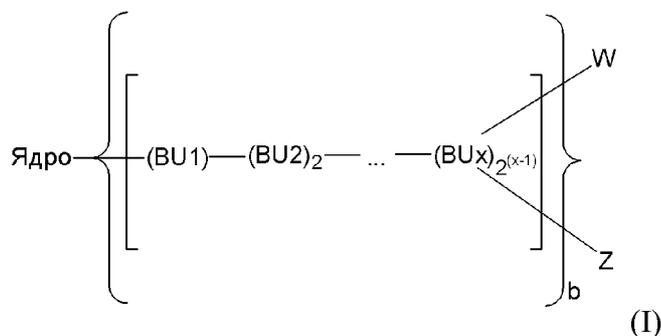
Антиапоптозные белки семейства BCL2 способствуют выживанию раковых клеток за счет связывания с проапоптозными белками, такими как BIM, PUMA, BAK и BAX, и нейтрализации их активности, индуцирующей клеточную гибель (Chipuk JE *et al.*, ниже; и Yip *et al.*, ниже). Следовательно, терапевтическое целенаправленное воздействие на BCL-2 и BCL-XL отдельно или в комбинации с другими видами терапии, влияющими на белки с осевым элементом семейства BCL-2, такими как цитотоксические химиотерапевтические средства, ингибиторы протеасом или ингибиторы киназ, является привлекательной стратегией, с помощью которой можно лечить рак и можно преодолевать лекарственную устойчивость при многих типах рака у человека (Delbridge, ARD *et al.*, The BCL-2 protein family, BH3-mimetics and cancer therapy, *Cell Death & Differentiation* 2015 22, 1071-1080).

соединение А отщепляется от дендримера в ходе приготовления состава и хранения. Поэтому заявители разработали фармацевтические составы и способы изготовления таких фармацевтических составов, которые сводят к минимуму содержание примесей, включая содержание расщепленного (свободного) соединения А.

Краткое описание изобретения

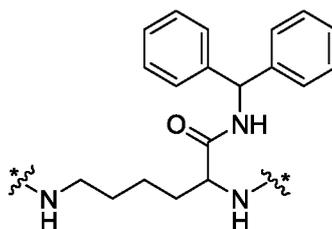
В настоящем документе раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированные дендримеры, ковалентно присоединенные (например, конъюгированные или связанные) с ингибитором ВсI. Конъюгированные дендримеры проявляют высокую растворимость по сравнению с неконъюгированным ингибитором ВсI, и доклинические данные позволяют предположить, что дендримеры, конъюгированные с ингибитором ВсI, потенциально улучшают переносимость *in vivo*, что может увеличивать терапевтический индекс и снижать побочные эффекты. Раскрытые фармацевтические композиции демонстрируют хорошую растворимость в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, а также имеют минимальное содержание примесей, образующихся в ходе приготовления состава и хранения.

В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (I)



или его фармацевтически приемлемую соль, где:

ядро представляет собой:

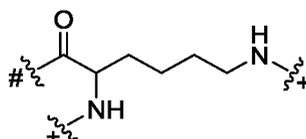


* обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом (BU1);

b составляет 2;

BU представляют собой структурные звенья;

BU_x представляют собой структурные звенья в поколении x , где общее число структурных звеньев в поколении x дендримера формулы (I) равно $2^{(x)}$, а общее число BU в дендримере формулы (I) равно $(2^x - 1)b$; где BU характеризуется следующей структурой:



обозначает ковалентную связь с аминным фрагментом ядра или аминным фрагментом BU;

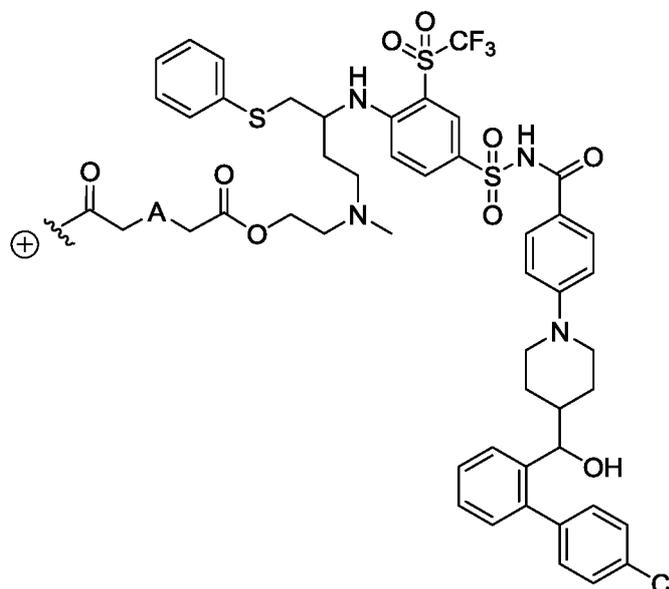
+ обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом BU или ковалентную связь с W или Z;

W независимо представляет собой $(PM)_c$ или $(H)_e$;

Z независимо представляет собой $(L-AA)_d$ или $(H)_e$;

PM - это PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA представляет собой линкер, присоединенный ковалентной связью к действующему веществу; где L-AA представлен формулой:



, где

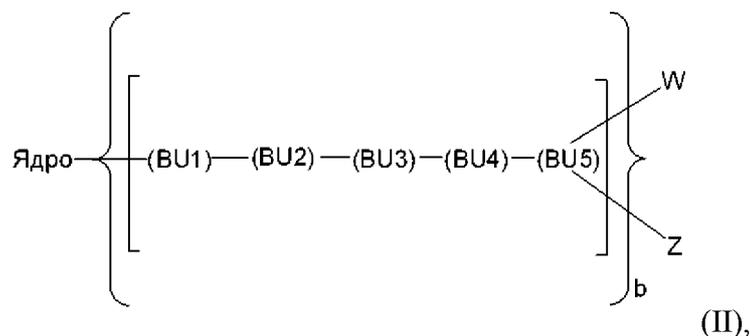
A представляет собой $-N(CH_3)$ или $-S-$;

\oplus представляет собой место присоединения к аминному фрагменту в BU_x ;

при условии, что $(c+d) \leq (2^x)b$, а d принимает значения ≥ 1 ; и

при условии, что если $(c+d) < (2^x)b$, то любые оставшиеся группы W и Z представляют собой $(H)_e$, где e равно $[(2^x)b] - (c+d)$.

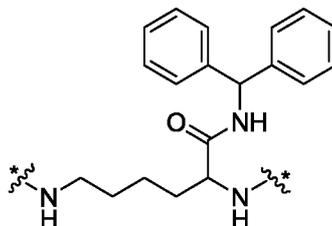
В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (II):



или его фармацевтически приемлемую соль, где:

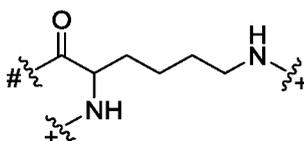
b равно 2;

ядро представляет собой:



* обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом (BU1);

BU представляют собой структурные звенья, и число BU равняется 62; где BU характеризуется следующей структурой:



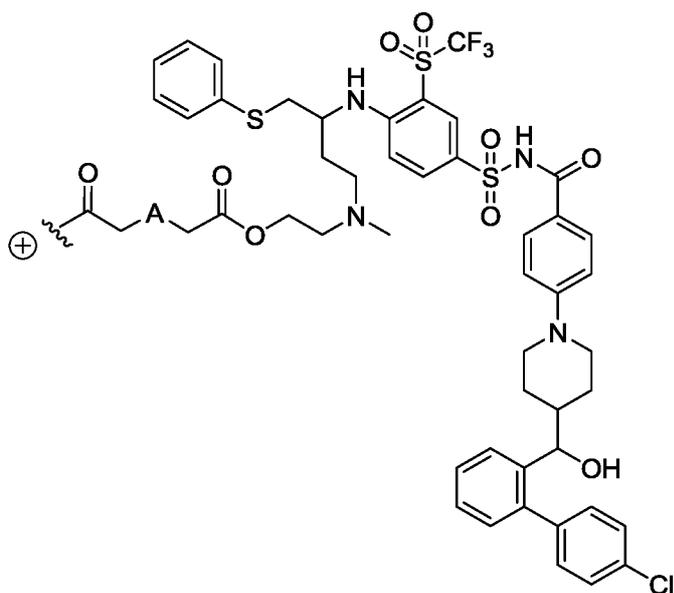
обозначает ковалентную связь с аминным фрагментом ядра или аминным фрагментом BU, а + обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом BU или ковалентную связь с W или Z;

W независимо представляет собой (PM)_c или (H)_e;

Z независимо представляет собой (L-AA)_d или (H)_e;

PM - это PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA представляет собой линкер, присоединенный ковалентной связью к действующему веществу; где L-AA представлен формулой:



, где

A представляет собой $-N(CH_3)$ или $-S-$;

\oplus обозначает ковалентную связь с аминным фрагментом BU5;

при условии, что $(c+d)$ составляет ≤ 64 , а d составляет ≥ 1 ; и

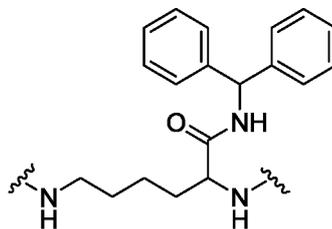
при условии, что если $(c+d) < 64$, то любые оставшиеся группы W и Z представляют собой $(H)_e$, где e составляет $64-(c+d)$.

В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (III):

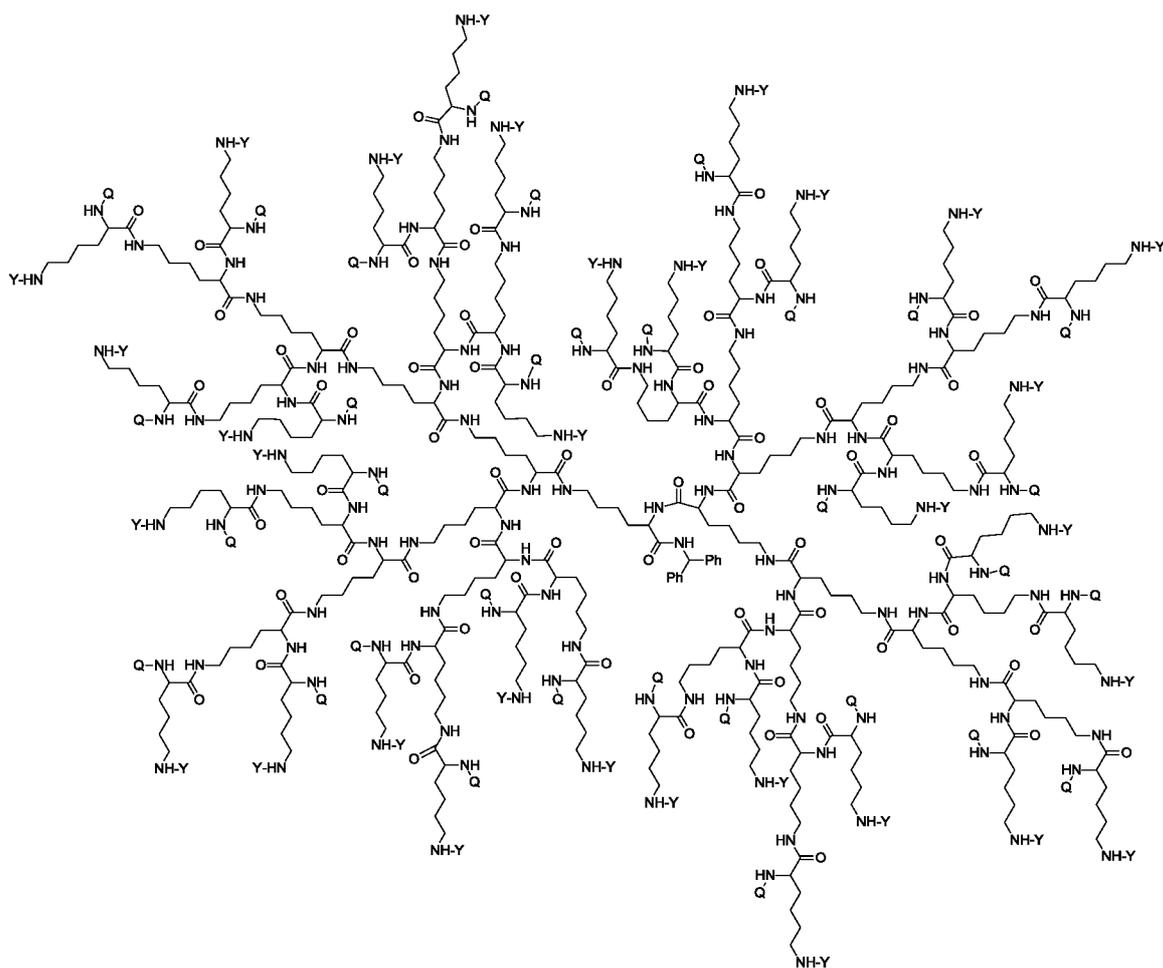
D-ядро-D (III),

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

ядро представляет собой:

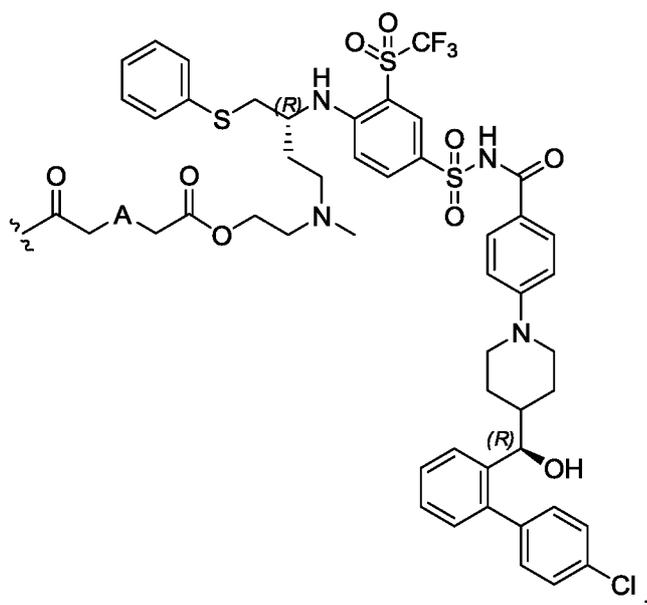


D представляет собой



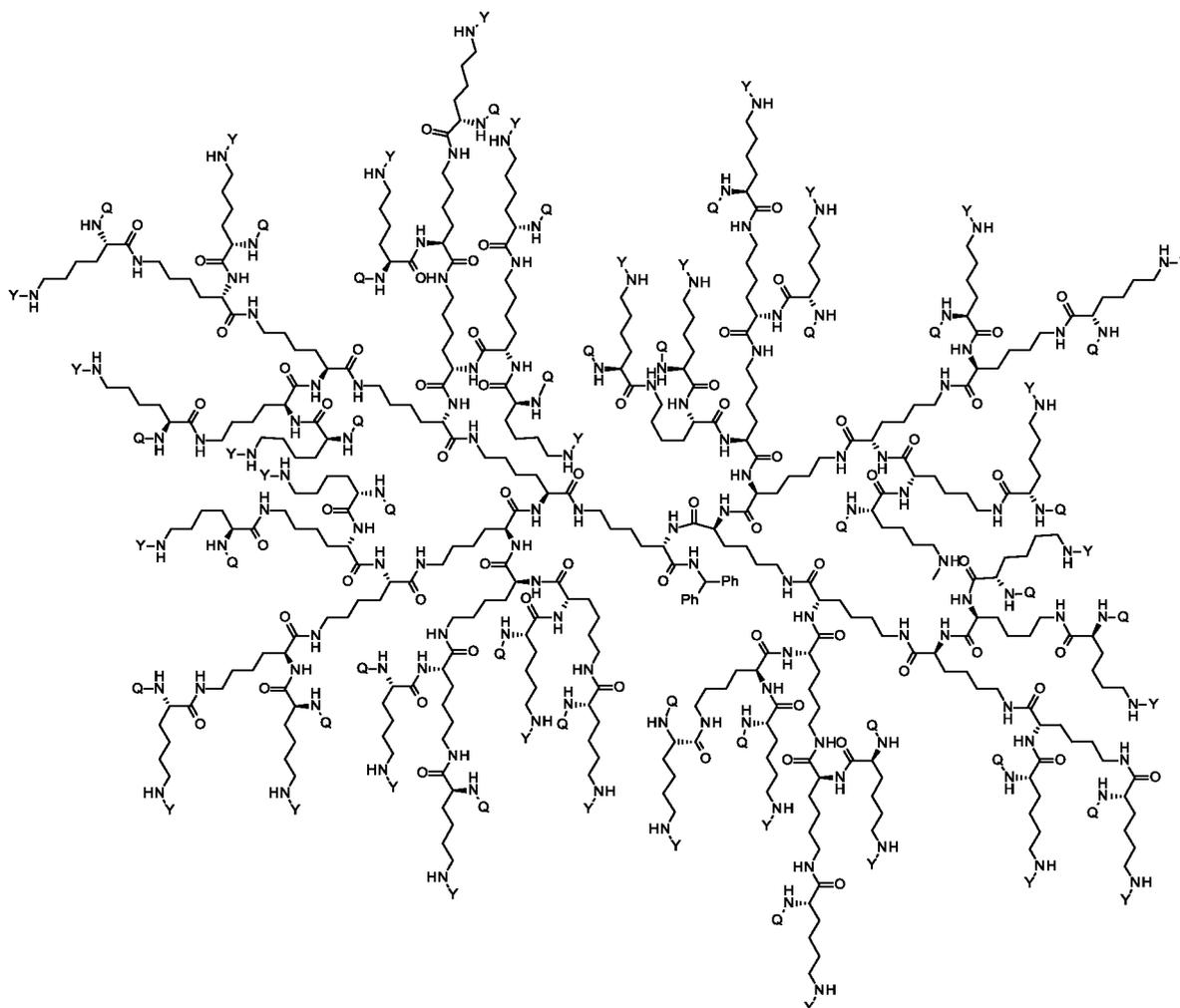
(IV),

или его фармацевтически приемлемую соль, где Y представляет собой PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ или H; Q представляет собой H или L-AA, в котором L-AA характеризуется структурой:



A представляет собой –S- или –N(CH₃), при условии, что сумма PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ и L-AA меньше 64, оставшиеся фрагменты Q и Y представляют собой H, и при условии, что по меньшей мере один Q представляет собой L-AA.

В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (V):

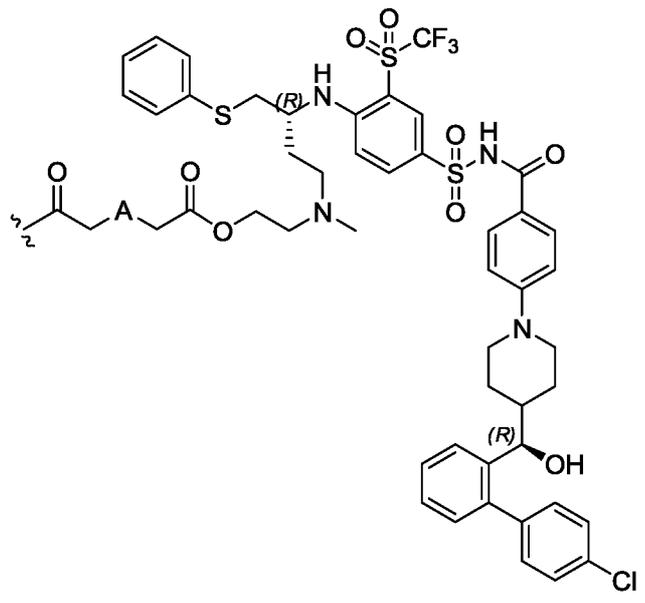


(V),

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

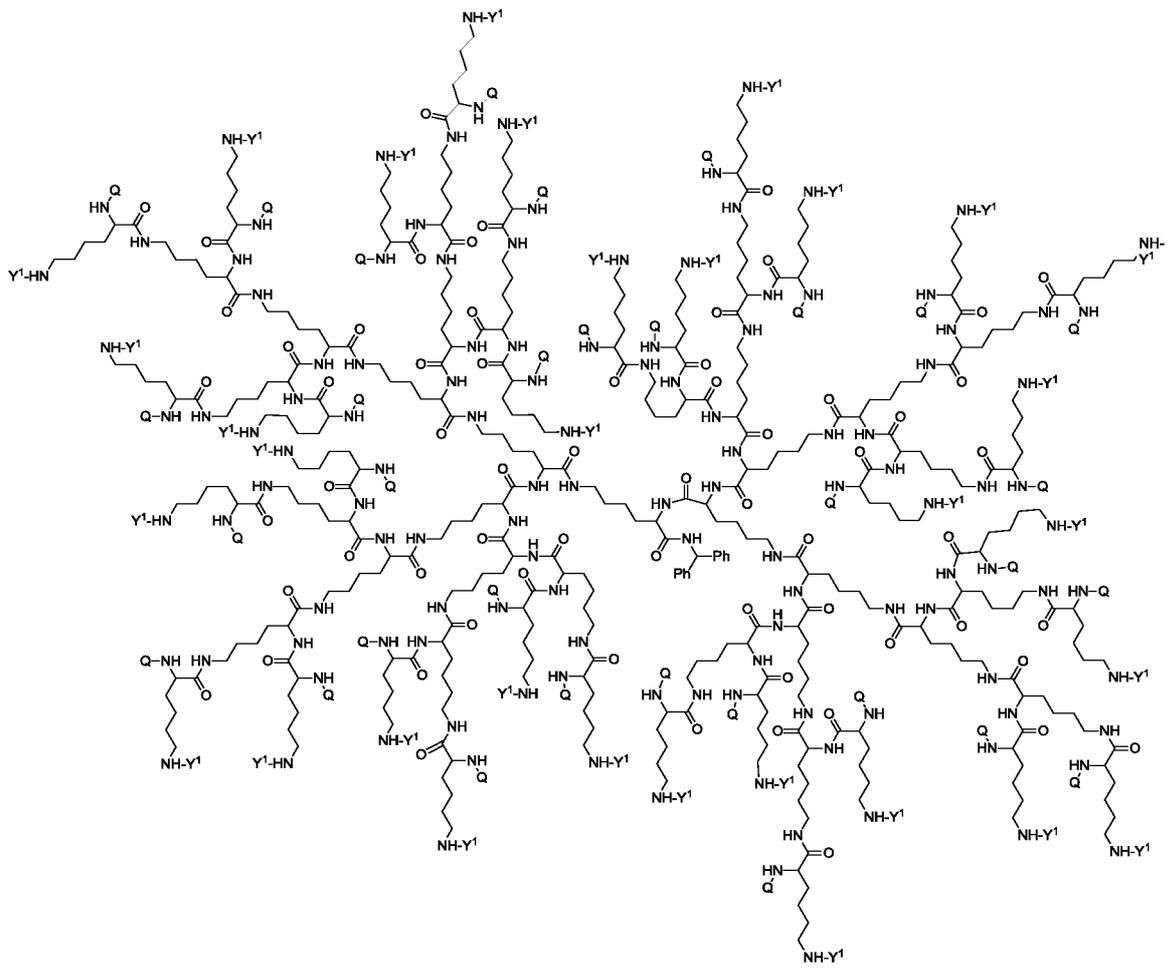
Y представляет собой PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ или H;

Q представляет собой H или L-AA, где L-AA характеризуется структурой:



A представляет собой –S- или –N(CH₃), при условии, что сумма PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ и L-AA меньше 64, оставшиеся фрагменты Q и Y представляют собой H, и при условии, что по меньшей мере один Q представляет собой L-AA.

В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (VI):



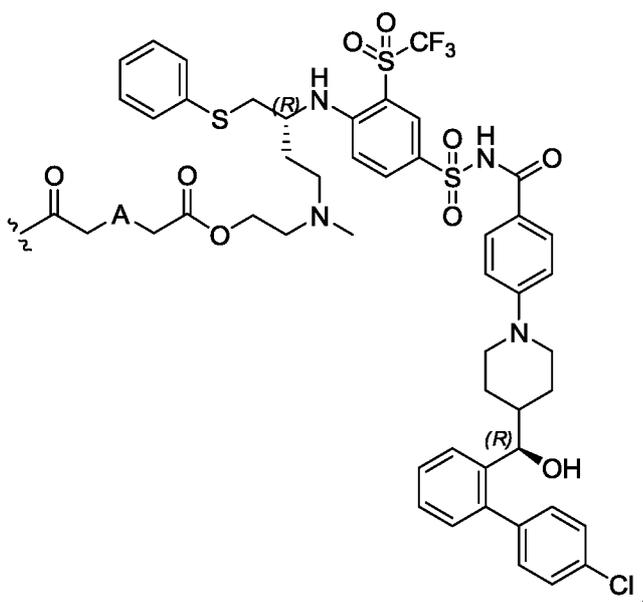
(VI)

или его фармацевтически приемлемую соль, где

Y^1 представляет собой $-C(=O)CH_2-(OCH_2CH_2)_x-OCH_3$ или H;

r представляет собой целое число от 39 до 53; и

Q представляет собой H или L-AA, в котором L-AA характеризуется структурой:



A представляет собой -S- или -N(CH₃), при условии, что сумма Y¹ и L-AA меньше 64, оставшиеся фрагменты Q и Y¹ представляют собой H, и при условии, что по меньшей мере один Q представляет собой L-AA. В некоторых вариантах осуществления раскрыто соединение формулы (VI), в котором A представляет собой -S-. В некоторых вариантах осуществления раскрыто соединение формулы (VI), в котором A представляет собой -N(CH₃).

В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (VII):

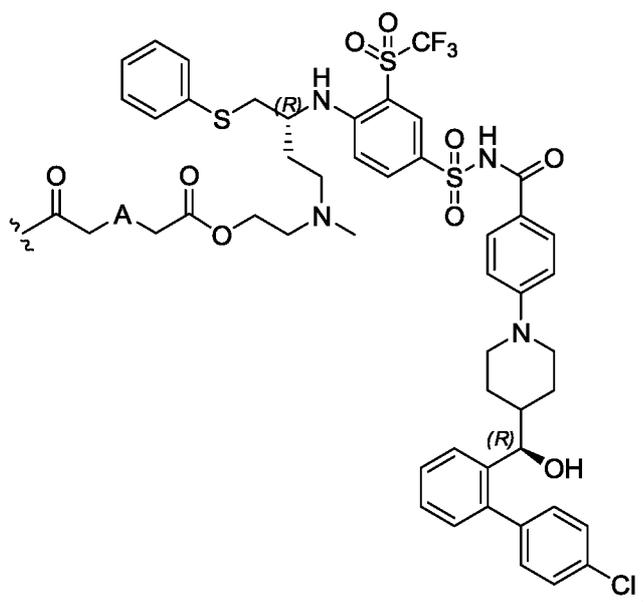
(VII),

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

Y² представляет собой -C(=O)CH₂-(OCH₂CH₂)_y-OCH₃ или H;

y представляет собой целое число от 39 до 53; и

Q представляет собой H или L-AA, в котором L-AA характеризуется структурой:



A представляет собой -S- или -N(CH₃), при условии, что сумма Y² и L-AA меньше 64, оставшиеся фрагменты Q и Y² представляют собой H, и при условии, что по меньшей мере один Q представляет собой L-AA. В некоторых вариантах осуществления раскрыто соединение формулы (VII), в котором A представляет собой -S-. В некоторых вариантах осуществления раскрыто соединение формулы (VII), в котором A представляет собой -N(CH₃).

В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, полученные способом, включающим стадии растворения соединения формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли в ледяной уксусной кислоте с образованием раствора, сублимационную сушку раствора и вымораживание уксусной кислоты при пониженном давлении.

В некоторых вариантах осуществления раскрыты способы лечения рака, включающие внутривенное введение субъекту, нуждающемуся в этом, фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли и фармацевтически приемлемый разбавитель или растворитель.

В некоторых вариантах осуществления раскрыто применение фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления раскрыто применение фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для применения в производстве лекарственного средства для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления раскрыт набор, состоящий из одного или нескольких контейнеров, содержащих фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, и инструкции по применению.

Краткое описание графических материалов

На **фигуре 1** показана ксенотрансплантатная модель острого лимфобластного лейкоза (ALL) у мышей SCID с применением клеток острого лимфобластного лейкоза человека (RS4:11) в случае применения различных макромолекул настоящего изобретения. Показана оценка эффективности среды-носителя (забуференный фосфатом физиологический раствор), соединения А (составленного в 30% HP- β -CD, pH 4), соединения 1 в PBS (эквивалентно 10 мг/кг соединения А) и соединения 2 в PBS (эквивалентно 10 мг/кг и 30 мг/кг соединения А).

На **фигуре 2** показана клеточная гибель (апоптоз) в различные моменты времени после введения однократной дозы либо среды-носителя (забуференного фосфатом физиологического раствора), либо соединения 2 в PBS (эквивалентно 10 и 30 мг/кг соединения А). Ответ в виде показателя расщепления каспазы 3 (CC3) применяли в качестве количественного показателя клеточной гибели и определяли с применением набора для ELISA, PathScan от Cell Signaling.

На **фигуре 3** показана ксенотрансплантатная модель острого лимфобластного лейкоза (ALL) у мышей SCID с применением клеток острого лимфобластного лейкоза человека (RS4:11) в случае применения различных раскрываемых дендримеров. Показана оценка эффективности среды-носителя (забуференного фосфатом физиологического раствора), состава на основе соединения А в 30 HP- β -C), соединения 1 в PBS (эквивалентно 20 мг/кг соединения А) и соединения 2 в PBS (эквивалентно 20 мг/кг соединения А).

На **фигуре 4** показана клеточная гибель (апоптоз) в различные моменты времени после введения однократной дозы среды-носителя (забуференного фосфатом физиологического раствора), составов на основе соединения А в 30% HP- β -CD из расчета

5 мг/кг и 10 мг/кг и дендримера соединения 1 в PBS, что эквивалентно 10 мг/кг соединения А. Ответ в виде показателя расщепленной поли-АДФ-рибоза-полимеразы (PARP) применяли в качестве количественного показателя клеточной гибели.

На **фигуре 5** показана ксенотрансплантатная модель острого лимфобластного лейкоза (ALL) у крыс Rag2^{-/-} с применением клеток острого лимфобластного лейкоза человека (RS4:11) в случае применения соединения 2 и среды-носителя. Показана оценка эффективности среды-носителя (забуференного фосфатом физиологического раствора, PBS) и соединения 2 в PBS (эквивалентно 10 мг/кг и 30 мг/кг соединения А).

На **фигуре 6** показан дендример формулы (IV).

На **фигуре 7** показан дендример формулы (V).

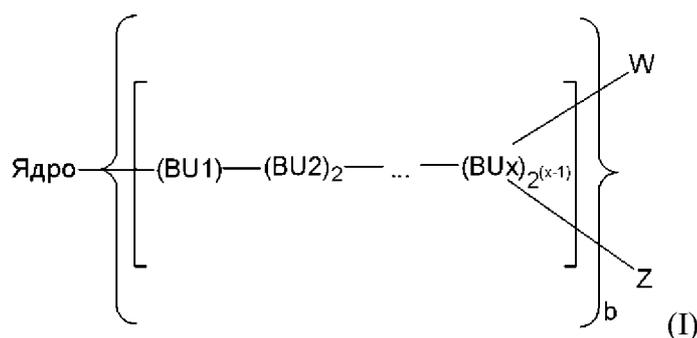
На **фигуре 8** показана модель с ксенотрансплантатом SuDHL-4 у мышей SCID в случае применения среды-носителя (забуференного фосфатом физиологического раствора, PBS), соединения 2 в PBS (эквивалентно 50 мг/кг соединения А), соединения 1 в PBS (эквивалентно 50 мг/кг соединения А), ритуксимаба (10 мг/кг), комбинации молекулы из примера 2 (в эквиваленте 10 мг/кг, 30 мг/кг и 50 мг/кг соединения А) с ритуксимабом (10 мг/кг) и комбинации соединения 1 (эквивалентно 10 мг/кг, 30 мг/кг и 50 мг/кг соединения А) с ритуксимабом (10 мг/кг). См. пример 18.

На **фигуре 9** на модели опухоли мелкоклеточного рака легкого человека проиллюстрирована *in vivo* противоопухолевая активность, проявляемая соединением 1 в комбинации с ингибитором mTOR AZD2014.

На **фигуре 10** на модели опухоли DLBCL человека проиллюстрирована *in vivo* противоопухолевая активность, проявляемая соединением 1 в комбинации с акалабрутинибом.

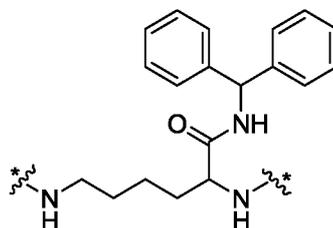
Подробное описание изобретения

В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (I)



или его фармацевтически приемлемую соль, где:

ядро представляет собой:

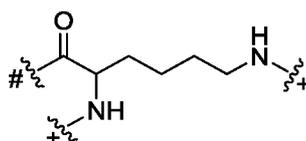


* обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом (BU1);

b составляет 2;

BU представляют собой структурные звенья;

BU_x представляют собой структурные звенья в поколении x, где общее число структурных звеньев в поколении x дендримера формулы (I) равно 2^(x), а общее число BU в дендримере формулы (I) равно (2^x-1)b; где BU характеризуется следующей структурой:



обозначает ковалентную связь с аминным фрагментом ядра или аминным фрагментом BU;

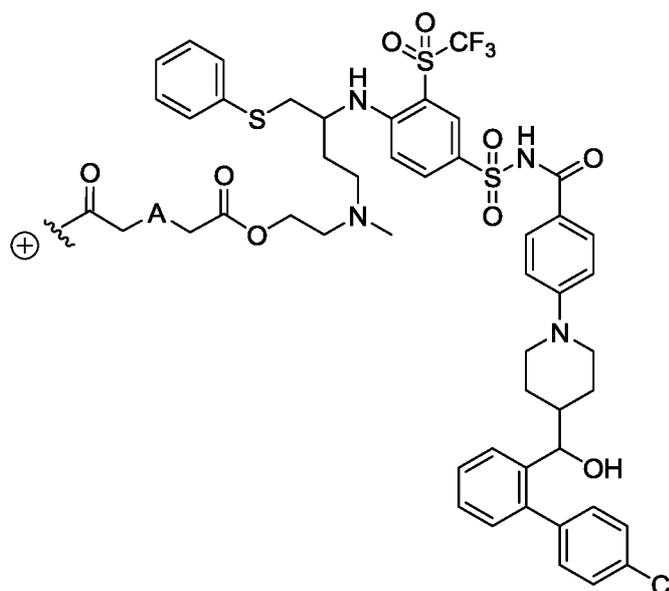
+ обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом BU или ковалентную связь с W или Z;

W независимо представляет собой (PM)_c или (H)_e;

Z независимо представляет собой (L-AA)_d или (H)_e;

PM - это PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA представляет собой линкер, присоединенный ковалентной связью к действующему веществу; где L-AA представлен формулой:

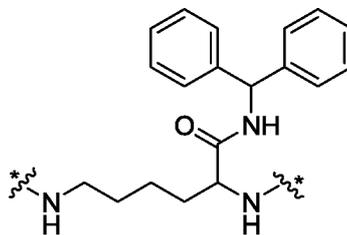


, где

A представляет собой $-N(CH_3)$ или $-S-$;

\oplus представляет собой место присоединения к аминному фрагменту BUx; при условии, что $(c+d) \leq (2^x)b$, а d составляет ≥ 1 ; и при условии, что если $(c+d) < (2^x)b$, то любые оставшиеся группы W и Z представляют собой $(H)_e$, где e равно $[(2^x)b] - (c+d)$.

Следует принимать во внимание, что ядро дендримера является центральным звеном, из которого строится дендример. В связи с этим ядро представляет собой центральное звено, из которого 'вырастают' первое и последующие поколения структурных звеньев. В одном варианте осуществления ядро в любом из дендримеров формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) представляет собой:



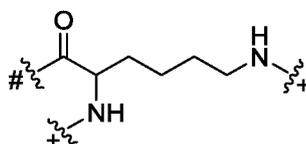
где * обозначает ковалентную связь со структурными звеньями дендримера. В некоторых вариантах осуществления ядро в любом из дендримеров формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) представляет собой:

группы, осуществляющей фармакокинетическую модификацию (PM), и/или линкера и действующего вещества (L-AA).

Термин «поверхностные функциональные группы» относится к не вступившим в реакцию функциональным группам, которые находятся на последнем поколении структурных звеньев. В некоторых вариантах осуществления число поверхностных функциональных групп равняется $(2^x)b$, при этом x представляет собой число поколений в дендримере, а b представляет собой число дендронов. В некоторых вариантах осуществления поверхностные функциональные группы представляют собой функциональные первичные аминогруппы.

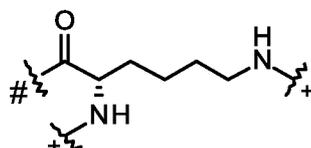
Общее число структурных звеньев в дендримере со структурными звеньями, имеющими 3 функциональные группы (например, одну точку ветвления), равняется $(2^x - 1)b$, где x равняется числу поколений, а b равняется числу дендронов. Например, в дендримере, имеющем ядро с двумя присоединенными дендронами ($b = 2$), если каждое структурное звено имеет одну точку ветвления и имеется 5 поколений, будет 62 структурных звена, и самое удаленное от центра поколение будет содержать 16 структурных звеньев с 64 поверхностными функциональными группами. В некоторых вариантах осуществления поверхностные функциональные группы представляют собой аминные фрагменты, например, первичные или вторичные амины. В некоторых вариантах осуществления дендример представляет собой дендример пятого поколения, имеющий двухвалентное ядро, 62 структурных звена и 64 функциональные первичные аминогруппы.

В некоторых вариантах осуществления структурные звенья в любом из дендримеров формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) характеризуются структурой:



в которой # обозначает ковалентную связь с аминным фрагментом ядра или аминным фрагментом структурного звена, а + обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом структурного звена или ковалентную связь с группой, осуществляющей фармакокинетическую модификацию, линкером, присоединенным к действующему веществу, или водородом. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит 62 структурных звена с 64 функциональными первичными аминогруппами.

В некоторых вариантах осуществления структурные звенья в любом из дендримеров формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) характеризуются структурой:



в которой # обозначает ковалентную связь с аминным фрагментом ядра или аминным фрагментом структурного звена, а + обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом структурного звена или ковалентную связь с группой, осуществляющей фармакокинетическую модификацию, линкером, присоединенным к активному началу, или водородом.

Термин «группа, осуществляющая фармакокинетическую модификацию» или «РМ» подразумевает фрагменты, которые могут модифицировать или модулировать фармакокинетический профиль дендримера или действующего вещества, которое он доставляет. В некоторых вариантах осуществления РМ может модулировать распределение, метаболизм и/или экскрецию дендримера или действующего вещества. В некоторых вариантах осуществления РМ может влиять на скорость высвобождения активного средств, либо замедляя, либо увеличивая скорость, с которой действующее вещество высвобождается из дендримера за счет путей либо химического (например, гидролиза), либо ферментативного разложения. В некоторых вариантах осуществления РМ может изменять профиль растворимости дендримера, либо увеличивая, либо уменьшая растворимость в фармацевтически приемлемом носителе. В некоторых вариантах осуществления РМ может содействовать дендримеру в доставке действующего вещества в конкретную ткань (например, в опухоли).

В некоторых вариантах осуществления в любом из дендримеров формул (I), (II), (III), (IV) и (V) РМ представляет собой полиэтиленгликоль (PEG). В некоторых вариантах осуществления PEG характеризуется молекулярной массой от примерно 1800 до примерно 2400 Да. В некоторых вариантах осуществления PEG характеризуется средней молекулярной массой примерно 2150 Да. Специалист в данной области легко поймет, что термин «PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀» включает PEG со средней молекулярной массой от примерно 1800 до примерно 2400 Да.

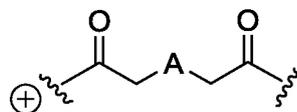
В некоторых вариантах осуществления PEG характеризуется коэффициентом полидисперсности (PDI) от примерно 1,00 до примерно 2,00, от примерно 1,00 до 1,50, например, от примерно 1,00 до примерно 1,25, от примерно 1,00 до примерно 1,10 или от

примерно 1,00 до примерно 1,10. В некоторых вариантах осуществления PDI у PEG составляет примерно 1,05. Термин "коэффициент полидисперсности" относится к количественному показателю распределения молекулярной массы в данном образце полимера. PDI равен средневзвешенной молекулярной массе (M_w), деленной на среднечисловую молекулярную массу (M_n), и обозначает распределение отдельных молекулярных масс в партии полимеров. PDI характеризуется значением, которое больше или равно 1, но в случаях, когда полимер приближается к однородной длине цепи и средней молекулярной массе, PDI будет ближе к 1.

В некоторых вариантах осуществления дендример содержит менее $(2^x)^b$ групп PEG, где x представляет собой число поколений дендримера, а b представляет собой число дендронов. В некоторых вариантах осуществления все поверхностные функциональные группы присоединены ковалентной связью к группам PEG. В некоторых вариантах осуществления, если x равен 5, то дендример содержит от примерно 25 до примерно 60 групп PEG. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит не более 2^x групп PEG. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит 2^x групп PEG. Например, если структурное звено дендримера содержит одну двухвалентную точку ветвления, дендример второго поколения будет содержать не более 4 групп PEG, дендример третьего поколения будет содержать не более 8 групп PEG, дендример четвертого поколения будет содержать не более 16 групп PEG, дендример пятого поколения будет содержать не более 32 групп PEG. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит менее 2^x групп PEG. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит от примерно 25 до примерно 64 групп PEG. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит от примерно 25 до примерно 40 групп PEG. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит не более 32 групп PEG. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит от примерно 25 до примерно 32 групп PEG. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит от примерно 28 до примерно 32 групп PEG. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит 29 групп PEG, 30 групп PEG, 31 группу PEG или 32 группы PEG.

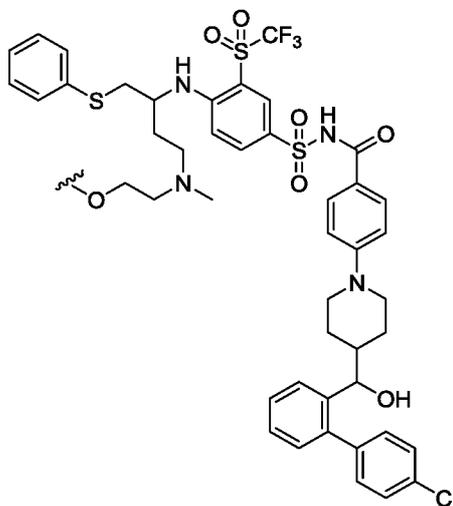
Раскрываемые дендримеры формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) включают линкер, присоединенный ковалентной связью к действующему веществу (L-AA), при этом линкер (L) присоединен ковалентной связью к поверхностным функциональным группам последнего поколения структурных звеньев на одном конце линкера и к действующему веществу (AA) на другом конце линкера. В некоторых вариантах осуществления линкер в

любом из дендримеров формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) характеризуется структурой:

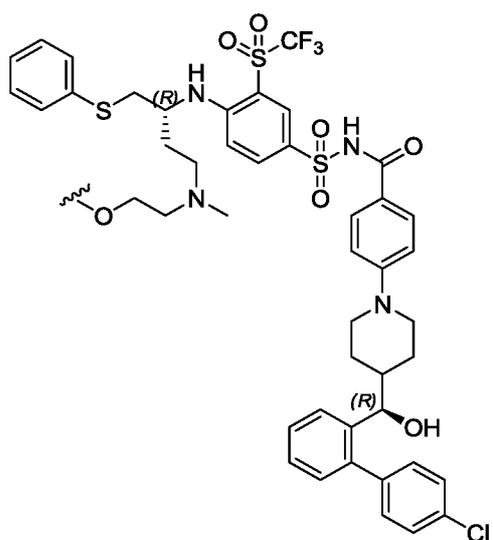


в которой \oplus представляет собой ковалентную связь с функциональными аминогруппами на последнем поколении структурных звеньев, \sim представляет собой место ковалентного присоединения действующего вещества (AA), а А представляет собой $-N(CH_3)$ или $-S-$. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой $-S-$. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой $-N(CH_3)$.

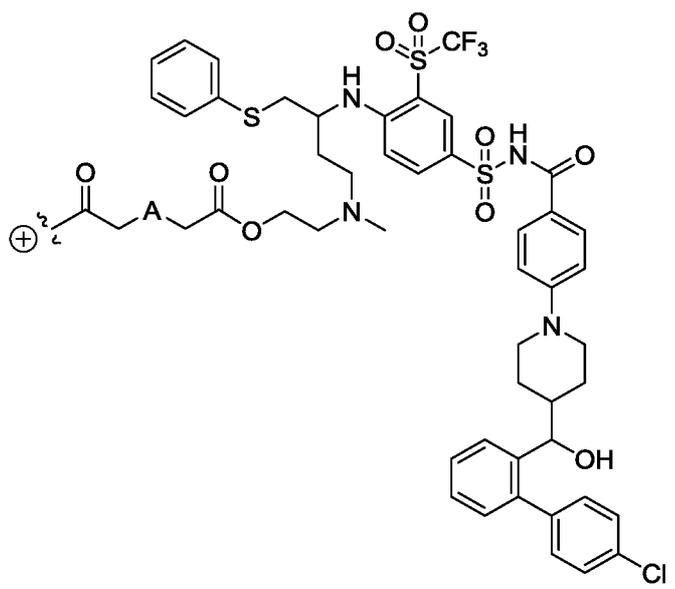
В некоторых вариантах осуществления AA представляет собой ингибитор Vcl. В некоторых вариантах осуществления AA представляет собой ингибитор Vcl-2 и/или Vcl-XL. В некоторых вариантах осуществления AA представляет собой ингибитор Vcl-2 и/или Vcl-XL, раскрытый в патенте США № 9018381. В некоторых вариантах осуществления AA в любом из дендримеров формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) характеризуется структурой:



в которой \sim представляет собой положение ковалентного присоединения к линкеру. В некоторых вариантах осуществления AA в любом дендримере формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) характеризуется структурой:

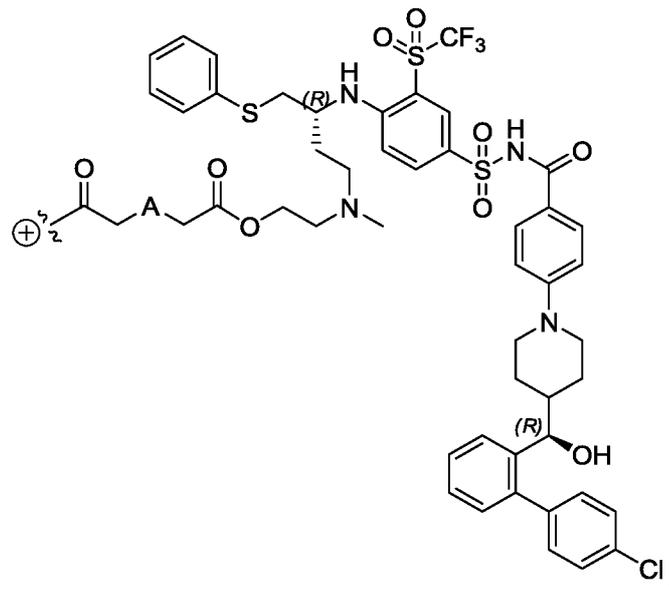


В некоторых вариантах осуществления структура L-AA в любом из дендримеров (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) представляет собой:



в которой \oplus представляет собой ковалентную связь с функциональными аминогруппами на последнем поколении структурных звеньев, а А представляет собой $-N(CH_3)$ или $-S-$. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой $-S-$. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой $-N(CH_3)$.

В некоторых вариантах осуществления структура L-AA в любом из дендримеров формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) представляет собой:



в которой \oplus представляет собой ковалентную связь с функциональными аминогруппами на последнем поколении структурных звеньев, а А представляет собой $-N(CH_3)$ или $-S-$. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой $-S-$. В некоторых вариантах осуществления А представляет собой $-N(CH_3)$.

В некоторых вариантах осуществления дендример любой из формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) содержит менее $(2^x)b$ групп L-AA, где x представляет собой число поколений дендримера, а b представляет собой число дендронов. В некоторых вариантах осуществления все поверхностные функциональные группы присоединены ковалентной связью к группам L-AA. В некоторых вариантах осуществления, если x равно 5, дендример содержит от примерно 25 до примерно 64 групп L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит не более 2^x групп L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит 2^x групп L-AA. Например, если структурное звено дендримера содержит одну бифункциональную точку ветвления, дендример второго поколения будет содержать не более 4 групп L-AA, дендример третьего поколения будет содержать не более 8 групп L-AA, дендример четвертого поколения будет содержать не более 16 групп L-AA, дендример пятого поколения будет содержать не более 32 групп L-AA. В некоторых вариантах осуществления, дендример содержит менее 2^x групп L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит от примерно 25 до примерно 64 групп L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит от примерно 25 до примерно 40 групп L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит не более 32 групп L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит от примерно 25 до примерно 32 групп L-AA. В некоторых вариантах осуществления

дендример содержит от примерно 28 до примерно 32 групп L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример содержит 29 групп L-AA, 30 групп L-AA, 31 группу L-AA или 32 группы L-AA.

В некоторых вариантах осуществления в любом из дендримеров формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) сумма групп L-AA и групп PEG может быть не более 64. В некоторых вариантах осуществления сумма групп L-AA и групп PEG может быть менее 64, при условии, что дендример содержит по меньшей мере одну группу L-AA. В некоторых вариантах осуществления сумма групп L-AA и групп PEG может составлять от примерно 50 до примерно 64. В случае если сумма групп L-AA и групп PEG составляет менее 64, не вступившие в реакцию поверхностные функциональные звенья последнего поколения структурных звеньев остаются первичными аминогруппами, при условии, что дендример содержит по меньшей мере одну группу L-AA. Например, число первичных аминогрупп на последнем поколении структурных звеньев равно 64 минус сумма групп L-AA и PEG (например, $64 - (L-AA + PEG)$), при условии, что дендример содержит по меньшей мере одну группу L-AA. Например, если сумма групп L-AA и групп PEG равна 50, то 14 поверхностных функциональных групп останутся первичными аминофрагментами, если сумма групп L-AA и PEG групп равна 51, то 13 из поверхностных функциональных групп останутся первичными аминофрагментами, если сумма групп L-AA и групп PEG равна 52, то 12 из поверхностных функциональных групп останутся первичными аминофрагментами, если сумма групп L-AA и групп PEG равна 53, то 11 из поверхностных функциональных групп останутся первичными аминофрагментами и т. д. В некоторых вариантах осуществления число первичных аминофрагментов на дендримере составляет от примерно 0 до примерно 14. В некоторых вариантах осуществления если сумма числа групп PEG и числа групп L-AA составляет менее $(2^x)b$, при этом x представляет собой число поколений дендримера, а b представляет собой число дендронов, то оставшиеся поверхностные функциональные группы равняются 64 минус сумма групп PEG и групп L-AA, при условии, что дендример содержит по меньшей мере одну группу L-AA.

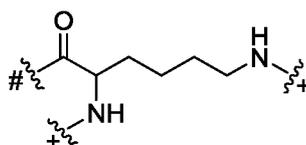
В некоторых вариантах осуществления W представляет собой $(PM)_c$ или $(H)_e$; Z представляет собой $(L-AA)_d$ или $(H)_e$; при условии, что $(c+d) \leq (2^x)b$ и при условии, что значение $d \geq 1$; где x представляет собой число поколений, а b представляет собой число дендронов; и при условии, что, если $(c+d) < (2^x)b$, то любые оставшиеся группы W и Z представляют собой $(H)_e$, где e равно $[2^{(x+1)}] - (c+d)$. Например, если b равно 2, а x равно 5,

то $(c+d) \leq 64$. В некоторых вариантах осуществления $(c+d) = 64$; то есть сумма $(PM)_c$ и $(L-AA)_d$ равна 64. В некоторых вариантах осуществления, если b равно 2, а x равно 5, то $(c+d) < 64$; то есть сумма $(PM)_c$ и $(L-AA)_d$ меньше 64, при условии, что значение $d \geq 1$. В некоторых вариантах осуществления $(c+d)$ является целым числом от 50 до 64. В некоторых вариантах осуществления $(c+d)$ является целым числом от 58 до 64.

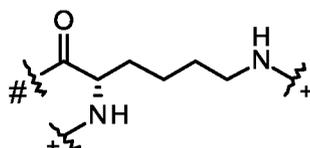
В некоторых вариантах осуществления $(c+d) = (2^x)b$, в этом случае $(H)_e$ отсутствуют, и e равно 0. Например, если b равно 2, x равно 5, а сумма $(PM)_c$ и $(L-AA)_d$ равна 64, то незамещенные поверхностные функциональные группы на пятом поколении структурных звеньев в дендримере отсутствуют и, следовательно, e равно 0. Однако, если $(c+d) < (2^x)b$, то $(H)_e$ равно $(2^x)b - (c+d)$. Например, если b равно 2, x равно 5 и сумма $(PM)_c$ и $(L-AA)_d$ составляет менее 64, то число незамещенных поверхностных функциональных групп на пятом поколении структурных блоков равна 64 минус сумма $(PM)_c$ и $(L-AA)_d$. В таком случае e равно 64 минус сумма $(PM)_c$ и $(L-AA)_d$. В некоторых вариантах осуществления, если сумма $(c+d)$ является целым числом от 50 до 64, e является целым числом от 0 до 14. В некоторых вариантах осуществления, если $(c+d)$ является целым числом от 58 до 64, то e является целым числом от 0 до 6. В некоторых вариантах осуществления $(c+d)$ равно 58, а e равно 6. В некоторых вариантах осуществления $(c+d)$ равно 59, а e равно 5. В некоторых вариантах осуществления $(c+d)$ равно 60, а e равно 4. В некоторых вариантах осуществления $(c+d)$ равно 61, а e равно 3. В некоторых вариантах осуществления $(c+d)$ равно 62, а e равно 2. В некоторых вариантах осуществления $(c+d)$ равно 63, а e равно 1. В некоторых вариантах осуществления $(c+d)$ равно 64, а e равно 0.

В некоторых вариантах осуществления, любой из дендримеров формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) характеризуется молекулярной массой от примерно 90 до примерно 120 кДа. В некоторых вариантах осуществления дендример характеризуется молекулярной массой от примерно 100 до 115 кДа. В некоторых вариантах осуществления дендример характеризуется молекулярной массой от примерно 100 до примерно 110 кДа. В некоторых вариантах осуществления дендример характеризуется молекулярной массой от примерно 100 до примерно 105 кДа. В некоторых вариантах осуществления молекулярная масса дендримера составляет примерно 100 кДа, примерно 101 кДа, примерно 102 кДа, примерно 103 кДа, примерно 104 кДа, примерно 105 кДа, примерно 106 кДа, примерно 107 кДа, примерно 108 кДа, примерно 109 кДа или примерно 110 кДа.

В некоторых вариантах осуществления, если BU представляет собой

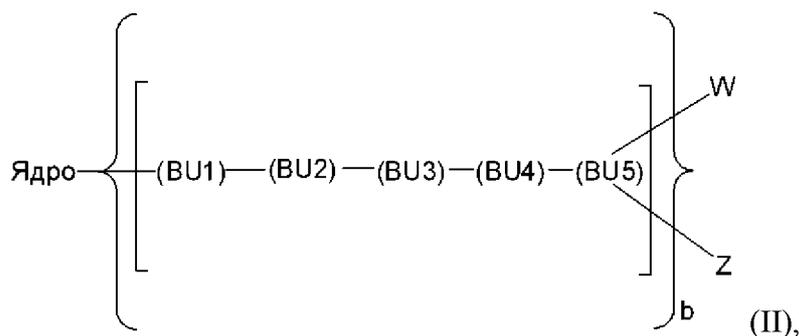


или



PEG присоединен ковалентной связью к функциональной аминогруппе в ϵ -положении BU, а L-AA присоединен ковалентной связью к функциональной аминогруппе в α -положении BU.

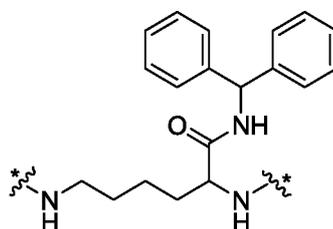
В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (II):



или его фармацевтически приемлемую соль, где:

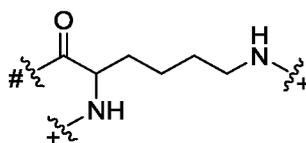
b составляет 2;

ядро представляет собой:



* обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом (BU1);

BU представляют собой структурные звенья, и число BU равно 62; где BU характеризуется следующей структурой:



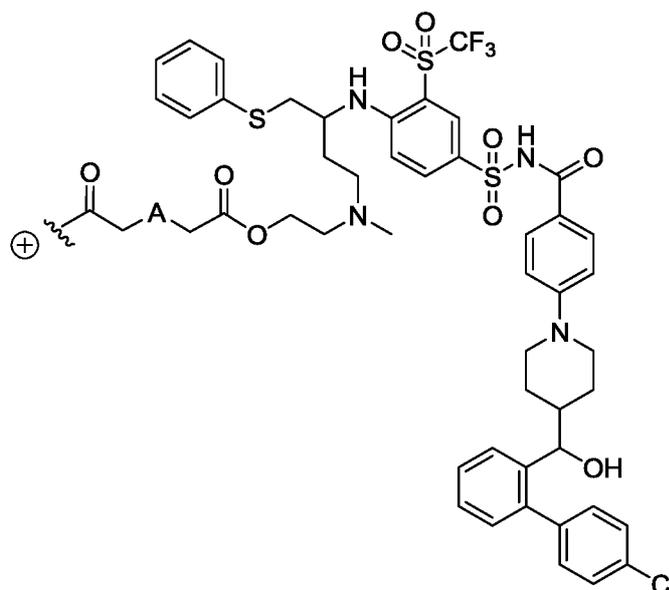
обозначает ковалентную связь с аминным фрагментом ядра или аминфрагментом BU, а + обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом BU или ковалентную связь с W или Z;

W независимо представляет собой $(PM)_c$ или $(H)_e$;

Z независимо представляет собой $(L-AA)_d$ или $(H)_e$;

PM - это PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA представляет собой линкер, присоединенный ковалентной связью к действующему веществу; где L-AA представлен формулой:



, где

A представляет собой $-N(CH_3)$ или $-S-$;

\oplus обозначает ковалентную связь с аминным фрагментом BU5;

при условии, что $(c+d)$ составляет ≤ 64 , а значение $d \geq 1$; и

при условии, что если $(c+d) < 64$, то любые оставшиеся группы W и Z представляют собой $(H)_e$, где e равно $64-(c+d)$.

В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) A представляет собой $-N(CH_3)$. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) A представляет собой $-S-$.

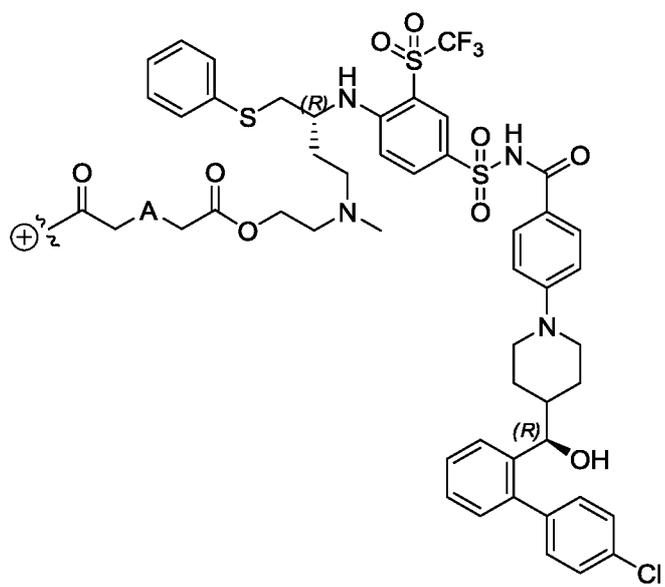
В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) c является целым числом 25 до 32. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) c

является целым числом 29 до 32. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) с равно 29. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) с равно 30. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) с равно 31. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) с равно 32.

В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) d является целым числом от 25 до 32. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) d является целым числом от 29 до 32. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) d равно 29. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) d равно 30. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) d равно 31. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) d равно 32.

В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) e является целым числом от 0 до 14. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) e является целым числом от 0 до 6. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) e равно 0. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) e равно 1. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) e равно 2. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) e равно 3. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) e равно 4. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) e равно 5. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) e равно 6.

В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (II) L-AA представляет собой:

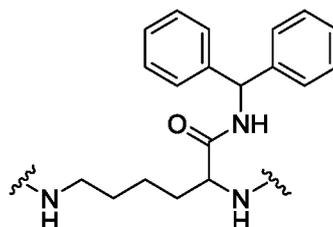


В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (III):

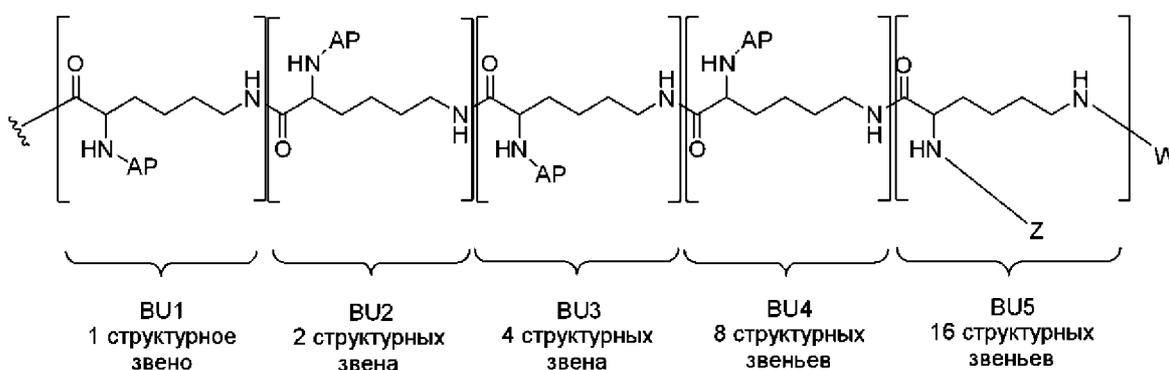


или его фармацевтически приемлемую соль, где:

ядро представляет собой:



D представляет собой



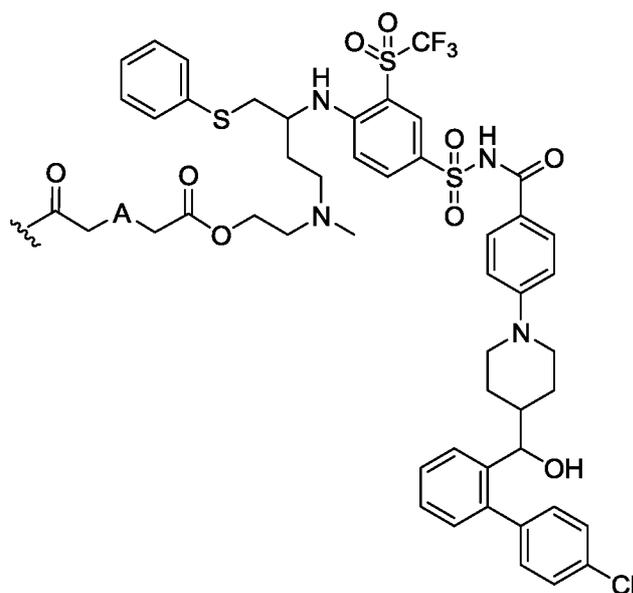
AP представляет собой место присоединения к другому структурному звену;

W независимо представляет собой $(\text{PM})_c$ или $(\text{H})_e$;

Z независимо представляет собой $(\text{L-AA})_d$ или $(\text{H})_e$;

PM - это $\text{PEG}_{1800-2400}$;

L-AA представляет собой линкер, присоединенный ковалентной связью к действующему веществу; где L-AA представлен формулой:



, где

A представляет собой $-N(CH_3)$, $-O-$, $-S-$ или $-CH_2-$;

при условии, что если $(c+d) < 64$, то любые оставшиеся группы W и Z представляют собой $(H)_e$, где e равно $64-(c+d)$; а d принимает значения ≥ 1 .

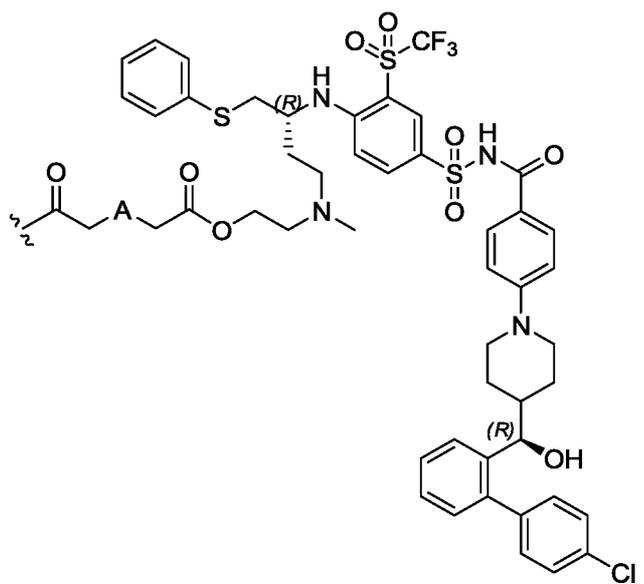
В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) (PM)_c A представляет собой $-N(CH_3)$. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) A представляет собой $-S-$.

В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) c составляет целое число от 25 до 32. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) c составляет целое число от 29 до 32. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) c составляет 29. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) c составляет 30. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) c составляет 31. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) c составляет 32.

В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) d составляет целое число от 25 до 32. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) d составляет целое число от 29 до 32. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) d составляет 29. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) d составляет 30. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) d составляет 31. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) d составляет 32.

В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) n составляет целое число от 0 до 14. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) m составляет целое число от 0 до 6. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) k составляет 0. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) l составляет 1. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) o составляет 2. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) p составляет 3. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) q составляет 4. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) r составляет 5. В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) s составляет 6.

В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (III) L-AA дендримера формулы (III) представляет собой:



В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (IV):

А представляет собой –S- или –N(CH₃), при условии, что сумма PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ и L-AA меньше 64, оставшиеся фрагменты Q и Y представляют собой H, и при условии, что по меньшей мере один Q представляет собой L-AA.

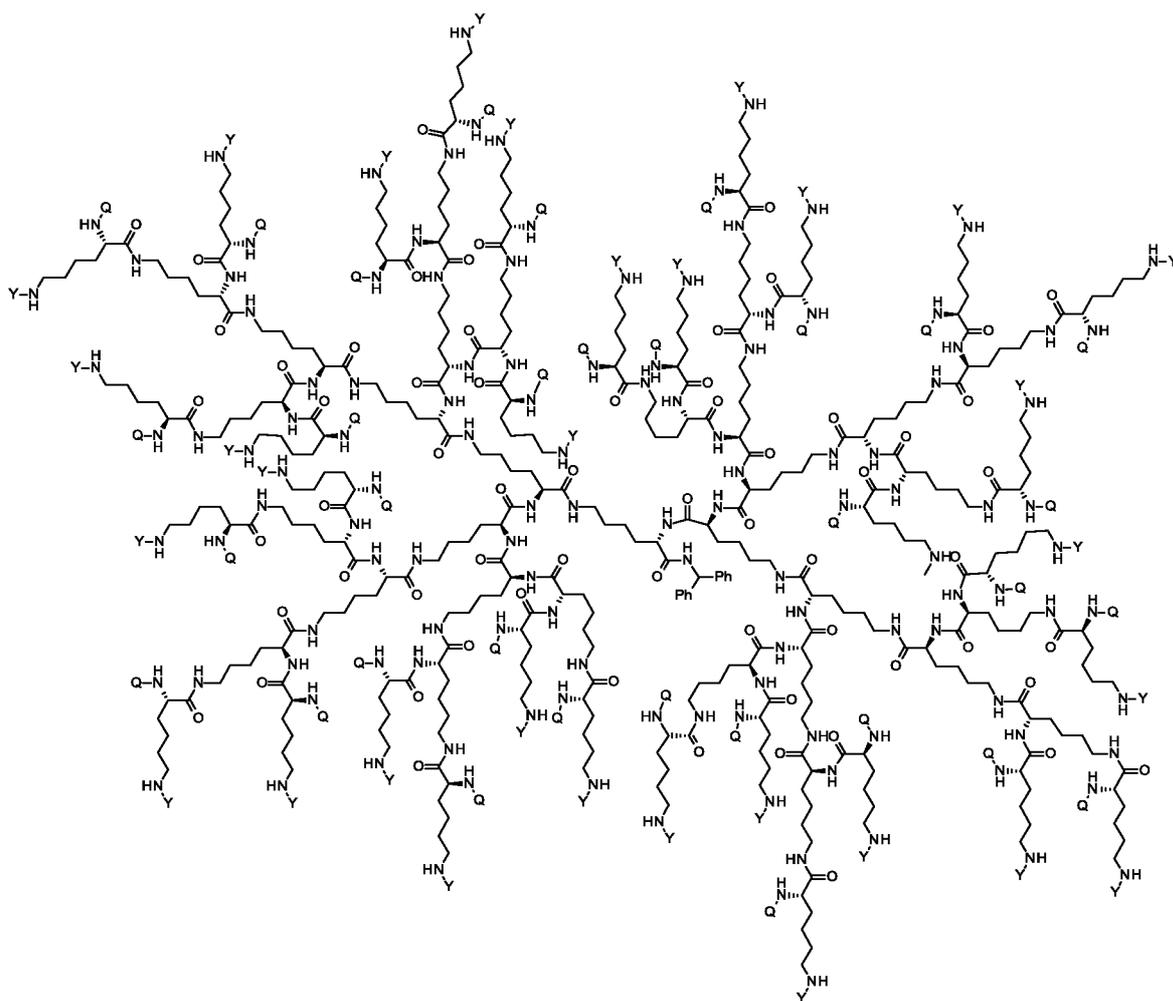
В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (IV) А представляет собой –N(CH₃). В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (IV) А представляет собой –S-.

В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит от 25 до 32 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит от 29 до 32 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит 29 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит 30 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит 31 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит 32 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀.

В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит от 25 до 32 L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит от 29 до 32 L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит 29 L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит 30 L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит 31 L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит 32 L-AA.

В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит от 0 до 14 атомов водорода в положениях Q и/или Y. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит от 0 до 6 атомов водорода в положениях Q и/или Y. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит 1 атом водорода в положениях Q и/или Y. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит 2 атома водорода в положениях Q и/или Y. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит 3 атома водорода в положениях Q и/или Y. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит 4 атома водорода в положениях Q и/или Y. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит 5 атомов водорода в положениях Q и/или Y. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (IV) содержит 6 атомов водорода в положениях Q и/или Y.

В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (V):

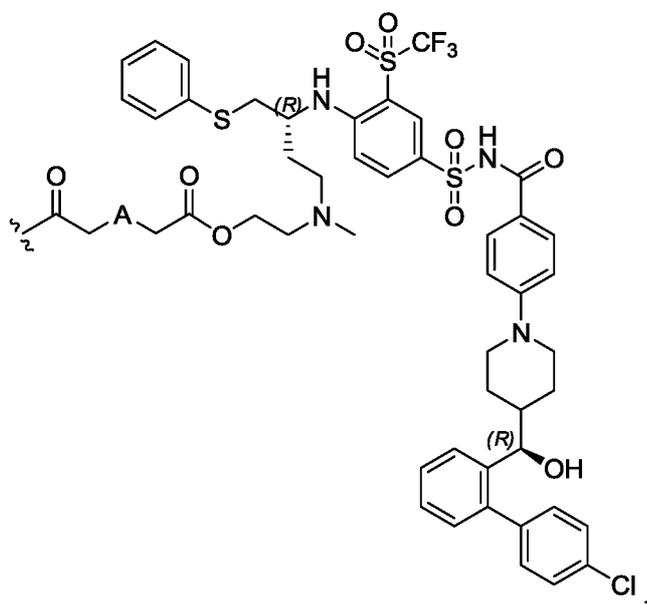


(V),

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

Y представляет собой PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ или H;

Q представляет собой H или L-AA, где L-AA характеризуется структурой:



А представляет собой $-S-$ или $-N(CH_3)$, при условии, что сумма $PEG_{1800-2400}$ и L-AA меньше 64, оставшиеся фрагменты Q и Y представляют собой H, и при условии, что по меньшей мере один Q представляет собой L-AA.

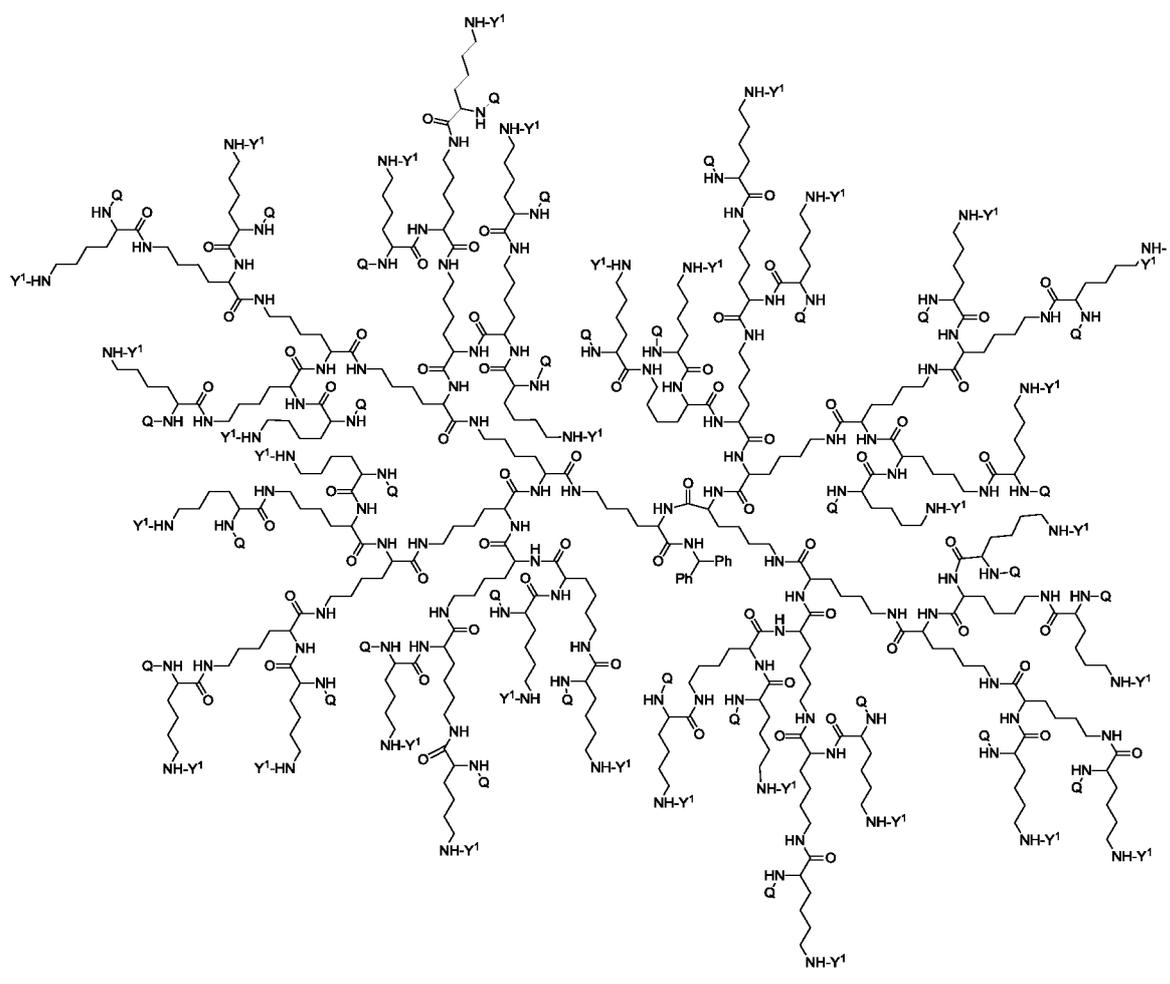
В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (V) А представляет собой $-N(CH_3)$ (соединение 1). В некоторых вариантах осуществления дендримера формулы (V) А представляет собой $-S-$ (соединение 2).

В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит от 25 до 32 $PEG_{1800-2400}$. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит от 29 до 32 $PEG_{1800-2400}$. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит 29 $PEG_{1800-2400}$. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит 30 $PEG_{1800-2400}$. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит 31 $PEG_{1800-2400}$. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит 32 $PEG_{1800-2400}$.

В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит от 25 до 32 L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит от 29 до 32 L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит 29 L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит 30 L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит 31 L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит 32 L-AA.

В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит от 0 до 14 атомов водорода в положениях Q и/или Y. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит от 0 до 6 атомов водорода в положениях Q и/или Y. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит 1 атом водорода в положениях Q и/или Y. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит 2 атома водорода в положениях Q и/или Y. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит 3 атома водорода в положениях Q и/или Y. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит 4 атома водорода в положениях Q и/или Y. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит 5 атомов водорода в положениях Q и/или Y. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (V) содержит 6 атомов водорода в положениях Q и/или Y.

В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (VI):

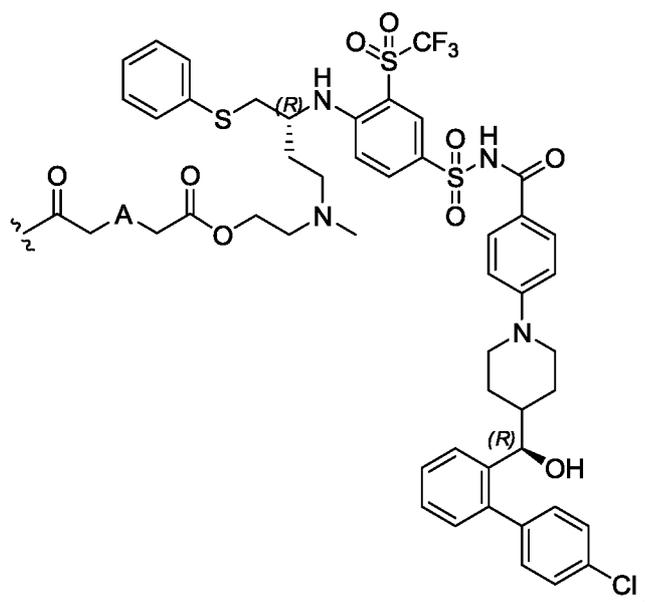


или его фармацевтически приемлемую соль, где

Y^1 представляет собой $-C(=O)CH_2-(OCH_2CH_2)_x-OCH_3$ или H;

r представляет собой целое число от 39 до 53; и

Q представляет собой H или L-AA, в котором L-AA характеризуется структурой:



A представляет собой -S- или -N(CH₃), при условии, что сумма Y¹ и L-AA меньше 64, оставшиеся фрагменты Q и Y¹ представляют собой H, и при условии, что по меньшей мере один Q представляет собой L-AA. В некоторых вариантах осуществления раскрыто соединение формулы (VI), в котором A представляет собой -S-. В некоторых вариантах осуществления раскрыто соединение формулы (VI), в котором A представляет собой -N(CH₃).

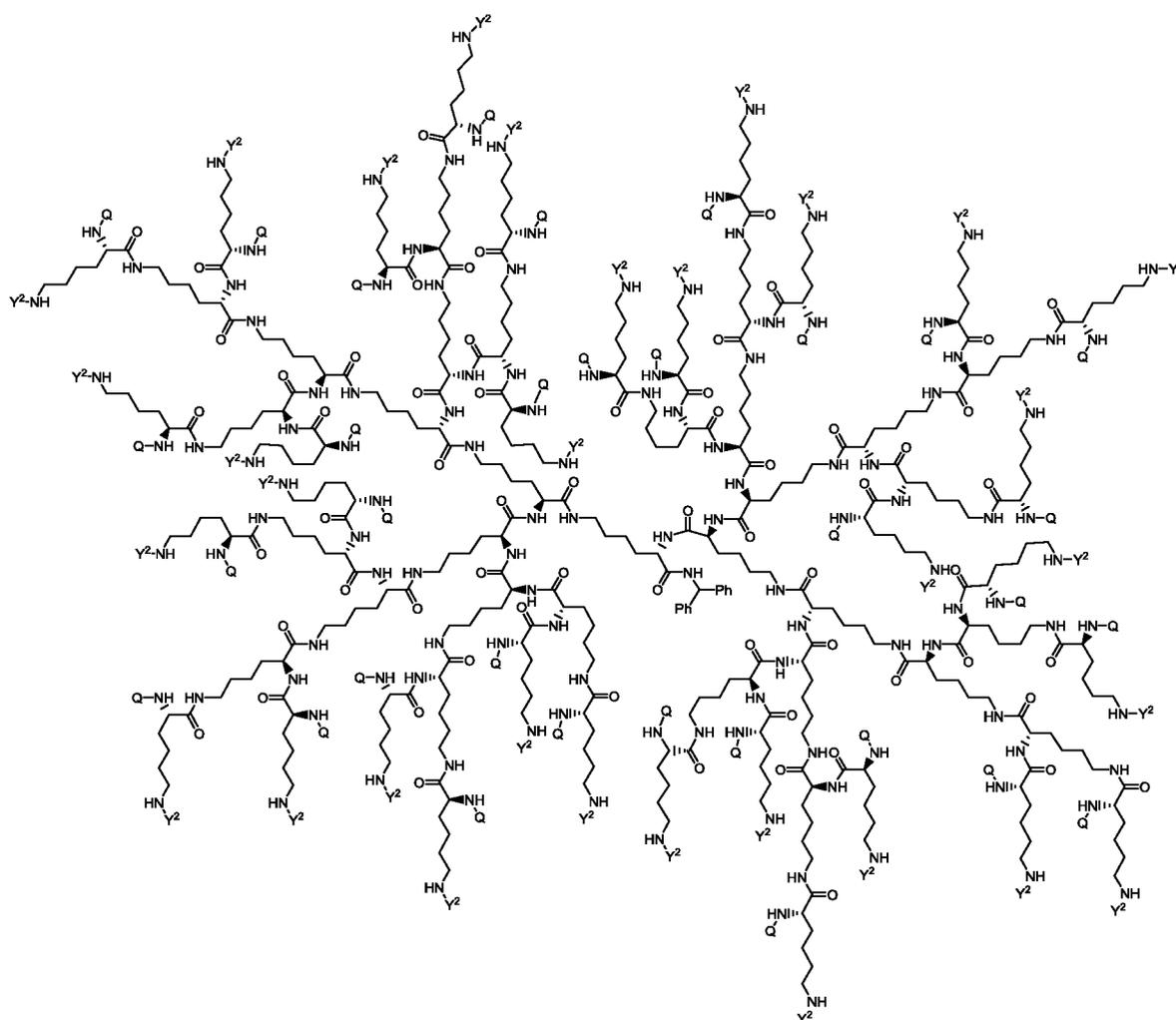
В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит от 25 до 32 фрагментов Y¹. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит от 29 до 32 фрагментов Y¹. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит 29 фрагментов Y¹. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит 30 фрагментов Y¹. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит 31 фрагмент Y¹. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит 32 фрагмента Y¹.

В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит от 25 до 32 фрагментов L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит от 29 до 32 фрагментов L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит 29 фрагментов L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит 30 фрагментов L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит 31 фрагмент L-AA. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит 32 фрагмента L-AA.

В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит от 0 до 14 атомов водорода в положениях Q и/или Y¹. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит от 0 до 6 атомов водорода в положениях Q и/или Y¹. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит 1 атом водорода в положениях Q и/или Y¹. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит 2 атома водорода в положениях Q и/или Y¹. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит 3 атома водорода в положениях Q и/или Y¹. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит 4 атома водорода в положениях Q и/или Y¹. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит 5 атомов водорода в положениях Q и/или Y¹. В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VI) содержит 6 атомов водорода в положениях Q и/или Y¹.

В некоторых вариантах осуществления x является целым числом от 39 до 53. В некоторых вариантах осуществления x является целым числом от 41 до 50. В некоторых вариантах осуществления x является целым числом от 44 до 48. В некоторых вариантах осуществления x является целым числом, выбранным из 45, 46 или 47. В некоторых вариантах осуществления x равно 39. В некоторых вариантах осуществления x равно 40. В некоторых вариантах осуществления x равно 41. В некоторых вариантах осуществления x равно 42. В некоторых вариантах осуществления x равно 43. В некоторых вариантах осуществления x равно 44. В некоторых вариантах осуществления x равно 45. В некоторых вариантах осуществления x равно 46. В некоторых вариантах осуществления x равно 47. В некоторых вариантах осуществления x равно 48. В некоторых вариантах осуществления x равно 49. В некоторых вариантах осуществления x равно 50. В некоторых вариантах осуществления x равно 51. В некоторых вариантах осуществления x равно 52. В некоторых вариантах осуществления x равно 53.

В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (VII):



(VII)

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

Y^2 представляет собой $-C(=O)CH_2-(OCH_2CH_2)_y-OCH_3$ или H;

у представляет собой целое число от 39 до 53; и

Q представляет собой H или L-AA, в котором L-AA характеризуется структурой:

В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VII) содержит от 0 до 14 атомов водорода в положениях Q и/или Y². В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VII) содержит от 0 до 6 атомов водорода в положениях Q и/или Y². В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VII) содержит 1 атом водорода в положениях Q и/или Y². В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VII) содержит 2 атома водорода в положениях Q и/или Y². В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VII) содержит 3 атома водорода в положениях Q и/или Y². В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VII) содержит 4 атома водорода в положениях Q и/или Y². В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VII) содержит 5 атомов водорода в положениях Q и/или Y². В некоторых вариантах осуществления дендример формулы (VII) содержит 6 атомов водорода в положениях Q и/или Y².

В некоторых вариантах осуществления у является целым числом от 39 до 53. В некоторых вариантах осуществления у является целым числом от 41 до 50. В некоторых вариантах осуществления у является целым числом от 44 до 48. В некоторых вариантах осуществления у является целым числом, выбранным из 45, 46 или 47. В некоторых вариантах осуществления у равно 39. В некоторых вариантах осуществления у равно 40. В некоторых вариантах осуществления у равно 41. В некоторых вариантах осуществления у равно 42. В некоторых вариантах осуществления у равно 43. В некоторых вариантах осуществления у равно 44. В некоторых вариантах осуществления у равно 45. В некоторых вариантах осуществления у равно 46. В некоторых вариантах осуществления у равно 47. В некоторых вариантах осуществления у равно 48. В некоторых вариантах осуществления у равно 49. В некоторых вариантах осуществления у равно 50. В некоторых вариантах осуществления у равно 51. В некоторых вариантах осуществления у равно 52. В некоторых вариантах осуществления у равно 53.

Под выражением “фармацевтически приемлемая соль” подразумеваются соли присоединения кислоты или основания, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства дендримеров формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII), и которые обычно не являются биологически или другим образом нежелательными. Во многих случаях дендримеры формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) способны образовывать соли присоединения кислоты и/или основания благодаря наличию групп основания и/или карбоксильных групп или подобных им групп.

Фармацевтически приемлемые соли дендримеров формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) можно синтезировать традиционными химическими способами из основного или кислотного фрагмента. Обычно такие соли можно получать реакцией форм свободной кислоты таких соединений со стехиометрическим количеством подходящего основания или реакцией форм свободного основания таких соединений со стехиометрическим количеством подходящей кислоты. Такие реакции обычно осуществляют в воде или в органическом растворителе или в смеси их обоих. Как правило, где это применимо, желательнее применение неводных сред, таких как эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил. Перечни дополнительных подходящих солей можно найти, например, в "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); Berge et al., "J. Pharm. Sci.", 1977, 66, 1-19, и в "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" by Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002).

Любая формула, приведенная в данном документе, также может представлять немеченные формы, а также меченные изотопом формы дендримеров формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) или их фармацевтически приемлемой соли. Изотопно меченые соединения характеризуются структурами, изображенными с помощью формул, приведенных в данном документе, за исключением того, что один или несколько атомов замещены атомом того же элемента, но с отличающимся массовым числом. Примеры изотопов, которые могут быть включены в дендример формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) и их соли, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, фтора и хлора, такие как ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S и ^{125}I . Дендримеры формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) или их фармацевтически приемлемая соль могут включать различные меченые изотопами соединения, в которые входят радиоактивные изотопы, такие как ^3H , ^{11}C , ^{14}C , ^{35}S и ^{36}Cl . Меченые изотопом дендримеры формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) или их фармацевтически приемлемую соль обычно можно получать с помощью традиционных методик, известных специалистам в данной области, или с помощью способов, аналогичных описанным в прилагаемых примерах, с применением соответствующих меченых изотопом реагентов вместо немеченых реагентов, используемых ранее.

Дендримеры формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) или их фармацевтически приемлемая соль могут иметь разные изомерные формы. Выражения «оптический изомер» или «стереоизомер» относятся к любой из различных стереоизомерных

конфигураций, которые могут существовать для данного дендримера формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) или их фармацевтически приемлемой соли. В частности, дендримеры формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) или их фармацевтически приемлемая соль обладают хиральностью и, соответственно, могут существовать в виде смесей энантиомеров с энантиомерным избытком от примерно 0% до >98% э. и. Когда соединение представляет собой чистый энантиомер, стереохимия при каждом хиральном центре может быть указана как *R* или как *S*. Такие обозначения также можно применять для смесей, которые обогащены одним энантиомером. Выделенные соединения, абсолютная конфигурация которых неизвестна, могут быть обозначены (+) или (-) в зависимости от направления (право- или левовращающие), в котором они вращают плоскость поляризованного света при длине волны D-линии натрия. Настоящее изобретение включает все такие возможные изомеры, в том числе рацемические смеси, оптически чистые формы и смеси промежуточных соединений. Оптически активные (R)- и (S)-изомеры можно получать, применяя хиральные синтоны, хиральные реагенты или хиральные катализаторы, или их можно выделять, используя традиционные методики, широко известные из уровня техники, такие как хиральная ВЭЖХ.

В некоторых вариантах осуществления раскрыты лиофилизированные составы, содержащие дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, полученные способом, включающим стадии растворения соединения формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли в ледяной уксусной кислоте с образованием раствора, сублимационную сушку раствора и вымораживание уксусной кислоты при пониженном давлении.

Выражение «фармацевтически приемлемые составы» подразумевает соединения, материалы, разбавители или растворители, формообразующие, составы и/или лекарственные формы, которые по результатам тщательной медицинской оценки являются подходящими для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, установленных специалистом в данной области техники.

Раскрываемые составы можно получать обычными процедурами с использованием обычных фармацевтических формообразующих, хорошо известных в данной области, например суспендирующих средств, диспергирующих или смачивающих средств,

консервантов, антиоксидантов, эмульгаторов, связующих, разрыхлителей, средств, способствующих скольжению, смазывающих веществ или сорбентов.

В некоторых вариантах осуществления раскрываемые фармацевтические составы восстанавливают в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе с образованием стерильного раствора для инъекций в одной или нескольких водных или неводных нетоксичных парентерально приемлемых буферных системах, разбавителе или растворителях, солюбилизующих средствах, соразтворителях или носителях. Стерильный инъекционный препарат также может представлять собой стерильную инъекционную водную или масляную суспензию или суспензию в неводном разбавителе или растворителе, носителе или соразтворителе, которая может быть составлена согласно известным процедурам с применением одного или нескольких соответствующих диспергирующих или смачивающих средств и суспендирующих средств. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый разбавитель или растворитель включает цитратный буферный раствор. В некоторых вариантах осуществления pH цитратного буфера равен 5. В некоторых вариантах осуществления цитратный буфер включает моногидрат лимонной кислоты, дигидрат цитрата натрия и безводную декстрозу. В некоторых вариантах осуществления разбавитель или растворитель представляет собой 50 мМ цитратный буфер с pH 5 в 5% (вес/вес) декстрозе. В некоторых вариантах осуществления разбавитель или растворитель представляет собой цитратный/фосфатный буфер с pH 5, разбавленный в соотношении 1:10 5% вес/об. глюкозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый разбавитель или растворитель включает ацетатный буферный раствор. В некоторых вариантах осуществления pH раствора ацетатного буфера равен 5. В некоторых вариантах осуществления ацетатный буферный раствор содержит уксусную кислоту, безводный ацетат натрия и декстрозу. В некоторых вариантах осуществления ацетатный буфер содержит представляет собой 100 мМ ацетатного буфера с (pH 5) в 2,5% (вес/вес) декстрозе.

Фармацевтические композиции могут быть восстановлены с образованием раствора для iv болюсной/инфузионной инъекции, стерильный дендример для разбавления с помощью буферной системы или лиофилизированную систему (либо дендример отдельно, либо со вспомогательными веществами) для разбавления с помощью буферной системы, либо без других вспомогательных веществ. Лيوфилизированный высушенный сублимацией материал может быть получен на основе неводных растворителей или

водных растворителей. Лекарственная форма также может представлять собой концентрат для дальнейшего разбавления с последующей инфузией.

Количество активного ингредиента, которое можно объединить с одним или несколькими вспомогательными веществами для получения единичной лекарственной формы, будет неизбежно варьироваться в зависимости от подвергаемого лечению реципиента и конкретного пути введения. Для получения дополнительной информации о путях введения и режимах дозирования читателю дается ссылка на главу 25.3 тома 5 *Comprehensive Medicinal Chemistry* (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990.

Дендримеры формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) или их фармацевтически приемлемую соль можно вводить один, два, три раза в сутки или столько раз в течение 24-часового периода, сколько необходимо с медицинской точки зрения. Специалист в данной области техники сможет легко определить количество каждой отдельной дозы в зависимости от субъекта. В некоторых вариантах осуществления дендримеры формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) или их фармацевтически приемлемую соль вводят в одной лекарственной форме. В некоторых вариантах осуществления дендримеры формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) или их фармацевтически приемлемую соль вводят в нескольких лекарственных формах.

В некоторых вариантах осуществления рН фармацевтического состава составляет от примерно 4,0 до примерно 6,0, например, от примерно 4,8 до примерно 5,6.

В некоторых вариантах осуществления содержание дендримеров формул (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) и (VII) или их фармацевтически приемлемой соли в фармацевтическом составе составляет примерно 90-110% согласно анализу относительно эталонного стандарта известной чистоты.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав характеризуется чистотой не ниже примерно 75%, примерно 80%, примерно 85%, примерно 90% или примерно 95% согласно данным анализа с помощью эксклюзионной хроматографии с УФ-детектированием (SEC-UV). В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав характеризуется чистотой не ниже примерно 85% согласно данным анализа с помощью SEC-UV.

В некоторых вариантах осуществления суммарная массовая доля примесей в фармацевтическом составе составляет менее примерно 10%, например, примерно 9%, примерно 8%, примерно 7%, примерно 6%, примерно 5%, примерно 4%, примерно 3%,

примерно 2% или примерно 1%. В некоторых вариантах осуществления суммарная массовая доля примесей в фармацевтическом составе составляет менее чем от примерно 1% до 10%. В некоторых вариантах осуществления суммарная массовая доля примесей в фармацевтическом составе составляет менее чем от примерно 1% до 5%. В некоторых вариантах осуществления суммарная массовая доля примесей в фармацевтическом составе составляет менее примерно 3%.

В некоторых вариантах осуществления массовая доля свободного соединения А в фармацевтическом составе составляет менее примерно 10%, примерно 9%, примерно 8%, примерно 7%, примерно 6%, примерно 5%, примерно 4%, примерно 3%, примерно 2%, примерно 1%, примерно 2% или примерно 1%.

В некоторых вариантах осуществления массовая доля любой одной необозначенной примеси в фармацевтическом составе составляет менее примерно 10%, примерно 9%, примерно 8%, примерно 7%, примерно 6%, примерно 5%, примерно 4%, примерно 3%, примерно 2%, примерно 1%, примерно 0,5%, примерно 2%, примерно 1% или примерно 0,5%. В некоторых вариантах осуществления массовая доля любой одной необозначенной примеси в фармацевтическом составе составляет менее примерно 0,5%.

В некоторых вариантах осуществления суммарная массовая доля свободных примесей в фармацевтическом составе составляет менее примерно 10%, примерно 9%, примерно 8%, примерно 7%, примерно 6%, примерно 5%, примерно 4%, примерно 3%, примерно 2%, примерно 1%, примерно 2% или примерно 1%.

В некоторых вариантах осуществления массовая доля уксусной кислоты в фармацевтическом составе составляет не более примерно 10%, примерно 9%, примерно 8%, примерно 7%, примерно 6%, примерно 5%, примерно 4%, примерно 3%, примерно 2%, примерно 1%, примерно 2% или примерно 1%. В некоторых вариантах осуществления массовая доля уксусной кислоты в фармацевтическом составе составляет не более примерно 1,5%.

В некоторых вариантах осуществления средний размер частицы в фармацевтическом составе, измеренный методом динамического светорассеяния (ДРС), составляет от примерно 15 до примерно 25 нм в диаметре, например, от примерно 17 до примерно 19 нм в диаметре.

В некоторых вариантах осуществления коэффициент полидисперсности (PDI) фармацевтического состава, измеренный методом динамического светорассеяния (ДРС), составляет от примерно 0,20 до примерно 0,30.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав содержит не более чем примерно 10000, примерно 9000, примерно 8000, примерно 7000, примерно 6000, примерно 5000, примерно 4000, примерно 3000, примерно 2000, примерно 1000 или примерно 500 частиц размером больше или равным примерно 10 мкм на 50 мл контейнер при восстановлении в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав содержит не более чем примерно 6000 частиц размером больше или равным примерно 10 мкм на 50 мл контейнер при восстановлении в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав содержит не более чем примерно 1000, примерно 900, примерно 800, примерно 700, примерно 600, примерно 500, примерно 400, примерно 300, примерно 200, примерно 100 или примерно 50 частиц размером больше или равным примерно 25 мкм на 50 мл контейнер при восстановлении в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический состав содержит не более чем примерно 600 частиц размером больше или равным примерно 25 мкм на 50 мл контейнер при восстановлении в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе.

В некоторых вариантах осуществления осмоляльность фармацевтического состава составляет от примерно 200 до примерно 400 мОсмоль/кг, например от примерно 250 до примерно 350 мОсмоль/кг, от примерно 260 до примерно 330 мОсмоль/кг или от примерно 270 до примерно 328 мОсмоль/кг при восстановлении в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе.

В некоторых вариантах осуществления предел эндотоксина фармацевтического состава составляет не более чем примерно 0,1, примерно 0,09, примерно 0,08, примерно 0,07, примерно 0,06, примерно 0,05, примерно 0,04, примерно 0,03, примерно 0,02 или примерно 0,01 ЕЭ/мг.

В некоторых вариантах реализации уксусная кислота характеризуется низким содержанием воды, например, менее примерно 1000 м.д., менее примерно 900 м.д., менее примерно 800 м.д., менее примерно 700 м.д., менее примерно 600 м.д., менее примерно 500 м.д., менее примерно 400 м.д., менее примерно 300 м.д., менее примерно 200 м.д., менее примерно 100 м.д. или менее примерно 50 м.д. В некоторых вариантах осуществления содержание воды в уксусной кислоте составляет менее примерно 10%, менее примерно 5%, менее примерно 4%, менее примерно 3%, менее примерно 2%, менее примерно 1%, менее чем примерно 0,5%, менее примерно 0,1%, менее примерно 0,09%,

менее примерно 0,08%, менее примерно 0,07%, менее примерно 0,06%, менее примерно 0,05%, менее примерно 0,04%, менее примерно 0,03 %, менее примерно 0,02% или менее примерно 0,01%.

В некоторых вариантах осуществления раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, где фармацевтический состав содержит уксусную кислоту. В некоторых вариантах осуществления раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, где фармацевтический состав содержит не более чем примерно 2% уксусной кислоты. В некоторых вариантах осуществления раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, и содержащий не более чем примерно 2% уксусной кислоты, где содержание воды в уксусной кислоте составляет менее чем примерно 200 м.д.

В некоторых вариантах осуществления раскрыты способы лечения рака, включающие внутривенное введение субъекту, нуждающемуся в этом, фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе.

В одном аспекте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения рака.

В одном аспекте раскрыто применение фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, в производстве лекарственного средства для лечения рака.

В одном аспекте раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для применения в лечении рака.

Выражения «лечить», «осуществление лечения» и «лечение» подразумевают снижение или подавление активности фермента или белка, связанной с Bcl-2 и/или Bcl-XL или раком, у субъекта, облегчение одного или нескольких симптомов рака у субъекта или

замедление или отсрочку прогрессирования рака у субъекта. Выражения «лечить», «осуществление лечения» и «лечение» также подразумевают уменьшение или подавление роста опухоли или пролиферации раковых клеток у субъекта.

Термин «рак» подразумевает без ограничения гематологические (например, лимфомы, лейкозы) и солидные злокачественные новообразования. Например, термин «рак» включает Т-клеточные лейкозы, Т-клеточные лимфомы, острую лимфобластную лимфому (ALL), острый миелогенный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (SLL), хронический миелогенный лейкоз (CML), острый моноцитарный лейкоз (AML), множественную миелому, лимфому из клеток мантийной зоны, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), лимфому Беркитта, неходжкинскую лимфому, фолликулярную лимфому и солидные опухоли, например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC, например, NSCLC с мутацией EGF, NSCLC с мутацией KRAS), мелкоклеточный рак легкого (SCLC), рак молочной железы, нейробластому, рак яичника, рак предстательной железы, меланому (например, меланому с мутацией BRAF, меланому с мутацией KRAS), рак поджелудочной железы, матки, эндометрия и рак толстой кишки (например, рак толстой кишки с KRAS, рак толстой кишки с мутацией BRAF).

Термин «субъект» подразумевает теплокровных млекопитающих, например, приматов, собак, кошек, кроликов, крыс и мышей. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой примата, например, человека. В некоторых вариантах осуществления субъект страдает от рака или иммунного нарушения. В некоторых вариантах осуществления субъект нуждается в лечении (например, субъект будет получать биологическую или медицинскую пользу от лечения). В некоторых вариантах осуществления субъект страдает раком. В некоторых вариантах осуществления субъект страдает от рака, положительного по EGFR-M (например, немелкоклеточного рака легкого). В некоторых вариантах осуществления рак, положительный по EGFR-M, характеризуется преимущественно T790M-положительной мутацией. В некоторых вариантах осуществления рак, положительный по EGFR-M, характеризуется преимущественно T790M-отрицательной мутацией. В некоторых вариантах осуществления субъект страдает от гематологического (например, лимфом, лейкозов) или солидного злокачественного новообразования, такого как, например, острая лимфобластная лимфома (ALL), острый миелогенный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома, (SLL), хронический миелогенный лейкоз (CML), острый

моноцитарный лейкоз (AML), множественная миелома, лимфома из клеток мантийной зоны, диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL), лимфома Беркитта, неходжкинская лимфома, фолликулярная лимфома и солидные опухоли, например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), мелкоклеточный рак легкого (SCLC), рак молочной железы, нейробластома, рак предстательной железы, меланома, рак поджелудочной железы, рак матки, рак эндометрия и рак толстой кишки.

Выражение «эффективное количество» подразумевает количество дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли или второго противоракового средства, которое будет вызывать биологический или медицинский ответ у субъекта, например, снижение или подавление активности фермента или белка, связанной с Vcl-2 и/или Vcl-XL или раком; облегчение симптомов рака или замедление или отсрочку прогрессирования рака. В некоторых вариантах осуществления выражение «эффективное количество» подразумевает количество дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли или второго противоракового средства, которое при введении субъекту эффективно для по меньшей мере частичного уменьшения, подавления и/или облегчения симптомов рака или ингибирования Vcl-2 и/или Vcl-XL, и/или уменьшения или подавления роста опухоли или пролиферации раковых клеток у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления эффективное количество дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли может составлять от примерно 1 до примерно 500 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли может составлять от примерно 10 до примерно 300 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли может составлять от примерно 10 до примерно 100 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли может составлять от примерно 10 до примерно 60 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество раскрываемого дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли может составлять от примерно 10 до примерно 30 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество дендримера (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли может

составлять от примерно 20 до примерно 100 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли может составлять примерно 10 мг/кг, примерно 30 мг/кг, примерно 40 мг/кг, примерно 50 мг/кг, примерно 60 мг/кг, примерно 70 мг/кг, примерно 80 мг/кг, примерно 90 мг/кг, примерно 100 мг/кг, примерно 300 мг/кг или примерно 145 мг/кг.

В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения рака у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное пероральное введение субъекту эффективного количества акабрутиниба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения лимфомы у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное пероральное введение субъекту эффективного количества акабрутиниба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения неходжкинской лимфомы у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное пероральное введение субъекту эффективного количества акабрутиниба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения DLBCL у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное пероральное введение субъекту эффективного количества акабрутиниба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте

осуществления раскрыт способ лечения DLBCL из активированных В-клеток (ABC-DLBCL) у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное пероральное введение субъекту эффективного количества акабрутиниба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения ВТК-чувствительной или ВТК-нечувствительной DLBCL у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное пероральное введение субъекту эффективного количества акабрутиниба или его фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления раскрыт способ лечения OCI-LY10 DLBCL у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное пероральное введение субъекту эффективного количества акабрутиниба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения MCL у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное пероральное введение субъекту эффективного количества акабрутиниба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения лейкемии у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное пероральное введение субъекту

эффективного количества акалабрутиниба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения CLL у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное пероральное введение субъекту эффективного количества акалабрутиниба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения AML у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное пероральное введение субъекту эффективного количества акалабрутиниба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения рака у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения неходжкинской лимфомы у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения DLBCL у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i)

внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту. В одном варианте раскрыта фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII), или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения DLBCL из активированных В-клеток (ABC-DLBCL) у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение фармацевтического состава дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения ВТК-чувствительной или ВТК-нечувствительной DLBCL у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение фармацевтического состава лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения OSI-LY10 DLBCL у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения MCL у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически

приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения лейкемии у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения CLL у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения AML у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту. В одном варианте осуществления раскрыт акалабрутиниб для лечения рака у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту и (ii) внутривенное введение ему фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт акалабрутиниб для лечения DLBCL у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту и (ii) внутривенное введение

ему фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт акалабрутиниб для лечения DLBCL из активированных В-клеток (ABC-DLBCL) у субъекта, где указанное лечение включает отдельное, последовательное или одновременное (i) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту и (ii) внутривенное введение ему фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт акалабрутиниб для лечения ВТК-чувствительной или ВТК-нечувствительной DLBCL у субъекта, где указанное лечение включает отдельное, последовательное или одновременное (i) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту и (ii) внутривенное введение ему фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт акалабрутиниб для лечения OCI-LY10 DLBCL у субъекта, где указанное лечение включает отдельное, последовательное или одновременное (i) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту и (ii) внутривенное введение ему фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт акалабрутиниб для лечения MCL у субъекта, где указанное лечение включает отдельное, последовательное или одновременное (i) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту и (ii) внутривенное введение ему фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт акалабрутиниб для лечения лейкемии у субъекта, где указанное лечение включает отдельное, последовательное или одновременное (i) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту и (ii) внутривенное введение ему фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I),

(II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт акалабрутиниб для лечения CLL у субъекта, где указанное лечение включает отдельное, последовательное или одновременное (i) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту и (ii) внутривенное введение ему фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт акалабрутиниб для лечения AML у субъекта, где указанное лечение включает отдельное, последовательное или одновременное (i) пероральное введение акалабрутиниба указанному субъекту и (ii) внутривенное введение ему фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе.

В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения рака у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное внутривенное введение субъекту эффективного количества ритуксимаба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения лимфомы у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное внутривенное введение субъекту эффективного количества ритуксимаба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения неходжкинской лимфомы у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное внутривенное введение субъекту

эффективного количества ритуксимаба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения DLBCL у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное внутривенное введение субъекту эффективного количества ритуксимаба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения DLBCL из В-клеток герминального центра (GCB-DLBCL) у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное внутривенное введение субъекту эффективного количества ритуксимаба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения лейкемии у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего фармацевтический состав, содержащий эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное внутривенное введение субъекту эффективного количества ритуксимаба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения CLL у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное внутривенное введение субъекту эффективного количества ритуксимаба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт способ лечения AML у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и

отдельное, последовательное или одновременное внутривенное введение субъекту эффективного количества ритуксимаба или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения рака у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение указанному субъекту фармацевтического состава, содержащего дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) внутривенное введение ритуксимаба. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения лимфомы у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение указанному субъекту фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) внутривенное введение ритуксимаба. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения неходжкинской лимфомы у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение указанному субъекту лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) внутривенное введение ритуксимаба. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения DLBCL у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное: (ii) внутривенное введение указанному субъекту фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в и фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и (ii) внутривенное введение ритуксимаба. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI)

или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения DLBCL из В-клеток герминального центра (GCB-DLBCL) у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное: (i) внутривенное введение указанному субъекту фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в и фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и (ii) внутривенное введение ритуксимаба. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения лейкемии у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение указанному субъекту фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) внутривенный ритуксимаб. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения CLL у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение указанному субъекту фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) внутривенное введение ритуксимаба. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения AML у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение указанному субъекту фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) внутривенное введение ритуксимаба. В одном варианте осуществления раскрыт ритуксимаб для лечения рака у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение ритуксимаба указанному субъекту и (ii) внутривенное введение ему фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V),

(VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт ритуксимаб для лечения лимфомы у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение ритуксимаба указанному субъекту и (ii) внутривенное введение ему фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт ритуксимаб для лечения неходжкинской у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение ритуксимаба указанному субъекту и (ii) внутривенное введение ему лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт ритуксимаб для лечения DLBCL у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение ритуксимаба указанному субъекту и (ii) внутривенное введение ему лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт ритуксимаб для лечения DLBCL из В-клеток герминального центра (GBC-DLBCL) у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение ритуксимаба указанному субъекту и (ii) внутривенное введение ему лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыт ритуксимаб для лечения лейкемии у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение указанному субъекту ритуксимаба и (ii) фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт ритуксимаб для лечения CLL у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение указанному субъекту ритуксимаба и (ii) фармацевтического состава, содержащего

лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт ритуксимаб для лечения AML у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение указанному субъекту ритуксимаба и (ii) фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе.

В одном варианте осуществления раскрыты способы лечения рака у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное пероральное введение субъекту эффективного количества вистусертиба (AZD2014) или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте осуществления раскрыты способы лечения мелкоклеточного рака легкого у субъекта, включающий внутривенное введение фармацевтического состава, содержащего эффективное количество лиофилизированного дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе; и отдельное, последовательное или одновременное пероральное введение субъекту эффективного количества вистусертиба (AZD2014) или его фармацевтически приемлемой соли. В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения рака у субъекта, где указанное лечение включает раздельное, последовательное или одновременное (i) внутривенное введение указанному субъекту фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) пероральное введение вистусертиба (AZD2014). В одном варианте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения мелкоклеточного рака легкого у субъекта, где указанное лечение включает раздельное,

последовательное или одновременное (i) внутривенное введение указанному субъекту фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе, и (ii) пероральное введение вистусертиба (AZD2014). В одном варианте осуществления раскрыт вистусертиб (AZD2014) или его фармацевтически приемлемая соль для лечения рака у субъекта, где указанное лечение включает отдельное, последовательное или одновременное (i) пероральное введение указанному субъекту вистусертиба (AZD2014) и (ii) внутривенное введение ему фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе. В одном варианте осуществления раскрыт вистусертиб (AZD2014) или его фармацевтически приемлемая соль для лечения мелкоклеточного рака легкого у субъекта, где указанное лечение включает отдельное, последовательное или одновременное (i) пероральное введение указанному субъекту вистусертиба или его фармацевтически приемлемой соли и (ii) внутривенное введение ему фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, восстановленные в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе.

В одном аспекте раскрыты способы ингибирования Vcl-2 и/или Vcl-XL у субъекта, нуждающегося в этом, включающие внутривенное введение субъекту, фармацевтического состава, содержащего эффективное количество дендримера формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемой соли, восстановленных в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе.

В одном аспекте раскрыт фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль для применения в ингибировании Vcl-2 и/или Vcl-XL.

В одном аспекте раскрыто применение фармацевтического состава, содержащего лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, в производстве лекарственного средства для ингибирования Vcl-2 и/или Vcl-XL.

В одном аспекте раскрыты фармацевтические составы, содержащие лиофилизированный дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, для применения в ингибировании Bcl-2 и/или Bcl-XL.

Термин «Bcl-2» относится к белку 2 В-клеточной лимфомы, а термин «Bcl-XL» относится к сверхбольшому белку В-клеточной лимфомы, которые являются антиапоптозными представителями семейства белков BCL-2.

В некоторых вариантах осуществления раскрыт набор, состоящий из одного или нескольких контейнеров, содержащих лиофилизированный фармацевтический состав, содержащий дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, и инструкции по применению. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно включает один или несколько контейнеров с фармацевтически приемлемым разбавителем или растворителем. Термин «контейнер» подразумевает любой контейнер, подходящий для вмещения лиофилизированных фармацевтических составов и фармацевтически приемлемых разбавителей или растворителей, например флаконы, мешки для IV, канистры, конверты, флаконы, шприцы и т.п. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно включает компоненты, необходимые для введения лиофилизированного фармацевтического состава, содержащего дендример формулы (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) или (VII) или его фармацевтически приемлемую соль, например, мешки для IV, иглы, шприцы, трубки и т.п.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый разбавитель или растворитель включает цитратный буферный раствор. В некоторых вариантах осуществления pH цитратного буфера равен 5. В некоторых вариантах осуществления цитратный буфер включает моногидрат лимонной кислоты, дигидрат цитрата натрия и безводную декстрозу. В некоторых вариантах осуществления разбавитель или растворитель представляет собой 50 мМ цитратный буфер с pH 5 в 5% (вес/вес) декстрозе.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый разбавитель или растворитель включает ацетатный буферный раствор. В некоторых вариантах осуществления pH раствора ацетатного буфера равен 5. В некоторых вариантах осуществления ацетатный буферный раствор содержит уксусную кислоту, безводный ацетат натрия и декстрозу. В некоторых вариантах осуществления ацетатный буфер содержит представляет собой 100 мМ ацетатного буфера с (pH 5) в 2,5% (вес/вес) декстрозе.

Примеры

Аспекты настоящего изобретения могут быть дополнительно определены посредством ссылки на следующие неограничивающие примеры, в которых подробно описано получение определенных соединений и промежуточных соединений по настоящему изобретению и способы применения соединений по настоящему изобретению. Специалистам в данной области техники будет очевидно, что на практике могут быть осуществлены множество модификаций как материалов, так и способов без отступления от объема настоящего изобретения.

Если не определено иное:

- (i) все синтезы проводили при температуре окружающей среды, т.е. при температуре от 17 до 25°C, и в атмосфере инертного газа, такого как азот, если не указано иное;
- (ii) выпаривание проводили путем ротационного выпаривания при пониженном давлении, используя оборудование Buchi или Heidolph;
- (iii) лиофилизацию проводили, используя систему сублимационной сушки Labconco FreeZone 6 Plus или другие системы, описанные в данном документе, или другую подходящую систему по усмотрению специалиста в данной области;
- (iv) очистку с помощью эксклюзионной хроматографии проводили, используя колонки, заполненные гранулами Sephadex LH-20;
- (v) препаративную хроматографию проводили на системе Gilson Prep GX-271 со сбором, запускаемым УФ-датчиком, используя колонки Waters XBridge BEH C18 (5 мкм, 30 x 150 мм);
- (vi) очистку с помощью ультрафильтрации проводили, используя приводную систему шестеренчатого насоса Cole-Parmer, присоединенную к мембраной кассете (Merck Millipore Pellicon 3, 0,11 м², 10 кДа).
- (vii) аналитическую хроматографию проводили на сепарационном модуле Waters Alliance 2695 с PDA-обнаружением;
- (viii) величины выхода продукта, если они приводятся, не обязательно являются максимально достигаемыми;
- (ix) обычно структуры конечных продуктов дендримеров подтверждали с помощью ЯМР-спектроскопии; значения химического сдвига в ¹H и ¹⁹F ЯМР измеряли по дельта-шкале, [спектры протонного магнитного резонанса определяли на устройстве

Bruker Avance 300 (300 МГц)]; измерения проводили при температуре окружающей среды, если не указано иное; при ¹H ЯМР применяли пик остаточного растворителя как внутренний стандарт и использовали следующие сокращения: s, синглет; d, дублет; t, триплет; q, квартет; m, мультиплет; dd, дублет дублетов; ddd, дублет дублета дублетов; dt, дублет триплетов; br s, широкий синглет;

(x) обычно конечные продукты, представляющие собой дендримеры, также характеризовали с помощью ВЭЖХ, используя сепарационный модуль Waters Alliance 2695 с PDA-обнаружением, присоединенный либо к колонке Waters XBridge C8 (3,5 мкм, 3 x 100 мм), либо к колонке Phenomenex Aeris C8 (3,6 мкм, 2,1 x 100 мм);

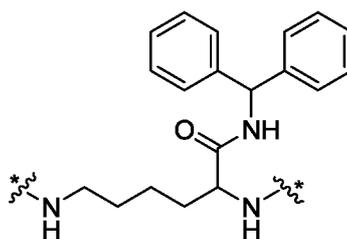
(xi) чистоту промежуточного соединения оценивали с помощью масс-спектропии после жидкостной хроматографии (ЖХ-МС), используя оборудование Waters UPLC, оснащенное масс-спектрометром Waters SQ (температура колонки 40°C, УФ = 220-300 нм или 190-400 нм, масс-спектрометрия = ESI с переключением режима положительной/отрицательной ионизации), при расходе 1 мл/мин с применением системы растворителей от 97% А + 3% В до 3% А + 97% В в течение 1,50 мин (общее время анализа с уравниванием обратно до исходных условий и т.д. – 1,70 мин), где А = 0,1% муравьиная кислота или 0,05% трифторуксусная кислота в воде (для кислотной обработки) или 0,1% гидроксид аммония в воде (для основной обработки) и В = ацетонитрил. Для кислотного анализа применяемая колонка представляла собой Waters Acquity HSS T3 (1,8 мкм, 2,1 x 50 мм), для основного анализа применяемая колонка представляла собой Waters Acquity BEH C18 (1,7 мкм, 2,1 x 50 мм). В качестве альтернативы UPLC проводили, используя оборудование Waters UPLC, оснащенное масс-спектрометром Waters SQ (температура колонки 30°C, УФ = 210-400 нм, масс-спектрометр = ESI с переключением режима положительной/отрицательной ионизации), при расходе 1 мл/мин с применением градиента растворителя от 2 до 98% В в течение 1,5 мин (общее время анализа с уравниванием обратно до исходных условий – 2 мин), где А = 0,1% муравьиная кислота в воде и В = 0,1% муравьиная кислота в ацетонитриле (для кислотной обработки) или А = 0,1% гидроксид аммония в воде и В = ацетонитрил (для основной обработки). Для кислотного анализа применяемая колонка представляла собой Waters Acquity HSS T3 (1,8 мкм, 2,1 x 30 мм), для основного анализа применяемая колонка представляла собой Waters Acquity BEH C18 (1,7 мкм, 2,1 x 30 мм); указанный молекулярный ион соответствует [M+H]⁺, если не указано иное; для молекул с несколькими изотопными распределениями (Br, Cl и т. д.) указанное значение

представляет собой значение, полученное с наибольшей интенсивностью, если не указано иное;

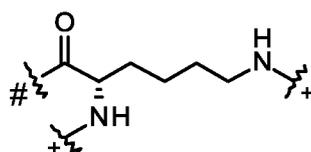
(xii) были использованы следующие сокращения:

ACN	ацетонитрил
BHA	бензгидриламин
BOC	<i>трет</i> -бутилоксикарбонил
CoA	сертификат соответствия
DGA	дигликолевая кислота
DIPEA	диизопропилэтиламин
DMF	диметилформамид
DMSO	диметилсульфоксид
FBA	4-фторбензойная кислота
Glu	глутаровая кислота
HP- β -CD	гидроксипропил- β -циклодекстрин
MeOH	метанол
MIDA	метиляминодиуксусная кислота
MSA	метансульфокислота
MTBE	метил-трет-бутиловый эфир
MW	молекулярная масса
NMM	N-метилморфолин
PBS	фосфатно-солевой буферный раствор
PEG	полиэтиленгликоль
PTFE	политетрафторэтилен
PuBOP	бензотриазол-1-ил-окситрипирролидинофосфония гексафторфосфат
QS/qs	сколько нужно (количество, которое необходимо)
SBE- β -CD	сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина (Captisol®)
TDA	тиодигликолевая кислота
TFA	трифторуксусная кислота
WFI	вода для инъекций, WFI

Применяемый в примерах термин «BHALys» относится к 2,6-диамино-N-бензгидрилгексанамиду, связанному с лизином. BHA характеризуется структурой:



где * обозначает ковалентную связь со структурным блоками в виде лизина. Термин «Lys» относится к структурным звеньям дендримера и характеризуется структурой:



в которой # обозначает ковалентную связь с аминным фрагментом BHALys или аминным фрагментом структурного Lys звена, а + обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом структурного Lys звена или ковалентную связь с PEG или линкером, присоединенным к действующему веществу.

Для удобства в название дендримера включено только поверхностное поколение структурных звеньев в дендримерах из примеров. Кроме того, символ ‡ в названии относится к теоретическому числу ε-аминогрупп, доступных для конъюгации с PEG, а символ † в названии относится к теоретическому числу α-аминогрупп на дендримере, доступных для конъюгации с линкером, присоединенным к действующему веществу, соответственно. В качестве примера название «BHALys[Lys]32†[α-TDA-соединение A]32[ε-PEG2100, 2200]32‡» относится к дендримеру пятого поколения с ядром BHALys, структурными Lys звеньями на поверхностном (пятом) слое, примерно 32 молекулами соединения A, конъюгированными с α-аминогруппами поверхностных структурных Lys звеньев с помощью линкеров, представляющих собой тиодиуксусную кислоту, примерно 32 группами PEG со средней молекулярной массой от 2100 до 2200, конъюгированными с ε-аминогруппами поверхностных структурных Lys звеньев.

Пример 1: Получение и определение характеристик соединений 1 и 2.

1. Получение и определение характеристик BHALys[Lys]32†[α-NH₂TFA]32[ε-PEG~2000]32‡

примечание: 32‡ относится к теоретическому числу ε-аминогрупп, доступных для замещения PEG~2000. Фактическое среднее число PEG~2000-групп, присоединенных к BHALys[Lys]32, определяли экспериментальным путем с помощью ¹H ЯМР (см. в данном

примере ниже раздел под названием «Определение характеристик BHALys[Lys]₃₂[α -NH₂TFA]₃₂[ϵ -PEG~2000]₃₂»).

(a) *BHALys[Boc]₂*

p-Нитрофенольный сложный эфир α, ϵ -(t-Boc)₂-(L)-лизина (2,787 кг, 5,96 моль) в виде твердого вещества добавляли к раствору аминодифенилметана (бензгидриламина) (0,99 кг, 5,4 моль) в безводном ацетонитриле (4,0 л), DMF (1,0 л) и триэтилаmine (1,09 кг) на протяжении 15 мин. Реакционную смесь взбалтывали при 20°C в течение ночи. Затем реакционную смесь нагревали до 35°C и медленно на протяжении 30 мин добавляли водный раствор гидроксида натрия (0,5 н., 10 л). Смесь перемешивали в течение дополнительных 30 мин, затем фильтровали. Твердый остаток на фильтре промывали водой и высушивали до постоянного веса (2,76 кг, 5,4 моль) с выходом 100%. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ 7,3 (m, 10H, Ph Рассч. 10H); 6,2 (s, 1H, CH-Ph₂ Рассч. 1H); 4,08 (m, α -CH, 1H), 3,18 (br, ϵ -CH₂) и 2,99 (m, ϵ -CH₂ 2H); 1,7-1,2 (br, β, γ, δ -CH₂) и 1,43 (s, tBu) всего для β, γ, δ -CH₂ и tBu 25H расчет. 24H. MS (ESI +ve) найденное значение 534,2 [M+Na]⁺ рассч. для C₂₉H₄₁N₃O₅Na [M+Na]⁺ 534,7.

(b) *BHALys[HCl]₂*

Раствор концентрированной HCl (1,5 л) в метаноле (1,5 л) медленно добавляли тремя порциями к перемешиваемой суспензии BHALys[Boc]₂ (780,5 г, 1,52 моль) в метаноле (1,5 л) с такой скоростью, чтобы свести к минимуму чрезмерное вспенивание. Реакционную смесь перемешивали в течение дополнительных 30 мин, затем концентрировали под вакуумом при 35°C. Остаток поглощали водой (3,4 л) и дважды концентрировали под вакуумом при 35°C, затем выдерживали под вакуумом в течение ночи. Затем добавляли ацетонитрил (3,4 л) и остаток снова концентрировали в вакууме при 35°C, получая BHALys[HCl]₂ в виде твердого вещества белого цвета (586 г, 1,52 моль) с выходом 100%. ¹H ЯМР (D₂O) δ 7,23 (br m, 10H, Ph Рассч. 10H); 5,99 (s, 1H, CH-Ph₂ Рассч. 1H); 3,92 (t, J = 6,5 Гц, α -CH, 1H, Рассч. 1H); 2,71 (t, J = 7,8 Гц, ϵ -CH₂, 2H, Рассч. 2H); 1,78 (m, β, γ, δ -CH₂, 2H), 1,47 (m, β, γ, δ -CH₂, 2H), и 1,17 (m, β, γ, δ -CH₂, 2H, всего 6H расчет. 6H). MS (ESI +ve) найденное значение 312 [M+H]⁺ рассч. для C₁₉H₂₆N₃O [M+H]⁺ 312.

(c) *BHALys[Lys]₂[Boc]₄*

В суспензию *BHALys*[HCl]₂ (586 г, 1,52 ммоль) в безводном DMF (3,8 л) медленно вносили триэтиламин (1,08 кг), поддерживая температуру реакции ниже 30°C. Твердый *p*-нитрофенольный сложный эфир α,ϵ -(*t*-Boc)₂-(L)-лизина (1,49 кг) добавляли медленно, тремя порциями и перемешивали в течение 2 часов между добавлениями. Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи. Водный раствор гидроксида натрия (0,5 М, 17 л) медленно добавляли к хорошо перемешиваемой смеси и перемешивание продолжали до тех пор, пока твердый осадок не начинал свободно перемещаться. Осадок отфильтровывали и твердый остаток на фильтре хорошо промывали водой (2 x 4 л), затем ацетоном/водой (1:4, 2 x 4 л). Твердое вещество снова суспендировали в воде, затем отфильтровывали и сушили в вакууме в течение ночи, получая *BHALys* [Lys]₂[Boc]₄ (1,51kg) с выходом 100%. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ 7,3 (m, 10H, Ph Рассч. 10H); 6,2 (s, 1H, CH-Ph₂ Рассч. 1H); 4,21 (m, α -CH), 4,02 (m, α -CH) и 3,93 (m, α -CH, всего 3H, расчет. 3H); 3,15 (m, ϵ -CH₂) и 3,00 (m, ϵ -CH₂ всего 6H, расчет. 6H); 1,7-1,3 (br, β,γ,δ -CH₂) и 1,43 (s, *t*Bu) всего для β,γ,δ -CH₂ и *t*Bu 57H, расчет. 54H. MS (ESI +ve) найдено 868,6 [M-Boc]⁺; 990,7 [M+Na]⁺ рассч. для C₅₁H₈₁N₇O₁₁Na [M+Na]⁺ 991,1.

(d) *BHALys[Lys]₂[HCl]₄*

BHALys[Lys]₂[Boc]₄ (1,41 кг, 1,46 моль) суспендировали в метаноле (1,7 л) при перемешивании при 35°C. Соляную кислоту (1,7 л) смешивали с метанолом (1,7 л) и полученный раствор добавляли четырьмя порциями к суспензии дендримеров и оставляли перемешиваться в течение 30 мин. Растворитель удаляли при пониженном давлении и последовательно дважды обрабатывали водой (по 3,5 л), а затем последовательно дважды ацетонитрилом (по 4 л), получая *BHALys*[Lys]₂[HCl]₄ (1,05 кг, 1,46 ммоль) с выходом 102%. ¹H ЯМР (D₂O) δ 7,4 (br m, 10H, Ph Рассч. 10H); 6,14 (s, 1H, CH-Ph₂ Рассч. 1H); 4,47 (t, J = 7,5 Гц, α -CH, 1H), 4,04 (t, J = 6,5 Гц, α -CH, 1H), 3,91 (t, J = 6,8 Гц, α -CH, 1H, всего 3H, расчет. 3H); 3,21 (t, J = 7,4 Гц, ϵ -CH₂, 2H), 3,01 (t, J = 7,8 Гц, ϵ -CH₂, 2H) и 2,74 (t, J = 7,8 Гц, ϵ -CH₂, 2H, всего 6H, расчет. 6H); 1,88 (m, β,γ,δ -CH₂), 1,71 (m, β,γ,δ -CH₂), 1,57 (m, β,γ,δ -CH₂) и 1,35 (m, β,γ,δ -CH₂ всего 19H, расчет. 18H).

(e) *BHALys[Lys]₄[Boc]₈*

BHALys[Lys]₂[HCl]₄ (1,05 кг, 1,47 моль) растворяли в DMF (5,6 л) и триэтиламине (2,19 л). Добавляли тремя порциями *p*-нитрофенольный сложный эфир α,ϵ -(*t*-Boc)₂-(L)-

лизина (2,35 кг, 5,03 моль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при 25°C. Добавляли раствор NaOH (0,5 М, 22 л) и полученную смесь фильтровали, промывали водой (42 л) и затем высушивали на воздухе. Твердое вещество сушили в вакууме при 45°C, получая BHALys [Lys]₄[Boc]₈ (2,09 кг, 1,11 моль) с выходом 76%. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ 7,3 (m, 10H, Ph Рассч. 10H); 6,2 (s, 1H, CH-Ph₂ Рассч. 1H); 4,43 (m, α-CH), 4,34 (m, α-CH), 4,25 (m, α-CH) и 3,98 (br, α-CH, всего 7H, расчет. 7H); 3,15 (br, ε-CH₂) и 3,02 (br, ε-CH₂ всего 14H, расчет. 14H); 1,9-1,2 (br, β,γ,δ-CH₂) и 1,44 (br s, tBu) всего для β,γ,δ-CH₂ и tBu 122H, расчет. 144H.

(f) BHALys[Lys]₄[TFA]₈

К перемешиваемой суспензии BHALys[Lys]₄[Boc]₈ (4 г, 2,13 ммоль) в DCM (18 мл) добавляли TFA (13 мл) при 0°C. Твердые вещества растворялись и раствор перемешивали в течение ночи в атмосфере аргона. Растворители удаляли под вакуумом, а остаточную TFA удаляли путем перетирания с диэтиловым эфиром (100 мл). Продукт повторно растворяли в воде, затем сушили вымораживанием, получая BHALys[Lys]₄[TFA]₈ в виде грязно-белого твердого вещества (4,27 г, 2,14 ммоль) с выходом 101%. ¹H ЯМР (D₂O) δ 7,21 (br m, 10H, Ph Рассч. 10H); 5,91 (s, 1H, CH-Ph₂ Рассч. 1H); 4,17 (t, J = 7,4 Гц, α-CH, 1H), 4,09 (t, J = 7,1 Гц, α-CH, 1H), 4,02 (t, J = 7,2 Гц, α-CH, 1H), 3,84 (t, J = 6,5 Гц, α-CH, 2H), 3,73 (t, J = 6,7 Гц, α-CH, 1H), 3,67 (t, J = 6,7 Гц, α-CH, 1H, всего 7H, расчет. 7H); 3,0 (m, ε-CH₂), 2,93 (m, ε-CH₂) и 2,79 (b, ε-CH₂, всего 15H, расчет. 14H); 1,7 (br, β,γ,δ-CH₂), 1,5 (br, β,γ,δ-CH₂), 1,57 (m, β,γ,δ-CH₂) и 1,25 (br, β,γ,δ-CH₂ всего 45H, расчет. 42H). МС (ESI +ve) найденное значение 541,4 [M+2H]²⁺; рассч. для C₅₅H₉₉N₁₅O₇ [M+2H]²⁺ 541,2.

(g) BHALys[Lys]₈[Boc]₁₆

Раствор p-нитрофенольного сложного эфира α,ε-(t-Boc)₂-(L)-лизина (1,89 г, 4,05 ммоль) в DMF (25 мл) добавляли к раствору BHALys [Lys]₄[NH₂TFA]₈ (644 мг, 0,32 ммоль) и триэтиламина (0,72 мл, 5,2 ммоль) в DMF (25 мл) и реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи в атмосфере аргона. Реакционную смесь выливали на лед/воду (500 мл), затем фильтровали и собранное твердое вещество высушивали в течение ночи под вакуумом. Высушенное твердое вещество тщательно промывали ацетонитрилом, получая BHALys[Lys]₈[Boc]₁₆ в виде грязно-белого твердого вещества (0,82 г, 0,22 ммоль) с выходом 68%. ¹H ЯМР (CD₃OD) δ 7,3 (m, 10H, Ph Рассч. 10H); 6,2 (br s, 1H, CH-Ph₂ Рассч. 1H); 4,48 (br, α-CH), 4,30 (br, α-CH) и 4,05 (br, α-CH,

всего 16H, расчет. 15H); 3,18 (br, ϵ -CH₂) и 3,02 (m, ϵ -CH₂ всего 31H, расчет. 30H); 1,9-1,4 (br, β,γ,δ -CH₂) и 1,47 (br s, tBu) всего для β,γ,δ -CH₂ и tBu 240H, расчет. 234H. MS (ESI+ve) найдено 3509 [M+H-(Boc)₂]⁺ расчет. для C₁₇₃H₃₀₆N₃₁O₄₃ [M+H-(Boc)₂]⁺ 3508,5; 3408 [M+H-(Boc)₃]⁺ расщ. для C₁₆₈H₂₉₈N₃₁O₄₁ [M+H-(Boc)₃]⁺ 3408,4.

(h) BHALys[Lys]₈[TFA]₁₆

Раствор TFA/DCM (1:1, 19 мл) медленно добавляли к перемешиваемой суспензии BHALys[Lys]₈[Boc]₁₆ (800 мг, 0,22 ммоль) в DCM (25 мл). Твердые вещества растворялись, и раствор перемешивали в течение ночи в атмосфере аргона. Растворители удаляли в вакууме, а остаточный TFA удаляли путем многократной сублимационной сушки остатка, получая BHALys[Lys]₈[TFA]₁₆ в виде лиофилата грязно-белого цвета (848 мг, 0,22 ммоль) с выходом 100%. ¹H ЯМР (D₂O) δ 7,3 (br m, 10H, Ph Рассч. 10H); 6,08 (s, 1H, CH-Ph₂ Рассч. 1H); 4,3 (m, α -CH), 4,18 (m, α -CH), 4,0 (m, α -CH) и 3,89 (m, α -CH, всего 16H, расчет. 15H); 3,18 (br, ϵ -CH₂) и 2,94 (m, ϵ -CH₂ всего 32H, Расчет 30H); 1,9 (m, β, γ, δ -CH₂), 1,68 (m, β, γ, δ -CH₂) и 1,4 (m, β, γ, δ -CH₂ всего 99H, расчет. 90H). MS (ESI +ve) найдено 2106 [M+H]⁺ расчет. для C₁₀₃H₁₉₄N₃₁O₁₅ [M+H]⁺ 2106,9.

(i) BHALys[Lys]₁₆[Boc]₃₂

Раствор р-нитрофенольного сложного эфира α,ϵ -(t-Boc)₂-(L)-лизина (1,89 г, 4,05 ммоль) в DMF (25 мл) добавляли к раствору BHALys[Lys]₈[TFA]₁₆ (644 мг, 0,32 ммоль) и триэтиламина (0,72 мл, 5,2 ммоль) в DMF (25 мл) и реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи в атмосфере аргона. Реакционную смесь выливали в ледяную воду (500 мл), затем отфильтровывали и собранное твердое вещество высушивали в течение ночи под вакуумом. Высушенное твердое вещество тщательно промывали ацетонитрилом, получая BHALys[Lys]₁₆[Boc]₃₂ в виде твердого вещества грязно-белого цвета (0,82 г, 0,22 ммоль) с выходом 68%.

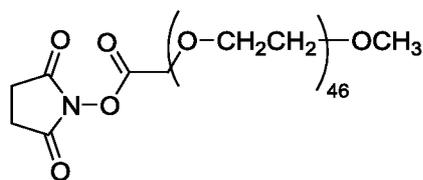
¹H ЯМР (CD₃OD) δ 7,28 (m, 9H, Ph Рассч. 10H); 6,2 (br s, 1H, CH-Ph₂ Рассч. 1H); 4,53 (br, α -CH), 4,32 (br, α -CH) и 4,05 (br, α -CH, всего 35H, расчет. 31H); 3,18 (br, ϵ -CH₂) и 3,04 (m, ϵ -CH₂ всего 67H, расчет. 62H); 1,9-1,5 (br, β,γ,δ -CH₂) и 1,47 (br s, tBu) всего для β,γ,δ -CH₂ и tBu 474H расчет. 474H. MS (ESI+ve) найденное значение 6963 [M+H-(Boc)₄]⁺ расщ. для C₃₃₉H₆₁₀N₆₃O₈₇ [M+H-(Boc)₄]⁺ 6960,9; 6862 [M+H-(Boc)₅]⁺ расщ. для C₃₃₄H₆₀₄N₆₃O₈₅ [M+H-(Boc)₅]⁺ 6860,8.

(j) *BHALys[Lys]₁₆[TFA]₃₂*

Раствор TFA/DCM (1:1, 19 мл) медленно вносили в перемешиваемую суспензию BHALys[Lys]₁₆[Boc]₃₂ (800 мг, 0,11 ммоль) в DCM (25 мл). Твердые вещества растворяли и раствор перемешивали в течение ночи в атмосфере аргона. Растворители удаляли в вакууме, а остаточный TFA удаляли путем многократной сублимационной сушки остатка, получая BHALys[Lys]₁₆[TFA]₃₂ в виде лиофилята грязно-белого цвета (847 мг, 0,11 ммоль) с выходом 100%. ¹H ЯМР (D₂O) δ 7,3 (br m, 1H, Ph Рассч. 10H); 6,06 (s, 1H, CH-Ph₂ Рассч. 1H); 4,3 (m, α-CH), 4,19 (m, α-CH), 4,0 (m, α-CH) и 3,88 (m, α-CH, всего 35H, расчет. 31H); 3,15 (br, ε-CH₂) и 2,98 (m, ε-CH₂ всего 69H, расчет. 62H); 1,88 (m, β,γ,δ-CH₂), 1,7 (m, β,γ,δ-CH₂) и 1,42 (m, β,γ,δ-CH₂ всего 215H, расчет. 186H). MS (ESI+ve) найденное значение 4158 [M+H]⁺ рассч. для C₁₉₉H₃₈₆N₆₃O₃₁ [M+H]⁺ 4157,6

(k) *HO-Lys(α-BOC)(ε-PEG₂₁₀₀)*

DIPEA (0,37 мл, 2,10 ммоль) добавляли к охлажденной льдом смеси NHS-PEG₂₁₀₀



(например, (2,29 г, 1,05 ммоль) и N-α-t-BOC-L-лизина (0,26 г, 1,05 ммоль) в DMF (20 мл). Перемешиваемую смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры в течение ночи, затем все оставшиеся твердые вещества отфильтровывали (фильтр Acrodisc с диаметром пор 0,45 мкм от PALL) перед удалением растворителя под вакуумом. Остаток поглощали ACN/H₂O (1:3, 54 мл) и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Waters XBridge C18, 5 мкм, 19 x 150 мм, от 25 до 32% ACN (5-15 мин), от 32 до 60% ACN (15–20 мин), без буфера, 8 мл/мин, RT = 17 мин), получая 1,41 г (56%) HO-Lys(BOC)(PEG₂₁₀₀).

(l) *BHALys[Lys]₃₂[α-BOC]₃₂[ε-PEG₂₁₀₀]₃₂*

К перемешиваемой смеси BHALys[Lys]₁₆[TFA]₃₂ (0,19 г, 24 мкмоль) в DMF (20 мл) добавляли DIPEA (0,86 мл, 4,86 ммоль). Затем данную смесь добавляли по каплям к перемешиваемой смеси PyBOP (0,62 г, 1,20 ммоль) и Lys(BOC)(PEG₂₁₀₀) (2,94 г, 1,20 ммоль) в DMF (20 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи, затем разбавляли водой (200 мл). Водную смесь подвергали фильтрации с применением Centrimate (мембрана 5 к, 20 л воды).

Ультраконцентрат подвергали сублимационной сушке, получая 1,27 г (73%) требуемого дендримера. ВЭЖХ (C8 Xbridge, 3 x 100 мм, градиент: 5% ACN (0-1 мин), 5-80% ACN/H₂O (1-7 мин), 80% ACN (7-12 мин), 80-5% ACN (12-13 мин), 5% ACN (13-15 мин), 214 нм, 0,1% TFA) Rf (мин) = 8,52. ¹H-ЯМР (300 МГц, D₂O) δ (ppm): 1,10-2,10 (m, Lys CH₂ (β, γ, δ) и ВОС, 666H), 3,02-3,36 (m, Lys CH₂ (ε), 110H), 3,40 (s, PEG-OMe, 98H), 3,40-4,20 (m, PEG-OCH₂, 5750H + Lys СН поверхностный, 32H), 4,20-4,50 (m, Lys, СН внутренний 32H), 7,20-7,54 (m, ВНА, 8H). ¹H ЯМР показал наличие примерно 29 PEG.

(m) BHALys[Lys]₃₂[α-TFA]₃₂[ε-PEG₂₁₀₀]₃₂†

1,27 г (17,4 мкмоль) BHALys[Lys]₃₂[α-ВОС]₃₂[ε-PEG₂₁₀₀]₃₂ перемешивали в TFA/DCM (1:1, 20 мл) при комнатной температуре в течение ночи. Летучие вещества удаляли под вакуумом, затем остаток поглощали водой (30 мл). Затем смесь концентрировали. Данный процесс повторяли еще дважды, перед тем как подвергнуть сублимационной сушке с получением 1,35 г (106%) необходимого продукта в виде вязкого бесцветного маслянистого вещества. ВЭЖХ (C8 Xbridge, 3 x 100 мм, градиент: 5% ACN (0-1 мин), 5-80% ACN/H₂O (1-7 мин), 80% ACN (7-12 мин), 80-5% ACN (12-13 мин), 5% ACN (13-15 мин), 214 нм, 0,1% TFA) Rf (мин) = 8,51. ¹H-ЯМР (300 МГц, D₂O) δ (ppm): 1,22-2,08 (Lys CH₂ ((β, γ, δ), 378H), 3,00-3,26 (Lys CH₂ (ε), 129H), 3,40 (PEG-OMe, 96H), 3,45-4,18 (PEG-OCH₂, 5610H + Lys СН поверхностный, 32H), 4,20-4,46 (Lys, СН внутренний, 33H), 7,24-7,48 (8H, ВНА). ¹H ЯМР показал наличие примерно 29 PEG.

(n) Определение характеристик BHALys[Lys]₃₂[α-NH₂TFA]₃₂[ε-PEG_{~2000}]₃₂‡

В таблице 1 представлены различные партии BHALys[Lys]₃₂[α-NH₂TFA]₃₂[ε-PEG_{~2000}]₃₂‡, использованные в синтезе соединений 1 и 2, которые характеризуются слегка различающимися длинами PEG. Фактическое число цепей PEG на дендримере также рассчитывали с помощью протонного ЯМР.

Таблица 1. Различные партии ВНАLys[Lys]₃₂[α -NH₂TFA]₃₂[ϵ -PEG_{~2000}]₃₂‡

Партия	Масштаб	Длина PEG согласно CoA (Да)	Число PEGs (x) на ВНАLys[Lys] ₃₂ [α - NH ₂ .TFA] ₃₂ [ϵ -PEG _{~2000}] _x (согласно протонному ЯМР*)	Расчетная MW** (кДа)
1	101 мг	2200	29	75,7
2	98 мг	2200	29	75,7
3	74,8 г	2100	29	72,8
4	137 мг	2200	29	75,7
5	1,19 г	2100	31	77,0
6	18,98 г	2100	29	72,8

* число PEG рассчитывали на основании протонного ЯМР. В случае партии 1: число PEG = число (интеграция) протонов в области PEG ЯМР (3,4-4,2 ppm) / среднее арифметическое (среднее) число протонов на цепь PEG (PEG согласно CoA/44 Да x 4H)
 $= 5706H / (2200/44 \times 4)$
 $= 28,53$ (примерно 29 звеньев PEG)

**Молекулярную массу оценивали путем сложения MW различных компонентов. В случае партии 1:

$$\begin{aligned} \text{суммарная MW} &= \text{Mw дендримера} + \text{Mw TFA} + \text{Mw PEG} \\ &= \text{ВНАLys[Lys]}_{32} + 32(\text{TFA}) + 29(\text{PEG}) \\ &= 8258 + 3648 + 63800 \\ &= \underline{\sim 75,7 \text{ кДа}} \end{aligned}$$

Данные протонного ЯМР для различных партий ВНАLys[Lys]₃₂[α -NH₂TFA]₃₂[ϵ -PEG_{~2000}]₃₂‡ представлены в Таблице 2:

Таблица 2. Данные протонного ЯМР для различных партий ВНАLys[Lys]₃₂[α -NH₂TFA]₃₂[ϵ -PEG~2000]₃₂†

Партия	Масштаб	Протонный ЯМР ВНАLys[Lys] ₃₂ [α -NH ₂ .TFA] ₃₂ [ϵ -PEG~2000] _x
1	101 мг	1,22-2,08 (Lys CH ₂ ($\beta\chi\delta$), 378H), 3,00-3,26 (Lys CH ₂ (α), 129H), 3,40 (PEG-OMe, 96H), 3,45-4,18 (PEG-OCH ₂ , 5610H + Lys CH поверхностный, 32H), 4,20-4,46 (Lys, CH внутренний, 33H), 7,24-7,48 (8H, ВНА).
2	98 мг	Как и в случае партии 1
3	74,8 г	1,02-2,18 (Lys CH ₂ ($\beta\chi\delta$), 378H), 2,94-3,36 (Lys CH ₂ (α), 129H), 3,41 (PEG-OMe, 93H), 3,45-4,18 (PEG-OCH ₂ , 5432H + Lys CH поверхностный, 32H), 4,18-4,50 (Lys, CH внутренний, 32H), 7,12-7,64 (9H, ВНА).
4	137 мг	Как и в случае партии 1
5	1,19 г	1,02-2,16 (Lys CH ₂ ($\beta\chi\delta$), 378H), 2,93-3,36 (Lys CH ₂ (α), 129H), 3,41 (PEG-OMe, 101H), 3,45-4,18 (PEG-OCH ₂ , 5908H + Lys CH поверхностный, 32H), 4,18-4,50 (Lys, CH внутренний, 33H), 7,21-7,54 (9H, ВНА).
6	18,98 г	Как и в случае партии 3

2. Получение Соединения 1: ВНАLys[Lys]₃₂[α -MIDA-соединение А]₃₂†[ϵ -PEG₂₁₀₀]₃₂†

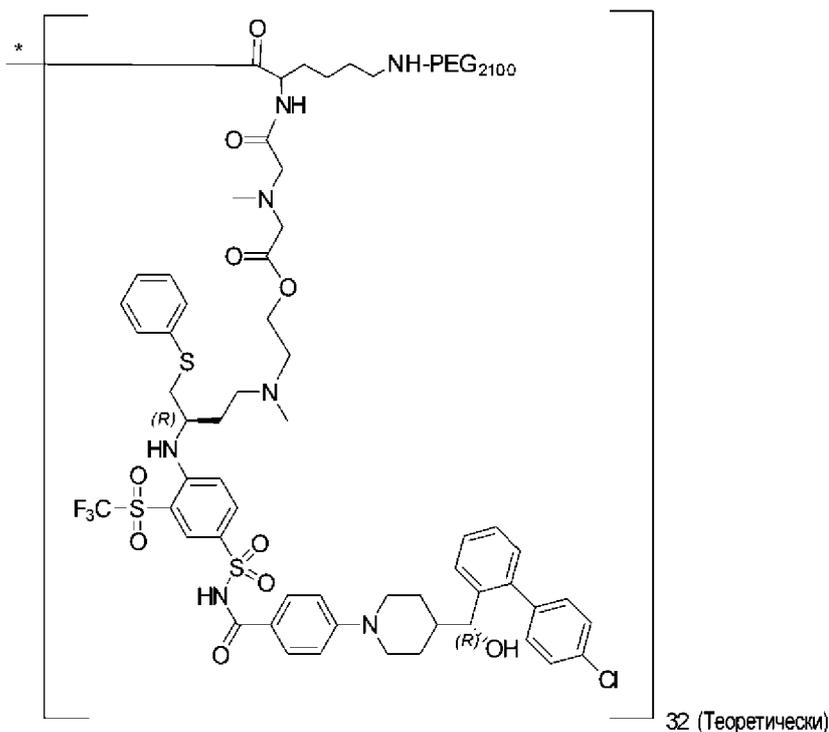
примечание: 32† относится к теоретическому числу α -аминогрупп на дендримере, доступных для замещения MIDA-соединением А. Фактическое среднее число групп MIDA-соединения А, присоединенных к ВНАLys[Lys]₃₂, определяли экспериментальным путем посредством ¹⁹F ЯМР (см. пример 2). 32‡ относится к теоретическому числу ϵ -аминогрупп на дендримере, доступных для замещения PEG₂₁₀₀. Фактическое среднее число групп PEG₂₁₀₀, присоединенных к ВНАLys[Lys]₃₂, определяли экспериментальным путем с помощью ¹H ЯМР.

Альтернативный способ получения

Соединение А (28,00 г, $2,96 \times 10^{-2}$ моль) и 4-метилморфолин-2,6-дион (7,24 г, $5,33 \times 10^{-2}$ моль, 1,80 экв.) загружали в 3-горлый реакционный сосуд с внутренним датчиком температуры и капельной воронкой для выравнивания давления, в атмосфере N_2 . Вносили DCM (250 мл, 9 об.) и полученную суспензию охлаждали до $0^\circ C$. На протяжении 10-минутного периода добавляли по каплям ТЕА (6,25 мл, $4,44 \times 10^{-2}$ моль, 1,5 экв.) в DCM (50 мл, 1,8 об.), поддерживая температуру $0^\circ C$. Текущий технологический контроль реакции осуществляли каждый час. Реакцию считали завершенной, когда площадь пика соединения А составляла $<10\%$ (как правило, через 4,5 ч после окончания добавления). Реакционную смесь разбавляли, используя DCM (1,40 л, 50 об.), и дважды промывали 1,6 М водным Na_2CO_3 (1,60 л, 50 об.). Органический слой высушивали над $MgSO_4$ (90 г, 5% вес/объем), фильтровали через шоттовскую воронку и промывали, используя DCM (100 мл, 5 об.), получая твердое вещество грязно-белого цвета после концентрирования в вакууме (0,2 бар, $30^\circ C$) (33,07 г, выход 95%, 90,6% по результатам ВЭЖХ).

(b) Получение $BHA_{Lys}[Lys]_{32}[\alpha\text{-MIDA-соединение А}]_{32}[\epsilon\text{-PEG2100}]_{32}$

Способ получения небольшого объема



* = $BHA_{Lys}[Lys]_{16}$

К перемешиваемой с помощью магнитной мешалки смеси соединения А-МІДА (730 мг, 0,68 ммоль) и РуВОР (353 мг, 0,68 ммоль) в DMF (10 мл) при комнатной температуре добавляли смесь ВНА_{Lys}[Lys]₃₂[α-NH₂TFA]₃₂[ε-PEG₂₁₀₀]₃₁ (934 мг, 12,1 мкмоль, партия 5 из примера 4) и NMM (255 мкл, 2,32 ммоль), также в DMF (10 мл). Через 16 часов при комнатной температуре летучие вещества удаляли и остаток очищали посредством эксклюзионной хроматографии (Sephadex, LH20, ACN). Соответствующие фракции, исходя из результатов ВЭЖХ, объединяли и концентрировали. Затем остаток поглощали водой, фильтровали (0,22 мкм) и лиофилизировали, получая 1,19 г (92%) требуемого материала в виде твердого вещества бледно-розового цвета. ВЭЖХ (С8 Xbridge, 3 x 100 мм, градиент: 42-50% ACN/H₂O) (1-7 мин), 50-80% ACN (7-8 мин), 80% ACN (8-11 мин), 80-42% ACN (11-12 мин), 42% ACN (12-15 мин), 214 нм, 10 мМ формиата аммония) R_f (мин) = 10,80. ¹H-ЯМР (300МГц, CD₃OD) δ (ppm): 0,45-1,92 (m, 565H), 2,08-2,78 (m, 228H), 2,79-3,00 (m, 96H), 3,01-3,28 (m, 180H), 3,35 (s, 180H), 3,46-4,20 (m, 6164H), 4,20-4,68 (m, 139H), 6,40-8,52 (m, 680H).

Альтернативный способ получения (большого объема)

DMF (225 мл, 16,5 об.) добавляли к ВНА_{Lys}[Lys]₃₂[α-NH₂TFA]₃₂[ε-PEG₂₁₀₀]₂₉ (13,49 г, 1,72 x 10⁻⁴ моль, партия 6 из примера 4) и соединению А-МІДА (8,50 г, 6,87 x 10⁻³ моль, 40,2 экв.) в атмосфере N₂. Вносили NMM (3,60 мл, 3,30 x 10⁻² моль, 192 экв.) и реакционную смесь нагревали до 30-35°C, чтобы облегчить растворение (примерно 5 минут). Затем смесь вновь охлаждали до 20°C и двумя равными порциями вносили РуВОР (4,13 г, 7,56 x 10⁻³ моль, 44 экв.). Наблюдение за реакцией с помощью технологического контроля показало ее завершение через 2 ч. Реакционную смесь разбавляли, используя ACN (225 мл, 16,5 объемов), отфильтровывали через шоттовскую воронку и подвергали ультрафильтрации (Merck Millipore Pellicon 3, кассета 0,11 м², 10 кДа) 16 (постоянными) диализными объемами (200 мл, ACN), поддерживая трансмембранное давление (TMP) 25 PSI и 44 л/м²/час (LMH). После концентрирования при пониженном давлении (40°C, 0,2 бар; 60 минут) и высушивания при температуре окружающей среды в течение дополнительных 16 ч получали 23,5 г очищенного материала в виде светло-оранжевого сиропа. Сироп растворяли в THF (235 мл, 10 объемов) при 35-40°C (10 минут) и фильтровали через PTFE-мембрану диаметром 47 мм с размером пор 0,45 микрона (Merck-Millipore Omnipore). Фильтрат концентрировали до половины его первоначального объема (100 мл, 4,3 объема) и

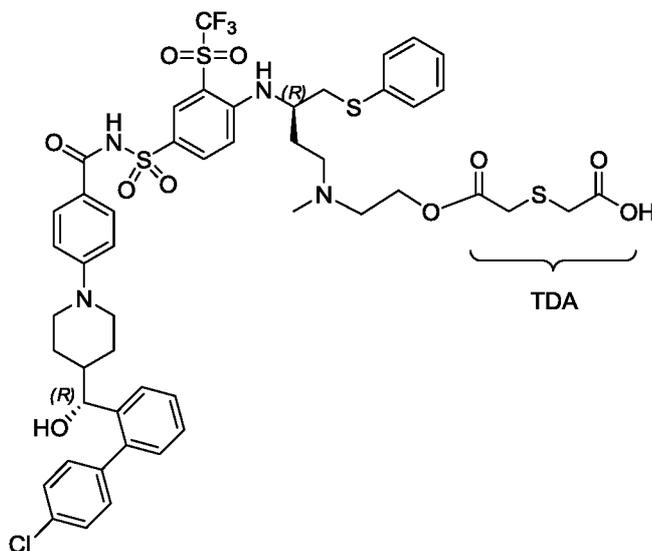
помещали в капельную воронку для выравнивания давления после возвращения к температуре окружающей среды.

МТВЕ (400 мл, 19,5 объема) помещали в 3-горлый RBF, оснащенный внутренним датчиком температуры, и охлаждали до 0°C с помощью внешней ледяной бани в атмосфере N₂. После достижения 0°C приступали к добавлению дендримера, длящегося 15 минут (макс. внутренняя температура 5°C), при этом перемешивание продолжали в течение 45 минут (при 0-5°C) для обеспечения возможности созревания осадка. Полученную смесь переносили на вакуумный фильтр Бюхнера (диаметром 160 мм) в атмосфере N₂ с получением первой порции влажного осадка на фильтре в течение 15 минут. Осадок на фильтре дважды промывали с помощью 5 об. МТВЕ (по 100 мл на промывку) и подсушивали (в атмосфере N₂), что длилось в целом 15 минут. Осадок на фильтре переносили в вакуумную печь, где происходило высушивание (при 25°C, 0,2 бар) до тех пор, пока не была достигнута постоянная масса (48 ч), с получением 18,98 г (выход 102%) сыпучего белого порошка. ВЭЖХ (C8 Phenomenix Aeris, 2,1 x 100 мм, градиент: 5% ACN (0-1 мин), 5-45% ACN/H₂O) (1-2 мин), 45-60% ACN (2-8 мин), 60% ACN (8-10 мин), 60-90% ACN (10-10,1 мин), 90% ACN (10,1-12 мин), 90-5% ACN (12-15 мин), 5% ACN (15-20 мин), 272 нм, 10 mM формиата аммония) Rf (мин) = 14,94. ¹H-ЯМР (300МГц, CD₃OD) δ (ppm): 0,31-2,84 (m, 953H), 2,86-3,27 (m, 211H), 3,35 (s, 109H), 3,37-4,23 (m, 5734H), 4,24-4,64 (m, 95H), 6,26-8,41 (m, 632H). ¹⁹F-ЯМР (300МГц, DMSO-d₆) δ: -107,1 ppm (3,64 мг, FBA, интеграция установлена на 100), -79,1 ppm (31,2 мг дендример, 108,82). Таким образом получали 8,91 мг соединения А (или 28,6% содержание).

3. Получение Соединения 2: BHALys[Lys]₃₂[α-TDA-соединение А]_{32†}[ε-PEG_{2100, 2200}]_{32‡}

примечание: 32† относится к теоретическому числу α-аминогрупп на дендримере, доступных для замещения TDA-соединением А. Фактическое среднее число групп TDA-соединения А, присоединенных к BHALys[Lys]₃₂, определяли экспериментальным путем посредством ¹H ЯМР (см. пример 2). 32‡ относится к теоретическому числу ε-аминогрупп на дендримере, доступных для замещения PEG_{2100, 2200}. Фактическое среднее число групп PEG_{2100, 2200}, присоединенных к BHALys[Lys]₃₂, определяли экспериментальным путем с помощью ¹H ЯМР.

(a) Получение TDA-Соединения А



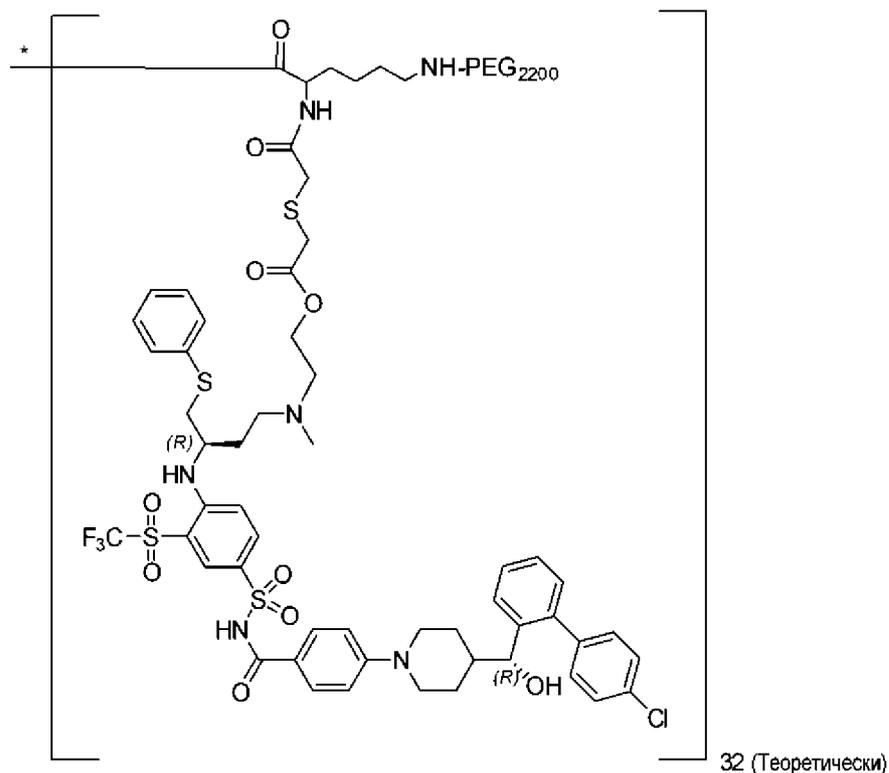
К перемешиваемой с помощью магнитной мешалки суспензии соединения А (70 мг, 74,1 мкмоль) в DCM (5 мл) при комнатной температуре добавляли ангидрид тиодигликолевой кислоты (TDA, 10 мг, 74,1 мкмоль) и DIPEA (33 мкл, 185 мкмоль). Суспензия быстро растворялась, и смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение ночи. На протяжении следующих 24 часов добавляли дополнительное количество ангидрида тиодигликолевой кислоты до завершения реакции более чем на 80% по результатам ВЭЖХ. Затем под вакуумом удаляли летучие вещества, а остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (ВЕН 300 Waters XBridge C18, 5 мкм, 30 x 150 мм, 60-80% ACN/вода (5-40 мин), 0,1% TFA, $R_t = 22$ мин) с получением 63 мг (70%) продукта в виде белого твердого вещества. LCMS (C18, градиент: 50-60% ACN/H₂O (1-10 мин), 60% ACN (10-11 мин), 60-50% ACN (11-13 мин), 50% ACN (13-15 мин), 0,1% муравьиная кислота, 0,4 мл/мин, R_f (мин) = 7,33. ESI (+ve) наблюдаемый $[M + H]^+ = 1077$. Расчетное значение для C₄₉H₅₂ClF₃N₄O₁₀S₄ = 1076,22 Да. ¹H-ЯМР (300МГц, CD₃OD) δ (ppm): 0,87-1,04 (m, 1H), 1,08-1,36 (m, 3H), 1,71-1,90 (m, 1H), 1,96-2,40 (m, 3H), 2,64 (t, J = 12,0 Гц, 1H), 2,77 (t, J = 12,6 Гц, 1H), 2,94 (s, 3H), 3,18-3,30 (m, 2H), 3,35 (s, 2H), 3,40 (s, 2H), 3,46-3,55 (m, 2H), 3,73 (d, J = 13,5 Гц, 1H), 3,90 (d, J = 12,9 Гц, 1H), 4,02-4,15 (m, 1H), 4,40-4,48 (m, 3H), 6,86 (d, J = 9,3 Гц, 2H), 6,92 (d, J = 9,6 Гц, 1H), 7,02 (d, J = 9,0 Гц, 1H), 7,08-7,46 (m, 13H), 7,61 (d, J = 7,8 Гц, 1H), 7,67 (d, J = 9,0 Гц, 2H), 8,08 (dd, J = 9,3, 2,1 Гц, 1H), 8,31 (d, J = 2,1 Гц, 1H).

Альтернативный способ получения

Соединение А (25,50 г, $2,70 \times 10^{-2}$ моль) и TDA (4,81 г, $3,64 \times 10^{-2}$ моль, 1,35 экв.) помещали в 3-горлый реакционный сосуд, оснащенный внутренним датчиком температуры и капельной воронкой для выравнивания давления, в атмосфере N_2 . Вносили DCM (255 мл, 10 об.) и полученную суспензию охлаждали до $-10^\circ C$. На протяжении 40 минутного периода вносили 0,29 М TEA в DCM (100 мл, $3,77 \times 10^{-2}$ моль, 1,4 экв.), поддерживая температуру $-10^\circ C$. Текущий технологический контроль (IPC) реакции осуществляли каждый час. Реакцию считали завершенной, когда по результатам ВЭЖХ площадь пика соединения А составляла $<10\%$ (как правило, через 4,5 ч после окончания добавления). Реакционную смесь разбавляли, используя DCM (1,66 л, 65 об.) и трижды промывали водн. раствором забуференного фосфатом физиологического раствора (PBS) (1,02 л, 40 об.). Объединенные органические экстракты высушивали над $MgSO_4$ (100 г, 5% вес/об.) с получением твердого вещества бледно-желтого цвета после концентрирования под вакуумом (0,2 бар, $25^\circ C$) в течение ночи (как правило, 24,5 г, выход 85%, 86,83% по результатам ВЭЖХ).

(b) Получение $BHAlLys[Lys]_{32}[\alpha\text{-TDA-соединение А}]_{32}\{\epsilon\text{-PEG}_{2100}\}_{32}$

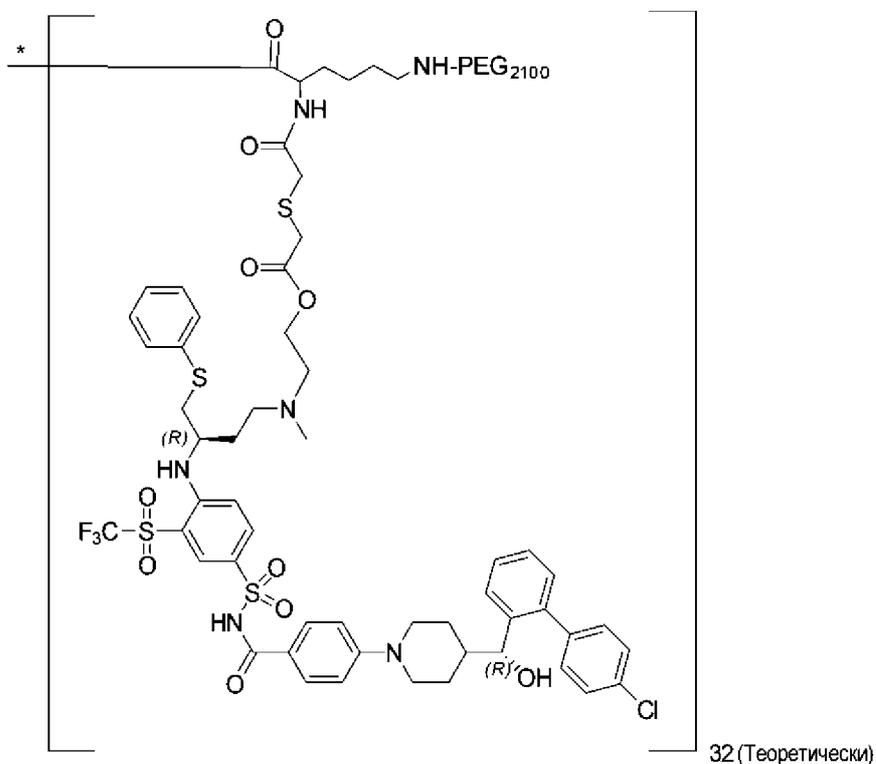
Способ получения небольшого объема



* = $BHAlLys[Lys]_{16}$

К перемешиваемой с помощью магнитной мешалки смеси соединения А-ТДА (62 мг, 58 мкмоль) и РуВОР (30 мг, 58 мкмоль) в DMF (1 мл) при комнатной температуре добавляли смесь ВНАLys[Lys]₃₂[α-NH₂TFA]₃₂[ε-PEG₂₂₀₀]₂₉ (97 мг, 1,28 мкмоль, партия 2 из примера 4) и NMM (27 мкл, 0,24 ммоль), также в DMF (2 мл). Через 16 часов при комнатной температуре летучие вещества удаляли и остаток очищали посредством эксклюзионной хроматографии (Sephadex, LH20, MeOH). Соответствующие фракции, исходя из результатов ВЭЖХ, объединяли и концентрировали. Затем остаток поглощали водой, фильтровали (0,22 мкм) и лиофилизировали с получением 98 мг (72%) необходимого материала в виде твердого вещества бледно-розового цвета. ВЭЖХ (С8 Xbridge, 3 x 100 мм, градиент: 42-50% ACN/H₂O) (1-7 мин), 50-80% ACN (7-8 мин), 80% ACN (8-11 мин), 80-42% ACN (11-12 мин), 42% ACN (12-15 мин), 214 нм, 10 mM формиат аммония) R_f (мин) = 10,24. ¹H-ЯМР (300МГц, CD₃OD) δ (ppm): 0,62-2,33 (m, 589H), 2,37-2,69 (m, 87H), 2,69-2,92 (m, 98H), 2,94-3,27 (m, 202H), 3,35 (s, 113H), 3,37-4,10 (m, 5781H), 4,10-4,70 (m, 154H), 6,50-8,45 (m, 661H).

Альтернативный способ получения (большого объема)



* = ВНАLys[Lys]₁₆

DMF (495 мл, 16,5 об.) добавляли к ВНАLys[Lys]₃₂[α-NH₂TFA]₃₂[ε-PEG₂₁₀₀]₂₉ (30,6 г, 3,82 x 10⁻⁴ моль, партия 3 из примера 4) и соединению А-ТДА (19,01 г, 1,53 x 10⁻⁴

² моль, 40 экв.) в атмосфере N₂. Вносили NMM (8,06 мл, 7,33 x 10⁻² моль, 192 экв.) и реакционную смесь нагревали до 30°C, чтобы облегчить растворение (примерно 10 мин). Затем смесь вновь охлаждали до 20°C и двумя равными порциями вносили РуВОР (9,20 г, 1,68 x 10⁻² моль, 44 экв.). Мониторинг с помощью технологических контролей показал завершение реакции через 2 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью ACN (495 мл, 16,5 об.), фильтровали через шоттовскую воронку и подвергали ультрафильтрации (Merck Millipore Pellicon 3, кассета 2 x 0,11 м²) с 10 постоянным диализными объемами (600 мл, ACN), поддерживая трансмембранное давление (TMP) 18 PSI и 48 л/м²/час (LMH). После концентрирования при пониженном давлении (45°C, 0,2 бар; в течение 30 мин) и высушивания при температуре окружающей среды в течение дополнительных 16 ч получали 45,7 г очищенного продукта (партия А) в виде темно-желтого сиропа. Этот процесс повторяли для получения еще 46,8 г материала (партия В).

Две партии (партии А и В) по отдельности поглощали THF (4,7 об.) и нагревали до 35-40°C до тех пор, пока не происходило полное растворение (10 мин). В отдельный 3-горлый круглодонный сосуд, оснащенный внутренним термометром, капельной воронкой для выравнивания давления и магнитной мешалкой, добавляли МТВЕ (1,8 л, 19,5 об.). Затем растворитель охлаждали до 0°C с помощью внешней ледяной бани. Объединенные растворы партий А и В в THF переносили в капельную воронку по достижении температуры окружающей среды и вводили по каплям в перемешиваемый раствор МТВЕ, при этом поддерживая температуру 0°C. При первых признаках помутнения в реакционную смесь вводили затравку ВНАLys[Lys]₃₂[α-TDA-соединение А]₂₇[ε-PEG₂₂₀₀]₂₉ (0,95 г, 1% вес/вес относительно введенных партий А и В) в виде твердого вещества и продолжали добавление, длящееся 30 минут. Обеспечивали созревание кристаллов в течение 60 минут, перед их переносом в вакуумный фильтр Бюхнера (диаметр 160 мм) в атмосфере N₂ (продолжительность 15 минут). Осадок на фильтре дважды промывали с помощью 5 об. МТВЕ (300 мл на промывку) и подсушивали (в атмосфере N₂), что длилось в целом 30 минут. Осадок на фильтре переносили в вакуумную печь, где происходило высушивание при 40°C, 0,2 бар до тех пор, пока не была достигнута постоянная масса (24 ч), с получением 74,8 г (выход 105%) сыпучего белого порошка. ВЭЖХ (C8 Phenomenix Aeris, 2,1 x 100 мм, градиент: 5% ACN (0-1 мин), 5-45% ACN/H₂O) (1-2 мин), 45-60% ACN (2-8 мин), 60% ACN (8-10 мин), 60-90% ACN (10-10,1 мин), 90% ACN (10,1-12 мин), 90-5% ACN (12-15 мин), 5% ACN (15-20 мин), 272 нм, 10 мМ формиата аммония) R_f (мин) = 14,92. ¹H-ЯМР (300МГц, CD₃OD) δ (ppm): 0,40-2,30 (m, 589H), 2,31-2,79 (m,

154Н), 2,81-3,29 (m, 263Н), 3,35 (s, 116Н), 3,36-4,10 (m, 5924Н), 4,13-4,62 (m, 151Н), 6,28-8,52 (m, 622Н). ^{19}F -ЯМР (300МГц, DMSO-d₆) δ : -106,9 ppm (3,81 мг, FBA, интеграция установлена на 100), -79,0 ppm (21,4 мг дендример, 62,80). Таким образом получали 5,36 мг соединения А (или 25,1% содержание).

Пример 2: Содержание лекарственного средства, представляющего собой соединение А, в дендримерах

Содержание лекарственного средства, представляющего собой соединение А, в дендримерах, полученных выше, определяли посредством ЯМР.

Содержание соединения А в % по результатам ^1H ЯМР. Содержание соединения А оценивали в виде интеграции ароматического участка (6,5-8,5 ppm), который характерен для соединения А, в сравнении с областью PEG (3,4-4,2 ppm), которая характерна для остова дендримера.

Содержание соединения А в % по результатам ^{19}F ЯМР. Показатели содержания соединения А рассчитывали, выполняя ^{19}F ЯМР конъюгата с применением внутреннего стандарта (4-фторбензойной кислоты, FBA). Эксперимент обычно проводят путем точного отвешивания известной массы дендримера и FBA в один флакон. Затем полученное растворяли в DMSO, обрабатывали ультразвуком (2 мин), после этого анализировали с помощью ЯМР (100 сканирований, время задержки 30 с). Затем пики FBA и дендримера интегрировали и рассчитывали % соединения А с применением молярных соотношений (молярное соотношение соединения (3F) и FBA (1F) 3:1).

Таблица 3. Процентное содержание соединения А на Lys-дендримере

Соединение	Масштаб	Содержание соединения А (%)	MW* (кДа)	Число молекул соединения А на дендример
1	Малый объем (1,19 мг)	23,6 (¹⁹ F ЯМР)	99,7	25
	Большой объем (18,98 г)	28,6 (¹⁹ F ЯМР)	101,6	31
2	Малый объем (98 мг)	28,6 (¹ H ЯМР)	106,0	32
	Большой объем (74,8 г)	25,1 (¹⁹ F ЯМР)	96,2	27

* Суммарную молекулярную массу можно оценивать с помощью расчетной MW остова дендримера, MW соединения А-линкера и % содержания соединения А по результатам ЯМР. т.е. для

Пример: $MW = MW \text{ остова дендримера} - 32(MW \text{ TFA}) / (100 - \% \text{ содержания соединения А}) \cdot (Mg \text{ соединения А-линкера} - \text{воды}) / Mg \text{ соединения А}) / 100$

$$\begin{aligned}
 & 75700 - 3648 \\
 & (100 - 28,2((1058 - 18)/945))/100 \\
 & = \underline{72052} \\
 & (100 - 28,2(1,10))/100 \\
 & = \underline{72052} \\
 & 0,6898 \\
 & = \sim 104,5 \text{ кДа}
 \end{aligned}$$

Пример 4: Исследования эффективности на крысах и мышях

Составы, применяемые в исследованиях эффективности, получали следующим образом.

Получение препаратов соединений 1 и 2 в PBS для дозирования при исследовании эффективности RS4;11: Соответствующие количества Соединения 1 и 2 отвешивали в мерную колбу. Добавляли 10 мл забуференного фосфатом физиологического раствора Дульбекко (PBS) и затем препараты перемешивали до полного растворения соединения.

Препараты соединения 1 для исследования эффективности SuDHL-4: Препарат соединения 1 готовили в цитрат/фосфатном буфере с pH 5, разбавленном в соотношении 1:10 5%-ной глюкозой и содержащем 1% вес/об. Kolliphor HS-15, при концентрациях соединения 1 не выше 105 мг/мл (эквивалентно концентрации соединения А вплоть до 30 мг/мл).

Получали 100 мл цитрат/фосфатного буфера Мак-Илвейна с pH 5. Во флакон отвешивали 1,02 г моногидрата лимонной кислоты и 3,69 г додекагидрата двухосновного фосфата натрия и добавляли 95 мл воды для инъекций. Среду-носитель перемешивали (или обрабатывали ультразвуком) для растворения. Затем pH измеряли и при необходимости доводили до pH 5, используя 0,1 М HCl или NaOH. Среду-носитель доводили до требуемого объема (100 мл) водой для инъекций.

Данный буфер Мак-Илвейна применяли для получения разбавленной буферной среды-носителя (цитрат/фосфатный буфер с pH 5, разбавленный 1:10 5%-ной глюкозой и содержащий 1% вес/об. Kolliphor HS-15). Требуемое количество цитрат/фосфатного буфера Мак-Илвейна, эквивалентное 10% от общего приготавливаемого целевого объема, добавляли в подходящий контейнер. Коммерчески доступный 5% раствор глюкозы добавляли до примерно 90% от целевого объема. Добавляли Kolliphor HS-15, эквивалентный 1% вес/объем, и среду-носитель перемешивали до растворения Kolliphor HS-15. pH измеряли и доводили до pH $5,0 \pm 0,05$, используя 0,1 М HCl или NaOH (при необходимости). Затем среду-носитель доводили до требуемого объема, используя 5%-ную глюкозу. При необходимости ее стерилизовали фильтрованием на шприцевом фильтре с размером пор 0,22 мкм.

Чтобы получить препарат соединения 1 с более высокой дозой (10 мг/мл соединения А или эквивалента соединения 1, составляющего 37 мг/мл), 370 мг молекулы из примера 9, эквивалента 100 мг соединения А, переносили в подходящий контейнер с магнитной мешалкой. Во время функционирования магнитной мешалки добавляли разбавленную буфером среду-носитель (цитрат/фосфатный буфер с pH 4, который был разбавлен 1:10 с помощью 5% глюкозы, содержащий 1% вес/объем Kolliphor HS-15) для получения 95% от целевого объема (9,5 мл). Продолжали перемешивание, чтобы

облегчить растворение, избегая чрезмерного вспенивания, до получения прозрачного раствора. Затем состав доводили до требуемого объема (0,5 мл), используя разбавленную буферную среду-носитель, и проверяли pH. Проводили визуальную оценку состава, чтобы исключить присутствие частиц. Из раствора более высокой концентрации получали растворы с концентрацией 2 и 6 мг/мл.

Препараты соединения 1 получали при комнатной температуре и дозы вводили в течение 5 минут после получения.

Препараты соединения 2 для дозирования в исследовании эффективности SuDHL-4: Препарат соединения 2 готовили в цитрат/фосфатном буфере с pH 4, разбавленном в соотношении 1:10 5%-ной глюкозой и содержащем 1% вес/об. Kolliphor HS-15, при концентрациях соединения 2 не выше 121 мг/мл (эквивалентно концентрации соединения А вплоть до 30 мг/мл).

Получали 100 мл цитрат/фосфатного буфера Мак-Илвейна с pH 4. Во флакон отвешивали 1,29 г моногидрата лимонной кислоты и 2,76 г додекагидрата двухосновного фосфата натрия и добавляли 95 мл воды для инъекций. Среду-носитель перемешивали (или обрабатывали ультразвуком) до растворения. Затем pH измеряли и, при необходимости, доводили до pH 4, используя 0,1 М HCl или NaOH. Среду-носитель доводили до требуемого объема (100 мл) водой для инъекций.

Данный буфер Мак-Илвейна применяли для получения разбавленной буферной среды-носителя (цитрат/фосфатный буфер с pH 4, разбавленный в соотношении 1:10 5%-ной глюкозой и содержащий 1% вес/об. Kolliphor HS-15). Требуемое количество цитрат/фосфатного буфера Мак-Илвейна, эквивалентное 10% от общего приготавливаемого целевого объема, добавляли в подходящий контейнер. Поступающий в продажу 5%-ный раствор глюкозы добавляли до примерно 90% от целевого объема. Добавляли Kolliphor HS-15, эквивалентный 1% вес/об., и среду-носитель перемешивали до растворения Kolliphor HS-15. pH измеряли и доводили до pH $4,0 \pm 0,05$, используя 0,1 М HCl или NaOH (при необходимости). Затем среду-носитель доводили до требуемого объема, используя 5%-ную глюкозу. При необходимости ее стерилизовали фильтрованием на шприцевом фильтре с размером пор 0,22 мкм.

Чтобы получить препарат соединения 2 с более высокой дозой (10 мг/мл соединения А или эквивалента соединения 2, составляющего 39 мг/мл), 390 мг соединения 2, эквивалента 100 мг соединения А, переносили в подходящий контейнер с магнитной мешалкой. При работающей магнитной мешалке вносили разбавленную буферную среду-

носитель (цитрат/фосфатный буфер с pH 4, разбавленный в соотношении 1:10 5%-ной глюкозой, содержащий 1% вес/об. Kolliphor HS-15) до достижения 95% от целевого объема (9,5 мл). Перемешивание состава продолжали, чтобы облегчить растворение, избегая чрезмерного вспенивания, до получения прозрачного раствора. Затем состав доводили до нужного объема (0,5 мл) с помощью разбавленной буфером среды-носителя и проверяли pH. Проводили визуальную оценку состава, чтобы исключить присутствие частиц. Из раствора более высокой концентрации получали растворы с концентрацией 2 и 6 мг/мл.

Препараты соединения 2 получали при комнатной температуре и дозы вводили в течение 5 минут после получения.

Препарат соединения А в 30% вес/об. HP-β-CD

Получали среду-носитель, содержащую 30% вес/объем HP-β-CD. 3 г HP-β-CD (Roquette Kleptose, степень чистоты соответствует парентеральному введению) отвешивали в 10 мл мерную колбу, добавляли 8 мл WFI и перемешивали (или обрабатывали ультразвуком) для растворения. После растворения объем доводили до 10 мл с помощью WFI.

Соответствующее количество соединения А отвешивали в 10 мл мерную колбу. Затем добавляли 8 мл среды-носителя, содержащей 30% вес/объем HP-β-CD, и состав перемешивали. По каплям вносили 1 М MSA, пока pH не снижался до примерно 2. Затем состав перемешивали до полного растворения соединения. pH измеряли и доводили до pH 4, добавляя по каплям 1 М MSA или NaOH. Затем состав перемешивали, чтобы гарантировать получение прозрачного раствора (с вероятной мутностью). Объем затем доводили до 10 мл с помощью среды-носителя, содержащей 30% вес/об. HP-β-CD, и перемешивали. Конечный pH измеряли и регистрировали и состав фильтровали через 0,22 мкм фильтр перед введением. Составы с другими концентрациями получали путем разбавления соединения А в 30% вес/об. HP-β-CD, используя соответствующее количество среды-носителя, содержащей 30% вес/об. HP-β-CD.

Эффективность соединений 1 и 2 в модели с ксенотрансплантатом RS4;11 5×10^6 клеток RS4;11 в общем объеме 100 мкл инокулировали подкожно в правый бок мыши. Когда объем опухоли достигал примерно $\sim 350 \text{ мм}^3$, мышей, несущих опухоль, рандомизировали в группы из 4 животных и обрабатывали либо контрольной средой-носителем (PBS), либо средством обработки. На **фигуре 1** показано, что дендримеры проявляют отличающуюся эффективность при различных скоростях высвобождения.

Соединение 1 в дозе, эквивалентной 10 мг/кг соединения А, и соединение 2 в дозе, эквивалентной 30 мг/кг соединения А, при однократной IV дозе показали аналогичную или слегка более высокую активность, чем 10 мг/кг соединения А НР-β-CD при однократном IV введении (100%, регрессия 98% относительно 90%, соответственно).

Таблица 4. Обобщенные данные по ингибированию и регрессии для соединений 1 и 2

Номер группы	Обработка	Эффективность			
		% ингибирования День (47)	% регрессии День (47)	P-значение День (47)	T-C (дни)
1	Среда-носитель				
2	Соединение А, 5 мг/кг	>100	90	<0,0001	
3	Соединение 2 , эквивалентно 10 мг/кг соединения А (39 мг/кг макромолекулы)	>100	56	<0,0001	
4	Соединение 2 , эквивалентно 30 мг/кг соединения А (117 мг/кг макромолекулы)	>100	100	<0,0001	>32
	Соединение 1 , эквивалентно 10 мг/кг соединения А (37 мг/кг макромолекулы)	>100	98	0,0085	

Когда объем опухоли RS4;11 достигал примерно ~400-600 мм³, группы из 3 мышей, несущих опухоль, обрабатывали однократной дозой либо среды-носителя (PBS), либо молекулы из примера 2 IV из расчета 10 и 30 мг/кг. Опухоли собирали в разные моменты времени после введения дозы и обрабатывали для проведения анализа.

Результаты показали, что линкер индуцирует сопоставимый апоптотический ответ, на что указывает расщепленная каспаза 3, причем ответы достигали максимума через 16-28 часов

после введения дозы (фигура 2). Соединение 2 в дозе, эквивалентной 30 мг/кг соединения А, (117 мг/кг соединения 2) индуцировало наиболее высокий ССЗ ответ.

На **Фигуре 3** показано, что соединение 1 и соединение 2 при дозе, эквивалентной 20 мг/кг соединения А (78 и 74 мг/кг соединения 1 и 2 соответственно), были немного более эффективными, чем соединение А в препарате с НР-β-CD при еженедельной дозе 10 мг/кг.

Кроме того, клеточную гибель (апоптоз) измеряли, используя расщепленную PARP (**Фигура 4**). Соединение А в препарате с НР-β-CD (см. пример 2) индуцировало расщепление PARP непосредственно через 1 и 3 часа после обработки, тогда как соединение 1 вызывало максимальную клеточную гибель через 20 часов после введения однократной дозы.

Эффективность соединения 2 в модели с ксенотрансплантатом RS4;11 у крыс Rag2-/-: На **Фигуре 5** показано, что доза соединения 2, эквивалентная 30 мг/кг соединения А (117 мг/кг соединения 2), вызывает регрессию опухоли RS4;11. Однократная доза соединения 2, эквивалентная 10 мг/кг соединения А (39 мг/кг соединения 2), подавляла рост опухоли (остановка роста).

Соединения 1 и 2 усиливают подавление роста опухоли ритуксимабом в модели с ксенотрансплантатом SuDHL-4 у мышей SCID: Для тестирования способности соединений 1 и 2 усиливать активность ритуксимаба в подавлении роста опухоли применяли модель с ксенотрансплантатом SuDHL-4. Когда опухоли выросли до примерно 175-250 мм³, мышей рандомизировали в следующие группы:

- (1) контрольная группа со средой-носителем;
- (2) группа обработки соединением 2 (эквивалентно 50 мг/кг соединения А, 195 мг/кг соединения 2, i.v. один раз в неделю в течение 5 недель);
- (3) группа обработки соединением 1 (эквивалент 50 мг/кг соединения А, 185 мг/кг соединения 1, i.v. один раз в неделю в течение 5 недель);
- (4) группа ритуксимаба (10 мг/кг i.p. раз в неделю в течение 5 недель);
- (5) соединение 2 (эквивалентно 10 мг/кг соединения А, 39 мг/кг соединения 2) плюс ритуксимаб;
- (6) соединение 2 (эквивалентно 30 мг/кг соединения А, 117 мг/кг соединения 2) плюс ритуксимаб;
- (7) соединение 2 (эквивалентно 50 мг/кг соединения А, 195 мг/кг соединения 2) плюс ритуксимаб;

(8) соединение 1 (эквивалентно 10 мг/кг соединения А, 37 мг/кг соединения 1) плюс ритуксимаб;

(9) соединение 1 (эквивалентно 30 мг/кг соединения А, 111 мг/кг соединения 1) плюс ритуксимаб;

(10) соединение 1 (эквивалентно 50 мг/кг соединения А, 185 мг/кг соединения 1) плюс ритуксимаб;

Размеры опухолей измеряли 2 раза в неделю и рассчитывали следующим образом: объем опухоли = $(A \times B^2)/2$, где А и В – длина и ширина опухоли (в мм), соответственно.

Результаты показаны на **фигуре 8**. Соединение 1 и 2 при дозе, эквивалентной 50 мг/кг соединения А (185 и 195 мг/кг дендримера соответственно), значительно подавляло рост опухоли по сравнению с контролем носителем, причем соединение 2 было немного более эффективным в качестве монотерапии, чем соединение 1 при дозе, эквивалентной 50 мг/кг соединения А. В **Таблице 5** приведены значения подавления роста опухоли (ТГС) и задержки роста опухоли (ТС), рассчитанные как % подавления и % регрессии. Расчет основан на геометрическом среднем RTV в каждой группе.

В конкретный день для каждой экспериментальной группы рассчитывали значение подавления по формуле: % подавления = $(CG-TG) * 100 / (CG-1)$, в которой «CG» означает геометрическое среднее rtv контрольной группы, а «TG» означает геометрическое среднее относительного объема опухоли (rtv) экспериментальной группы. При расчете «CG» необходимо применять соответствующую контрольную группу для экспериментальной группы. Если подавление > 100%, то необходимо рассчитать регрессию по формуле: регрессия = $1 - TG$

Значение ТГС составляло 63,5% для дозы, эквивалентной 50 мг/кг соединения А (195 мг/кг соединения 2), 40,44% для дозы, эквивалентной 50 мг/кг соединения А (185 мг/кг соединения 1) и 75,27% для 10 мг/кг ритуксимаба. Таким образом, соединения 1 и 2 при дозе, эквивалентной 50 мг/кг соединения А, значимо активны в данной модели. Еще более важно то, что комбинация соединений 1 и 2 в дозе, эквивалентной 10, 30 и 50 мг/кг соединения А, с ритуксимабом (10 мг/кг) приводила к регрессии опухоли. Кроме того, комбинированная обработка приводила к полной регрессии опухоли у большинства животных, при этом такого не наблюдали при обработках одним лекарственным средством.

Таблица 5. Обобщенные данные по эффективности соединений 1 и 2 в комбинации с ритуксимабом

	Обработка	Эффективность			
		% ингибирования (TIC) День (41)	% регрессии, День (41)	P- значение День (41)	T-C (дни)
1	Среда-носитель				
2	Соединение 2 (эквивалентно 50 мг/кг соединения A,195 мг/кг соединения 2)	63,5		0,0002	
3	Соединение 1 (эквивалентно 50 мг/кг соединения A,185 мг/кг соединения 1)	40,44		0,0420	
4	ритуксимаб (10 мг/кг)	75,27		0,0010	>16
5	ритуксимаб (10 мг/кг) плюс соединение 2 (эквивалентно 10 мг/кг соединения A, 39 мг/кг Соединения 2)	>100	97	0,0005	>37

6	ритуксимаб (10 мг/кг) плюс соединение 2 (эквивалентно 30 мг/кг соединения А, 117 мг/кг соединения 2)	>100	100	<0,0001	>37
7	ритуксимаб (10 мг/кг) плюс соединение 2 (эквивалентно 50 мг/кг соединения А, 195 мг/кг соединения 2)	>100	100	<0,0001	>37
8	Ритуксимаб (10 мг/кг) плюс соединение 1 (эквивалентно 10 мг/кг соединения А, 37 мг/кг Соединения 1)	>100	69	0,0230	>37
9	ритуксимаб (10 мг/кг) плюс соединение 1 (эквивалент	>100	100	<0,0001	>37

	30 мг/кг соединения А, 111 мг/кг соединения 1)				
10	ритуксимаб (10 мг/кг) плюс соединение 1 (эквивалент 50 мг/кг соединения А, 185 мг/кг соединения 1)	>100	100	<0,0001	>37

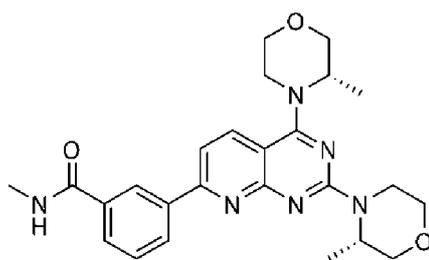
Пример 5: Противоопухолевая активность in vivo отдельного средства и комбинации на модели опухоли мелкоклеточного рака легкого человека

Соединение 2 и AZD2014 (вистусертиб, ингибитор mTOR, показанный ниже) индуцировали противоопухолевую активность в качестве отдельного средства и комбинации у мышей, несущих опухоль NCI-H1048 (**фигура 9**). Ежедневное (qd) iv введение 103 мг/кг соединения 2 (эквивалентно 30 мг/кг соединения А) приводило к значимой противоопухолевой активности, составляющей 76% TGI ($p < 0,05$). Ежедневное (qd) ведение 15 мг/кг ингибитора mTOR, AZD2014, приводило к значимой противоопухолевой активности, составляющей 84% TGI ($p < 0,05$). Комбинация молекулы из примера 1 и AZD2014 приводила к 91% регрессии опухоли ($p < 0,05$ по сравнению с действием отдельного средства).

Препарат соединения 1 составляли в цитрат/фосфатном буфере с pH 5,0, содержащем 4,5% вес/об. глюкозы, и вводили дозой внутривенно (iv) в объеме 5 мл/кг. Препарат AZD2014 составляли в 0,5% гидроксипропилметилцеллюлозе/0,1% Tween 80 и дозировали перорально в объеме 10 мл/кг.

5×10^6 опухолевых клеток NCI-H1048 вводили подкожной инъекцией в правый бок самок мышей C.B.-17 SCID в объеме 0,1 мл, содержащем 50% матригеля. Объем опухоли (измеренный штангенциркулем) рассчитывали по формуле: длина (мм) x ширина

(мм)² x 0,52. Для исследований эффективности мышей рандомизировали на основе объема опухоли, а ингибирование роста оценивали, сравнивая разницу объема опухоли у контрольной и экспериментальной групп. Дозирование начинали, когда средний объем опухоли достигал примерно 124 мм³.



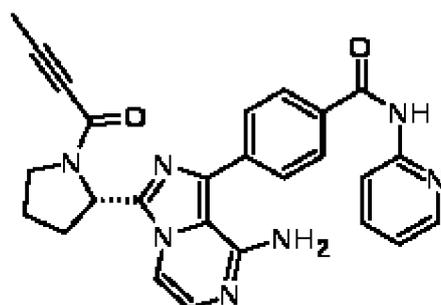
(вистусертиб) AZD2014

Пример 6: Противоопухолевая активность *in vivo* отдельного средства и комбинации на модели DLBCL человека

5 x 10⁶ опухолевых клеток OCI-Ly10 вводили подкожной инъекцией в правый бок самок мышей C.B.-17 SCID в объеме 0,1 мл, содержащем 50% матригеля. Препарат соединения 1 составляли в цитрат/фосфатном буфере с pH 5,0, разбавленном в соотношении 1:10 5%-ной глюкозой, содержащей 1% вес/об. Kolliphor HS15, и дозировали путем еженедельного внутривенного (iv) введения объемом 5 мл/кг в дозе 103 мг/кг (30 мг/кг API). Препарат акалабрутиниба составляли в 0,5% гидроксипропилметилцеллюлозе/0,2% Tween 80 и дозировали дважды в день (bid) путем перорального (po) введения объемом 10 мл/кг в дозе 12,5 мг/кг. Объемы опухоли (измеренные штангенциркулем), вес тела животного и состояние опухоли регистрировали дважды в неделю на протяжении исследования. Объем опухоли рассчитывали по формуле: длина(мм) x ширина(мм)² x 0,52. Для исследований эффективности оценивали подавление роста после начала обработки, сравнивая разницу объема опухоли у контрольной и получавшей обработку групп. Дозирование начинали, когда средний размер опухоли достигал примерно 166 мм³.

Как показано на **фигуре 10**, комбинирование соединения 1 с акалабрутинибом приводило к значительной противоопухолевой активности *in vivo* на модели DLBCL с ксенотрансплантатом OCI-Ly10. Еженедельное iv введение 103 мг/кг соединения 1 (30 мг/кг соединения А) в комбинации с пероральным введением 12,5 мг/кг акалабрутиниба дважды в день приводило к полной регрессии у 8 из 8 мышей, несущих опухоль, через 10 дней после начала обработки. Полные регрессии сохранялись даже

после окончания обработки (3-недельная обработка и 35 дней последующего наблюдения). В то же время, соединение 1 или акалабрутиниб как отдельное средство показали относительно небольшую активность отдельного средства, достигая примерно 64% и 58% подавления роста опухоли (TGI), соответственно.



Акалабрутиниб

Пример 9: Исследование лиофилизации

Соединения 1 и 2 гидролизуются с высвобождением активного фрагмента в присутствии воды, и поэтому необходимо предпринять шаги для минимизации воздействия влаги и скорости гидролиза за счет использования альтернативных растворителей, контроля температуры и времени в ходе производства лиофильного вещества. Было исследовано несколько неводных растворителей на бумаге для применения при лиофилизации, включая, например, ацетон, уксусную кислоту (ледяную), ацетонитрил, трет-бутиловый спирт, этанол, н-пропанол, н-бутанол, изопропанол, этилацетат, диметилкарбонат, дихлорметан, метилэтилкетон, метилизобутилкетон, 1-пентанол, метилацетат, метанол, четыреххлористый углерод, диметилсульфоксид, гексафторацетон, хлорбутанол, диметилсульфон, уксусную кислоту, циклогексан и ледяную уксусную кислоту.

После предварительного исследования потенциальными кандидатами оказались ледяная уксусная кислота и трет-бутиловый спирт. Эти два растворителя были дополнительно исследованы путем визуальных наблюдений на предмет растворимости в них обоих соединений, достаточной для достижения концентрации раствора ≥ 100 мг/мл. В этом методе примерно 20 мг соединения вносили в 200 мкл каждого растворителя и образец обрабатывали ультразвуком, чтобы способствовать растворению.

Оба соединения 1 и 2 быстро растворились в ледяной уксусной кислоте, но не растворились в *трет*-бутиловом спирте без проведения продолжительной обработки ультразвуком. Продолжительная обработка ультразвуком привела к повышению

температуры, что также могло способствовать растворению обоих соединений в трет-бутиловом спирте. После охлаждения до комнатной температуры в растворах Соединения 1 и 2 в *трет*-бутиловом спирте наблюдали выпадение осадка, что указывает, скорее всего, на эффект от нагрева из-за продолжительной обработки ультразвуком, который привел к образованию перенасыщенного раствора, нестабильного при комнатной температуре. Таким образом, заключили, что оба соединения 1 и 2 имели приемлемую для процесса лиофилизации растворимость в ледяной уксусной кислоте, тогда как с точки зрения предполагаемых доз растворимость в *трет*-бутиловом спирте была недостаточной.

Для использования в процессе лиофилизации была также проведена оценка различных растворителей в сочетании с ледяной уксусной кислотой, включая ацетон, анизол, 1-бутанол, 2-бутанол, бутилацетат, трет-бутилметилловый эфир, DMSO, этанол, этилацетат, этиловый эфир, этилформиат, муравьиную кислоту гептан, изобутилацетат, изопропилацетат, метилацетат, 3-метил-1-бутанол, метилэтилкетон, метилизобутилкетон, 2-метил-1-пропанол, пентан, 1-пентанол, 1-пропанол, 2-пропанол, пропилацетат. Ни один из этих растворителей в сочетании с ледяной уксусной кислотой не подошел для сублимационной сушки. Поэтому для разработки процесса лиофилизации для обоих соединений была использована только ледяная уксусная кислота.

Для определения параметров процесса лиофилизации соединения 1 и 2 отдельно растворяли в ледяной уксусной кислоте при концентрации примерно 100 мг/мл и помещали в 10 мл стеклянные флаконы I типа для сублимационной сушки с пробками для лиофилизации и замораживали до -40°C . Эти образцы были лиофилизированы при температуре полки от -40°C до -35°C и давлении вакуума примерно 100 мТорр. Вторичную сушку выполняли путем нагревания до 20°C в течение 6 часов и выдерживания при этой температуре в течение 1 часа при примерно 100 мТорр. Полученные лиофильные вещества имели хороший внешний вид при визуальном осмотре, и их физическая и химическая стабильности были исследованы дополнительно.

В дополнение к химической стабильности лиофильного вещества в ходе процесса лиофилизации, также была исследована химическая стабильность растворов соединения 1 и 2 в ледяной уксусной кислоте в условиях окружающей среды и замороженном виде с использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ-детектированием для определения концентрации соединения А в препаратах в соответствии со следующими параметрами, показанными для анализа Соединения 1:

Подвижная фаза А	0,07% трифторуксусной кислоты в воде		
Подвижная фаза В	0,07% трифторуксусной кислоты в ацетонитриле		
Колонка	Waters X Bridge Phenyl, 2,5 мкм 30 x 3,0 мм		
Температура колонки	60°C		
Расход	1,0 мл/мин		
	Время	% подвижной фазы А	% подвижной фазы В
	0 мин	60	40
Градиент	6,0	20	80
	6,5	20	80
	6,7	60	40
	8,0	60	40
Объем впрыска	4 мкл		
Время прогона	8,0 мин		
Режим детектора/длина волны	УФ, 332 нм		
R _t соединения А	Примерно 2,5 мин		
R _t соединения 1	Примерно 5,0 мин		

Соединение А использовали для количественного определения свободного количества соединения А в лиофилизированных препаратах соединения 1. Для приготовления стандартного раствора, содержащего 30 мкг/мл соединения А, примерно 15 мг соединения А точно отвешивали в мерную 50-миллилитровую колбу доводили до требуемого объема диметилацетамидом. 5 мл полученного раствора для калибровки добавляли в мерную 50-миллилитровую колбу и доводили до требуемого объема диметилацетамидом. Для приготовления образцов соединения 2 примерно 20 мг сухого порошка Соединения 1 точно отвешивали в мерную 20-миллилитровую колбу с последующим доведением до требуемого объема диметилацетамидом.

Расчет % свободного соединения А:

$$\text{Содержание Соединения А (мг/мл)} = \frac{\text{Площадь пика соединения А в образце}}{\text{Ср. площадь пика соединения А в калибровочном эталоне}} \times \frac{\text{Масса (мг) соединения А в калибровочном эталоне}}{\text{Объем (мл) соединения А в калибровочном эталоне}} \times \frac{\text{Чистота соединения А, эталон}}{100}$$

$$\% \text{ свободного соединения А} = \frac{\text{Содержание Соединения А (мг/мл)}}{\left(\text{Концентрация (мг/мл) соединения 1 в образце} \times \frac{\text{Количество соединения А на соединении 1}}{100} \right)} \times 100$$

Результаты сравнивали с таковыми для соединения А (% вес/вес) в соединениях 1 и 2, как показано в **Таблице 6**.

Таблица 6: Процент свободного соединения А по данным ВЭЖХ

ИД образца	Соединение	Свободное соединение А (%)
Лекарственное вещество	1	0,19
	2	0,07
Лиофилизированные образцы	1	1,243
	2	0,261
Замороженный раствор образца в ледяной уксусной кислоте	1	1,166
	2	0,196
Раствор образца в ледяной уксусной кислоте при температуре окружающей среды	1	4,621
	2	0,635

Из **Таблицы 6** видно, что в образцах соединения 1 происходит значительное разложение в ходе процесса лиофилизации, поскольку % свободного соединения А увеличивался до ~1,2%. Это увеличение было такое же, как и в замороженном растворе, что указывает на то, что разложение в основном происходило в процессе приготовления раствора. Разложение соединения 1 в растворе в ледяной уксусной кислоте, хранящемся в условиях окружающей среды, было намного выше, чем в замороженном виде. Однако значительного разложения в лиофильных и замороженных растворах соединения 2 обнаружено не было, тогда как значительное разложение в растворе соединения 2 в ледяной уксусной кислоте, хранящийся в условиях окружающей среды, было очевидно.

Таким образом, заключили, что растворы соединения 1 и 2 в ледяной уксусной кислоте были стабильны в процессе лиофилизации и хранения в замороженном виде (-20°C).

Вторую процедуру лиофилизации соединений 1 и 2 проводили в малом объеме. Растворы соединений 1 и 2 получали растворением 134,8 мг соединения 1 в 1,348 мл уксусной кислоты и 143,2 мг соединения 2 в 1,432 мл уксусной кислоты. 200 мкл каждого раствора отбирали для исследования стабильности раствора в условиях окружающей среды и для исследования стабильности замороженного раствора. Остальные растворы подвергали сублимационной сушке в соответствии с процедурой, описанной ниже, в прозрачных 10-миллилитровых флаконах:

1. Охлаждение при -40°C в течение 2 часов
2. Выдерживание при -40°C в течение 30 мин
3. Вакуумирование при 300 мТорр при -40°C в течение 1440 минут (1 день)
4. Выдерживание при -35°C на полке для изменения температуры в течение суток
5. Нагревание при 20°C в течение суток, понижая давление до 100 мТорр
6. Выдерживание при 20°C в течение 2 часов при 100 мТорр
7. Приведение к условиям окружающей среды, используя прокачку N₂, и укупоривание флаконов в морозильной сушилке.
8. Выгрузка и запечатывание, хранение в морозильной камере.

Было сделано заключение о том, что растворы соединения 1 и 2 в ледяной уксусной кислоте стабильны в процессе лиофилизации и хранения в замороженном виде (-20°C).

Цель

Только соединение 1 было выбрано для дальнейшей разработки продукта. Объем исследований включал составление нерасфасованного раствора, содержащего соединение 1, контроль критических параметров процесса, совместимость материалов и лиофилизацию. Были изготовлены три полномасштабные лабораторные партии примерно по 160 флаконов/1,77 кг на партию. Соединение 1 готовили в виде раствора 50 мг/мл в ледяной уксусной кислоте без использования каких-либо формообразующих и номинальный целевой объем 10,0 мл заполняли в 50-миллилитровый прозрачный

стеклянный флакон I типа для сублимационной сушки для производства лекарственного продукта, содержащего 500 мг соединения 1 в 50-миллилитровом флаконе.

Материалы

В **Таблице 7** перечислены материалы, использованные в исследованиях. Все использованные материалы были в пределах своего срока годности.

Таблица 7: Перечень материалов

Материалы	Размеры	Поставщики
Соединение 1	5 флаконов (по 80 г) 1 флакон (по 50 г)	н. п.
Безводная уксусная кислота	1 л бутылки	Rathburn
Силиконовая трубка, отвержденная платиной	ВД 0,125 дюйма	Saint-Gobain Performance Plastics
Силиконовая трубка, отвержденная платиной	ВД 0,25 дюйма	Saint-Gobain Performance Plastics
Силиконовая прокладка, отвержденная платиной	ВД ¾ дюйма	Precision Polymer Products
Сверхчистый азот	UN1066	Воздух-газ
Насадка для наполнения из нержавеющей стали 316L	ВД 1/8 дюйма	Cole-Parmer (Overlook Industries)
Millipak 20 PVDF	Размер пор 0,22 мкм	Millipore
1л ТК8, BPV 2D Мешок для хранения	A-Flex 20 дюймов, ¼ дюйма x ¼ дюйма x 1/8 дюйма Люэр	ATMI/Pall Life Sciences

Оборудование

Оборудование, указанное в **Таблице 8**, использовали в исследованиях в ходе разработки и до получения технических партий на производственном уровне.

Взвешивание, смешивание и составление проводили в изоляторе, продуваемом азотом, чтобы уменьшить влажность в атмосфере и ингибировать гидролиз соединения А в соединении 1. В сосуде для соединения поддерживали температуру $18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, чтобы минимизировать гидролиз соединения А из соединения 1 в уксусной кислоте во время составления препарата. Эту температуру невозможно было устанавливать на слишком низком уровне из-за риска замерзания уксусной кислоты. Фильтрацию и наполнение проводили на лабораторном столе при температуре окружающей среды.

Таблица 8: Перечень оборудования

Оборудование
Сосуды по 2 л и 3 л со стеклянной рубашкой (Chemglass)
Мешалки с тефлоновым покрытием, ВД 2 дюйма и 3 дюйма
Магнитная мешалка VWR с цифровым дисплеем
Холодильное устройство VWR
Термометр Fisher
Изолятор для отбора проб
Весы с верхней загрузкой
Аналитические весы
Watson Marlow, перистальтический фильтрующий насос
Watson Marlow, Flexicon, перистальтический наполняющий насос
Lyо Star III, сублимационная сушилка, лабораторная

Укупоривание контейнеров

Флаконы промывали вручную, ополаскивали дистиллированной водой и сушили в сушильном шкафу при 130°C в течение 6 часов. Перед заполнением их уравнивали при температуре окружающей среды. Пробки и уплотнения использовались как есть без дополнительной обработки (Таблица 9).

Таблица 9: Первичное укупоривание контейнеров

Компоненты
Флакон 50 мл, коронка 20 мм, нестерильный, прозрачное стекло, флакон I типа, Schott, кат. № 1097603
Пробка для лиофилизации Flurotec 20 мм, West, готовая к стерилизации, кат. № 19700033 или № 19700041
Отламывающаяся матовая верхняя крышка 20 мм, West, белая, кат. № 54202047

Окончательный процесс серийного производства

Препарат с концентрацией 50 мг/мл соединения 1 был приготовлен в ледяной уксусной кислоте в соответствии с основной рецептурой, приведенной в **Таблице 10**.

Расчет

Окончательную массу соединения 1 скорректировали на чистоту (98,9%) из сертификата анализа (CoA). Скорректированная масса рассчитывается следующим образом:

- (a) Расчет массы соединения 1, требуемой для партии, в соответствии с основной рецептурой в **Таблице 10**.
- (b) Для 100 мл раствора масса соединения 1 = 100 мл (4,75/100) = 4,75 г.
- (c) Поправка на чистоту, масса соединения 1 = 4,75 ÷ (98,9/100) = 4,8028 г.

Таблица 10: Дозирование основной рецептуры

Ингредиент	Концентрация (мг/мл)	% по массе ¹
соединение 1	50 мг/мл	4,75
Ледяная уксусная кислота ²	Qs до 1 мл	Qs до 100%

¹Плотность препарата = 1,0531 г/мл при 25°C.

²Плотность = 1,05 г/мл

Настройка оборудования

- (a) Всё оборудование (весы, сосуд, смеситель) размещали внутри изолятора.
Силиконовую трубку от баллона с азотом подключали к входу изолятора. Азотный клапан включали и регулятор устанавливали так, чтобы поддерживать поток азота примерно на уровне 200 кубических футов в час (стандартных кубических футов в час).
- (b) Изолятор продували чистым газообразным азотом в течение не менее 10 минут, а предпочтительно - по меньшей мере 30 минут, и поддерживали постоянный ток азота в течение всего времени смешивания.
- (c) Сосуд для смешивания со стеклянной рубашкой и смеситель устанавливали и подсоединяли к холодильному устройству к сосуду.

- (d) Температуру холодильного устройства устанавливали на 18°C, а температура наполнителя достигла 18°C перед продолжением.

Смешивание

- (a) 90% от веса безводной ледяной уксусной кислоты в партии отмеряли в стеклянный сосуд.
- (b) Было начато медленное перемешивание при 200-300 об/мин.
- (c) Раствор уксусной кислоты охлаждали до температуры 18°C, и раствор выдерживали при этой температуре в течение минимум 5 минут.
- (d) Скорректированное предварительно взвешенное количество соединения 1 загружали в сосуд при непрерывном перемешивании. Эта точка была установлена как нулевое время, и общее целевое время для партии от добавления соединения 1 к уксусной кислоте до помещения лотков в сублимационную сушилку составляло максимум 7 часов, чтобы минимизировать образование высвобожденного свободного соединения А.
- (e) Скорость перемешивания увеличивали по мере необходимости для достижения полного растворения соединения 1.
- (f) К взвешенной массе партии добавляли ледяную уксусную кислоту и раствор перемешивали еще 10 мин.
- (g) На этом этапе отбирали нулевую пробу (2 × 10 мл) для анализа внешнего вида, плотности, осмоляльности, содержания основного вещества и определения примесей. Образец разбавляли диметилацетамидом (DMA) до концентрации 1 мг/мл в соответствии с методом ВЭЖХ, описанным выше. Все образцы закрывали пробкой и хранили при -20°C.

Фильтрация

- (a) Раствор фильтровали сразу после приготовления.
- (b) Силиконовая трубка с внутренним диаметром 0,25 дюйма была подсоединена от емкости к 2 фильтрам Millipak 20, соединенным последовательно. Силиконовую трубку пропускали через головку перистальтического насоса и выход трубки подсоединяли к мешку (ТК8) для хранения или стеклянной бутылке из пирекса.
- (c) Раствор, содержащий соединение 1, медленно перекачивали насосом в приемный контейнер, отбрасывая начальный объем в размере 10-20 мл.
- (d) Образец после фильтрации отбирали для анализа количественного содержания основного вещества и определения примесей. Образец разбавляли

диметилацетамидом (DMA) до концентрации 1 мг/мл в соответствии с методом ВЭЖХ, описанным выше. Образец закрывали пробкой и хранили при -20°C .

Заполнение продуктом

- (a) Точность заполнения продуктом определяли при температуре окружающей среды, используя перистальтический насос.
- (b) Плотность раствора измеряли при температуре окружающей среды и устанавливали массу заполнения, исходя из номинальных 10 мл/флакон.
- (c) Флаконы были заполнены до заданного веса заполнения. Каждый флакон частично закрывали пробкой и сразу после заполнения лотка загружали в сублимационную сушилку.
- (d) В конце заполнения отбирали два флакона с образцом объемом 10 мл для определения количественного содержания основного вещества и примесей. Образец немедленно гасили DMA (1 мг/мл) и хранили при -20°C .

Сублимационная сушка

Окончательный процесс сублимационной сушки, приведенный в таблице 11, применяли на трех технических партиях. Флаконы с продуктом загружали при температуре полки 5°C . Замораживание проводили на более медленной скорости изменения температуры, равной $0,2^{\circ}\text{C}/\text{мин}$. Замороженную уксусную кислоту возгоняли, используя линейное изменение температуры от -30°C до -20°C в течение 30 часов, затем применяли статический режим при -20°C в течение 55 часов во время первичной сушки при давлении вакуума 100 мТорр. Любой оставшийся растворитель удаляли десорбцией при 25°C и пониженном давлении 20 мТорр в течение 12 часов вторичной сушки. Все флаконы снова заполняли азотом перед укупориванием при давлении в вакууме 700 Торр и хранили при рекомендуемой температуре хранения -20°C . Давление обратного заполнения (700 Торр) поддерживали на уровне, близком к атмосферному (760 Торр), чтобы поддерживать небольшой вакуум внутри флакона и гарантировать целостность укупорки контейнера закрытого флакона. Установленное давление вакуума (20 мТорр) перед обратным заполнением **Таблица 11** относится к действующему давлению вакуума перед началом процесса обратного заполнения, которое соответствует давлению вакуума вторичной сушки 20 мТорр.

Таблица 11: Процесс сублимационной сушки

Фаза загрузки продукта		Заданная температура полки	5°C		
Фаза термической обработки					
Стадия	Режим управления стадией	Температура S.P. (°C)	Время разгона (мин)	Время выдержки (мин)	
1	Нормальный	-30	175	90	
2	Нормальный	-5	50	240	
3	Нормальный	-30	125	90	
Замораживающий конденсатор	Конденсатор SP	-50	н. п.	н. п.	
Откачка	Откачка SP при 100 мТорр				
Фаза первичной сушки					
Стадия	Режим управления стадией	Температура S.P. (°C)	Разгон Время (минуты)	Время выдержки (мин)	Вак. Пост. SP (мТорр)
1	Нормальный	-30	0	60	100
2	Нормальный	-20	1800	3320	100
Тест на повышение давления				н. п.	Нет
Фаза вторичной сушки					
Стадия	Режим управления стадией	Температура S.P. (°C)	Разгон Время (мин)	Время выдержки (мин)	Вак. Пост. SP (мТорр)
1	Нормальный	25	520	720	20
Тест на повышение давления				н. п.	Нет

Фаза укупоривания		
Заданная температура полки	-20	°C
Вакуум перед обратным заполнением	20	мТорр
Обратное заполнение перед укупориванием	Да	
Режим укупоривания	Вручную	

Конечный лиофилизированный продукт анализировали на внешний вид, количественное содержание, примеси, содержание воды, остаточный растворитель (уксусную кислоту), восстановление (время, внешний вид, рН, количество частиц и размер частиц).

Результаты:

Технологическая партия 1

Общий размер партии, включая уксусную кислоту и соединение 1, составлял 1,770 кг. Пятичасовую выдержку при 18°C проводили перед тем, как раствор отфильтровывали, заполняли и загружали в лиофилизатор, чтобы имитировать ожидаемое время обработки для размера партии согласно НПП (~ 23 кг). Общая продолжительность процесса от начала добавления соединения 1 к уксусной кислоте составляла шесть часов и 38 минут. Соединение 1 полностью растворилось за 12 минут. Лиофилизированное вещество было гладким, компактным и не совсем белым. **Таблицы 12-17** дают характеристику технологической партии 1.

Технологическую партию 1 восстанавливали в 50 мМ цитратном буфере (рН 5) в 5%-ной (вес/вес) декстрозе (3,68 мг/мл моногидрата лимонной кислоты, 9,56 мг/мл дигидрата цитрата натрия и 50 мг/мл безводной декстрозы). Альтернативный разбавитель или растворитель представляет собой 100 мМ ацетатный буфер (рН 5) в 2,5%-ной (вес/вес) декстрозе (1,76 мг/мл уксусной кислоты, 5,78 мг/мл безводного ацетата натрия, 25 мг/мл безводной декстрозы).

Таблица 12: Данные по восстановлению технологической партии 1

Флакон №	Внешний вид	Объем (мл)	Время до полного растворения (мин)	рН
1	Прозрачный раствор бледно-желтого цвета, без видимых частиц	20	5,41	5,04
2	Прозрачный раствор бледно-желтого цвета, без видимых частиц	20	5,23	5,04

Таблица 13: Примеси в технологической партии 1 (% площади)

Образец	% свободного соед. А	Количественное содержание соед. А (% маркировка)	% суммарный Прим.	% при м. RR T-0.17	% при м. RR T-0.42	% при м. (соед. А) RR T-0.53 ²	% при м. RR T-0.58	% при м. RR T-0.82	% при м. RR T-0.89
Т = 30 (до фильтрации)	н. о.	99,21	0,31					0,31	
После фильтрации	0,24	99,86	0,59		0,10	0,21		0,28	
В конце заполнения (6 ч, 14 мин)	0,22	99,67	0,53		0,06	0,19		0,82	
Лио Флаконт-1	0,28	106,29	0,62		0,09	0,25		0,28	
Лио Флаконт-2	0,28	99,59	0,65		0,11	0,25		0,29	

Таблица 14: Остаточная влажность в технологической партии 1

Образец	Вес осадка (г)	% Воды (вес/вес) (KF)	Средний % воды (вес/вес)
1	0,5230	0,0040	0,0031
2	0,5011	0,0021	

Таблица 15: Остаточный растворитель в технологической партии 1

Образец	% Уксусной кислоты (вес/вес) (ВЭЖХ)	Средний % уксусной кислоты (вес/вес)
Конец первичной сушки - флакон 1	7,81	8,17
Конец первичной сушки - флакон 2	8,52	
Вторичная сушка - флакон 1	0,05	0,05
Вторичная сушка - флакон 2	0,04	
Лио-флакон 1	0,01	0,01
Лио-флакон 2	0,01	

Таблица 16: Число частиц в технологической партии 1 (USP <788>)¹

Спецификация USP (частицы/контейнер)	Суммарное среднее число частиц в 5 мл (n = 3)	Число частиц/мл	Число частиц/флакон
6000 частиц \geq 10 мкм	156,33	31,3	322
600 частиц \geq 25 мкм	0,67	0,1	1

¹2 флакона объединены, всего 40 мл

**Таблица 17: Размер частиц технологической партии 1 (Malvern ZetaSizer Nano-ZS90)
при 25°C**

Образец	Z-среднее	PDI
	d. нм	
Верхний лоток	18,87	0,281
	18,77	0,279
	18,57	0,280
Нижний лоток	18,20	0,234
	17,85	0,228
	18,57	0,280

Технологическая партия 2

Партию соединения и уксусной кислоты 1 размером 1,681 л (1,77 кг) смешивали, отфильтровывали, заполняли и лиофилизовали, используя тот же процесс и продолжительность времени, которые указаны выше для Технологической партии 1. Общая продолжительность процесса от дозирования соединения 1 до начала лиофилизации составляла шесть часов и 53 минуты. Время до полного растворения соединения 1 было в пределах 15 минут. Целевое наполнение для партии составляло 10,3 мл/флакон (10,85 г/флакон, плотность 1,0531). Внешний вид осадка лиофильного вещества был гладким, компактным, не совсем белым и соответствовал внешнему виду технологической партии 1 и спецификациям. В **Таблице 18** приведены примеси, обнаруженные в технологической партии 2.

Таблица 18: Примеси в технологической партии 2 (% площади)

Образец	Колич. содерж. соед. 1 (мг/мл)	Колич. содерж. соед. 1 (% маркировка)	% свободного соед. А	Всего прим. (%)	% прим. RRT-0.42	% прим. RRT-054	% прим. RRT-0.83
Т=30 (до фильтрации)	49,5	99,1	н. о.	0,26			0,26
После фильтрации	50,2	100,5	0,09	0,39	0,05	0,09	0,25
В конце заполнения	50,5	101,4	0,12	0,42	0,06	0,11	0,25

Технологическая партия 3

Партию соединения и уксусной кислоты 1 размером 1,681 л (1,77 кг) смешивали, отфильтровывали, заполняли и лиофилизовали, используя тот же процесс и продолжительность времени, которые указаны выше для технологических партий 1 и 2. Общая продолжительность процесса от дозирования соединения 1 до начала лиофилизации составляла шесть часов и 47 минуты. Время до полного растворения соединения 1 было в пределах 15 минут. Целевое наполнение для партии составляло 10,3

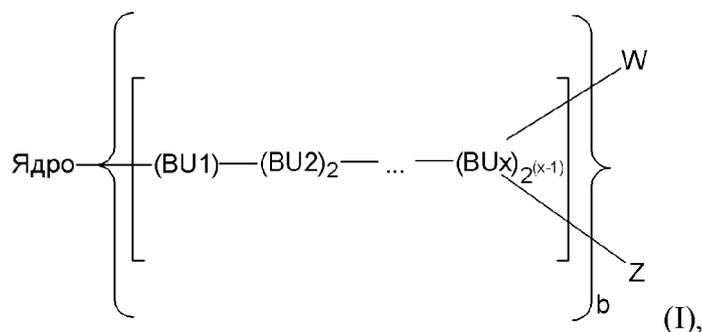
мл/флакон (10,85 г/флакон, плотность 1,0531 г/мл). Результаты были близки к 100% содержания основного вещества во всех образцах с общим содержанием примесей менее 0,5%. Внешний вид осадка лиофильного вещества в технологической партии 3 был гладким, компактным, не совсем белым и соответствовал внешнему виду технологических партий 1 и 2. В **Таблице 19** приведены примеси в технологической партии 3.

Таблица 19: Примеси в технологической партии 3 (% площади)

Образец	Колич. соед. 1 (мг/мл)	Колич. соед. 1 (% маркировка)	Колич. соед. А (мг/мл)	% свободно соед. А	Всего прим. (%)	% прим. RRT-0.42	% прим. RRT-054	% прим. RRT-0.83
Т=30 (до фильтрации)	49,9	99,8	н. о.	н. о.	0,27			0,27
После фильтрации	49,9	99,8	0,02	0,15	0,46	0,07	0,13	0,26
В конце заполнения	50,0	100,1	0,02	0,15	0,47	0,08	0,13	0,26

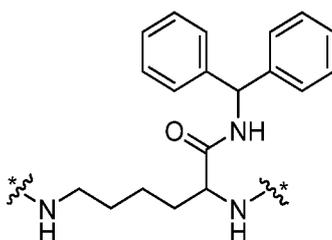
ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ
к ответу на запрос формальной экспертизы от 21.05.2021

1. Фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (I)



или его фармацевтически приемлемую соль, где:

ядро представляет собой:

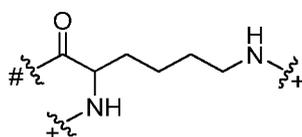


* обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом (BU1);

b составляет 2;

BU представляют собой структурные звенья;

BU_x представляют собой структурные звенья в поколении x, где общее число структурных звеньев в поколении x дендримера формулы (I) равно 2^(x), а общее число BU в дендримере формулы (I) равно (2^x-1)b; где BU характеризуется следующей структурой:



обозначает ковалентную связь с аминным фрагментом ядра или аминфрагментом BU;

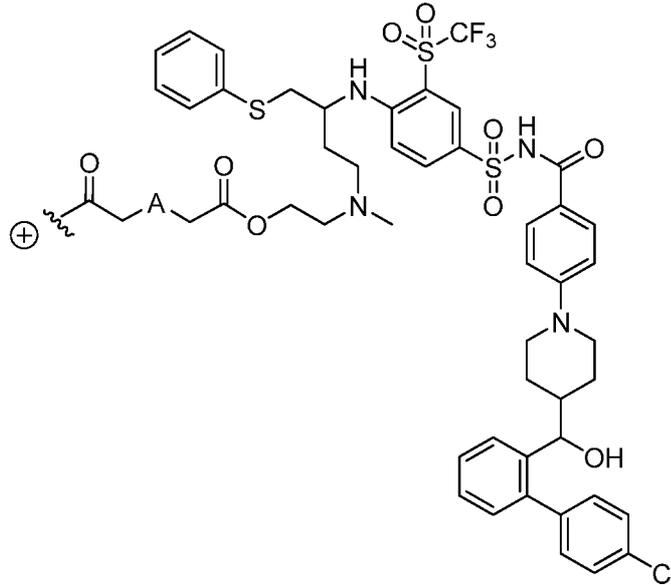
+ обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом BU или ковалентную связь с W или Z;

W независимо представляет собой (PM)_c или (H)_c;

Z независимо представляет собой (L-AA)_d или (H)_e;

PM - это PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA представляет собой линкер, присоединенный ковалентной связью к действующему веществу; где L-AA представлен формулой:



, где

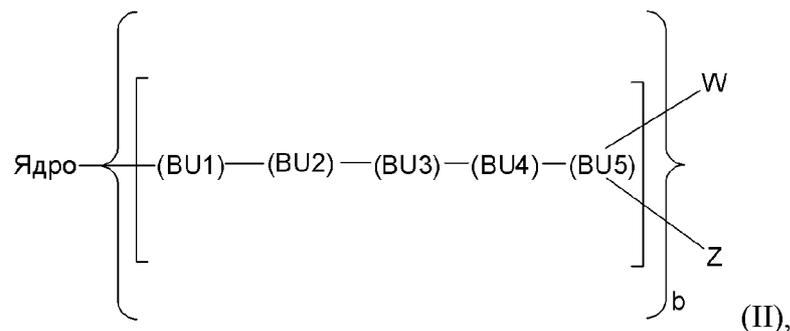
A представляет собой -N (CH₃) или -S-;

⊕ представляет собой место присоединения к аминному фрагменту BU_x;

при условии, что $(c+d) \leq (2^x)b$, а d составляет ≥ 1 ; и

при условии, что если $(c+d) < (2^x)b$, то любые оставшиеся группы W и Z представляют собой (H)_e, где e равно $[(2^x)b] - (c+d)$.

2. Фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (II):



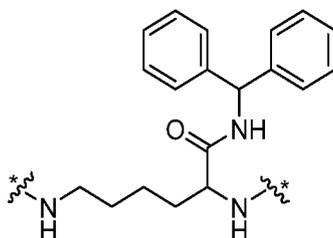
ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ

к ответу на запрос формальной экспертизы от 21.05.2021

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

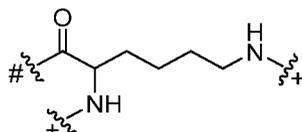
b равно 2;

ядро представляет собой:



* обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом (BU1);

BU представляют собой структурные звенья, и число BU равняется 62; где BU характеризуется следующей структурой:



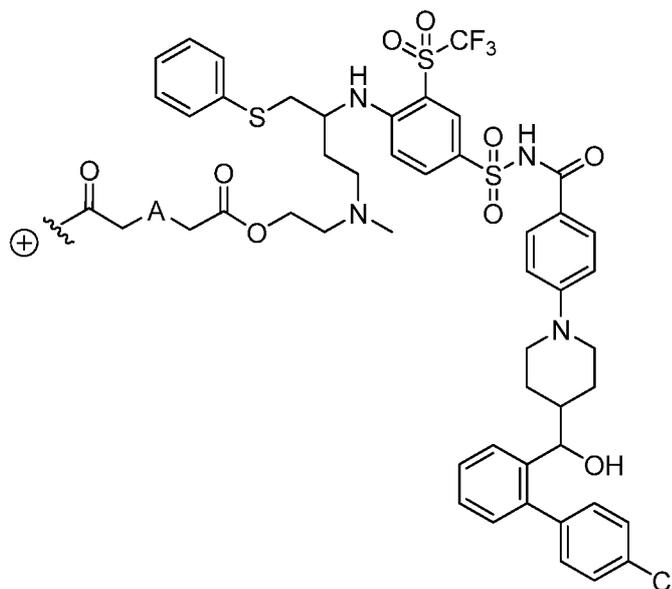
обозначает ковалентную связь с аминным фрагментом ядра или аминфрагментом BU, а + обозначает ковалентную связь с карбонильным фрагментом BU или ковалентную связь с W или Z;

W независимо представляет собой (PM)_c или (H)_e;

Z независимо представляет собой (L-AA)_d или (H)_e;

PM - это PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA представляет собой линкер, присоединенный ковалентной связью к действующему веществу; где L-AA представлен формулой:



, где

A представляет собой $-N(CH_3)$ или $-S-$;

\oplus обозначает ковалентную связь с аминным фрагментом BU5;

при условии, что $(c+d)$ составляет ≤ 64 , а d составляет ≥ 1 ; и

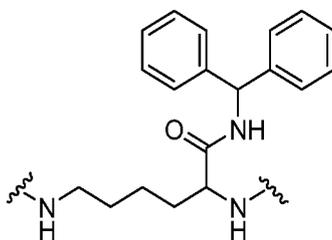
при условии, что если $(c+d) < 64$, то любые оставшиеся группы W и Z представляют собой $(H)_e$, где e составляет $64-(c+d)$.

3. Фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (III):

D-ядро-D (III),

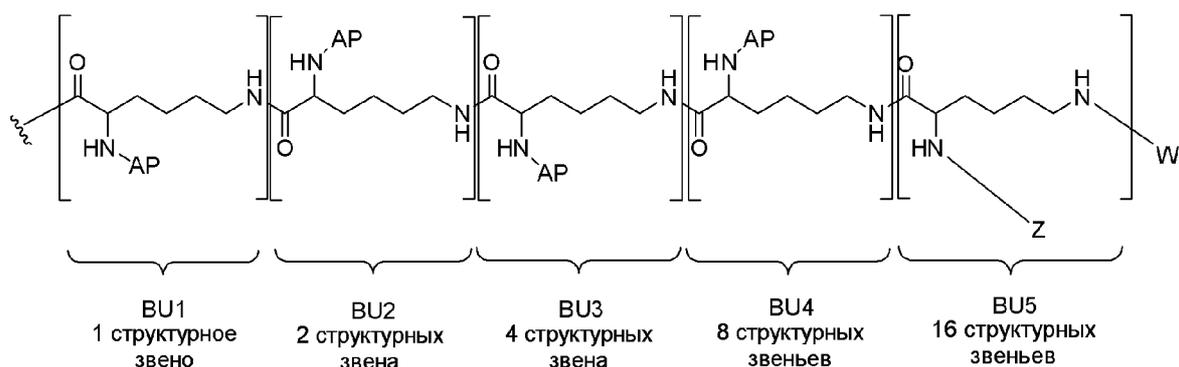
или его фармацевтически приемлемую соль, где:

ядро представляет собой:



D представляет собой

Измененная формула изобретения
к ответу на запрос формальной экспертизы от 21.05.2021



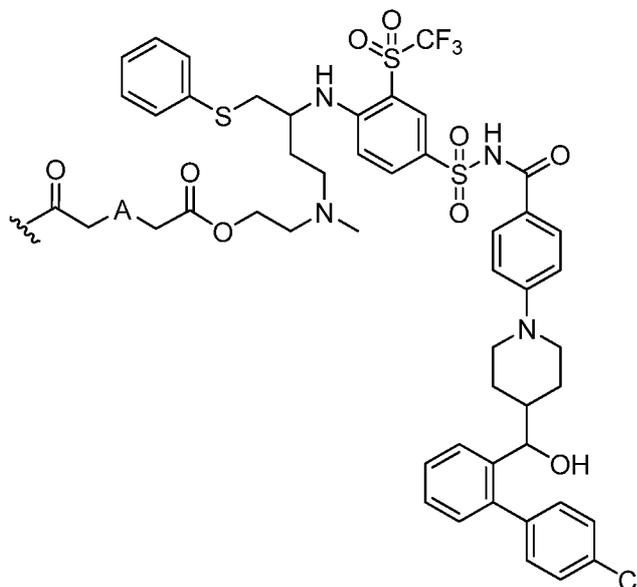
AP представляет собой положение присоединения к другому структурному звену;

W независимо представляет собой (PM)_c или (H)_e;

Z независимо представляет собой (L-AA)_d или (H)_e;

PM - это PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA представляет собой линкер, присоединенный ковалентной связью к действующему веществу; где L-AA представлен формулой:



, где

A представляет собой -N(CH₃), -O-, -S- или -CH₂-;

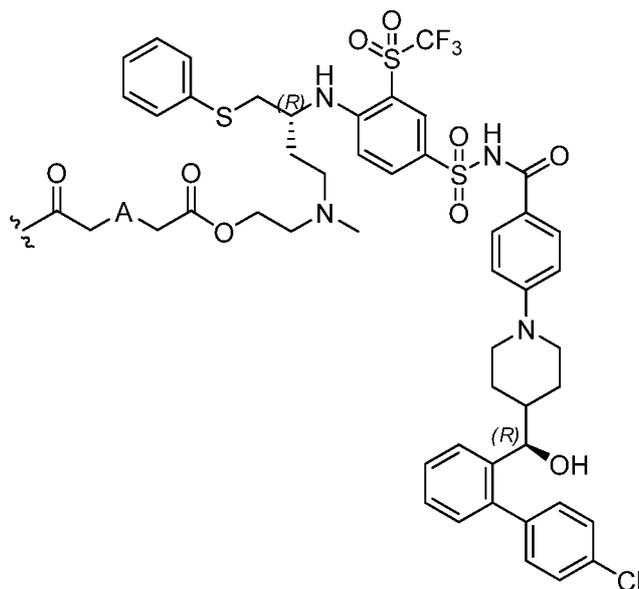
при условии, что если (c+d) < 64, то любые оставшиеся группы W и Z представляют собой (H)_e, где e равно 64-(c+d); а d принимает значения ≥ 1.

4. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-3, где А представляет собой –О–.
5. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-3, где А представляет собой –S–.
6. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-5, где PEG характеризуется средней молекулярной массой от примерно 2000 до примерно 2200 Да.
7. Фармацевтический состав по п. 6, где PEG характеризуется средней молекулярной массой примерно 2150 Да.
8. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-7, где с является целым числом от 25 до примерно 32.
9. Фармацевтический состав по п. 8, где с является целым числом от 29 до 32.
10. Фармацевтический состав по п. 9, где с является целым числом от 29 до 30.
11. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-10, где d является целым числом от 25 до 32.
12. Фармацевтический состав по п. 11, где d является целым числом от 29 до 32.
13. Фармацевтический состав по п. 12, где d равно 32.
14. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-13, где (с+d) соответствует целому числу от 50 до 64.
15. Фармацевтический состав по п. 14, где (с+d) соответствует целому числу от 58 до 64.

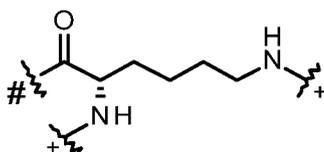
16. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-15, где e является целым числом от 0 до 14.

17. Фармацевтический состав по п. 16, где e является целым числом от 0 до 6.

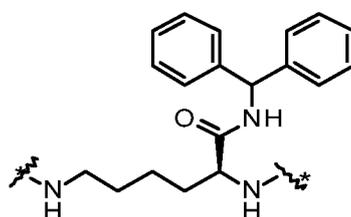
18. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-17, где L-AA представляет собой



19. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-18, где BU представляет собой

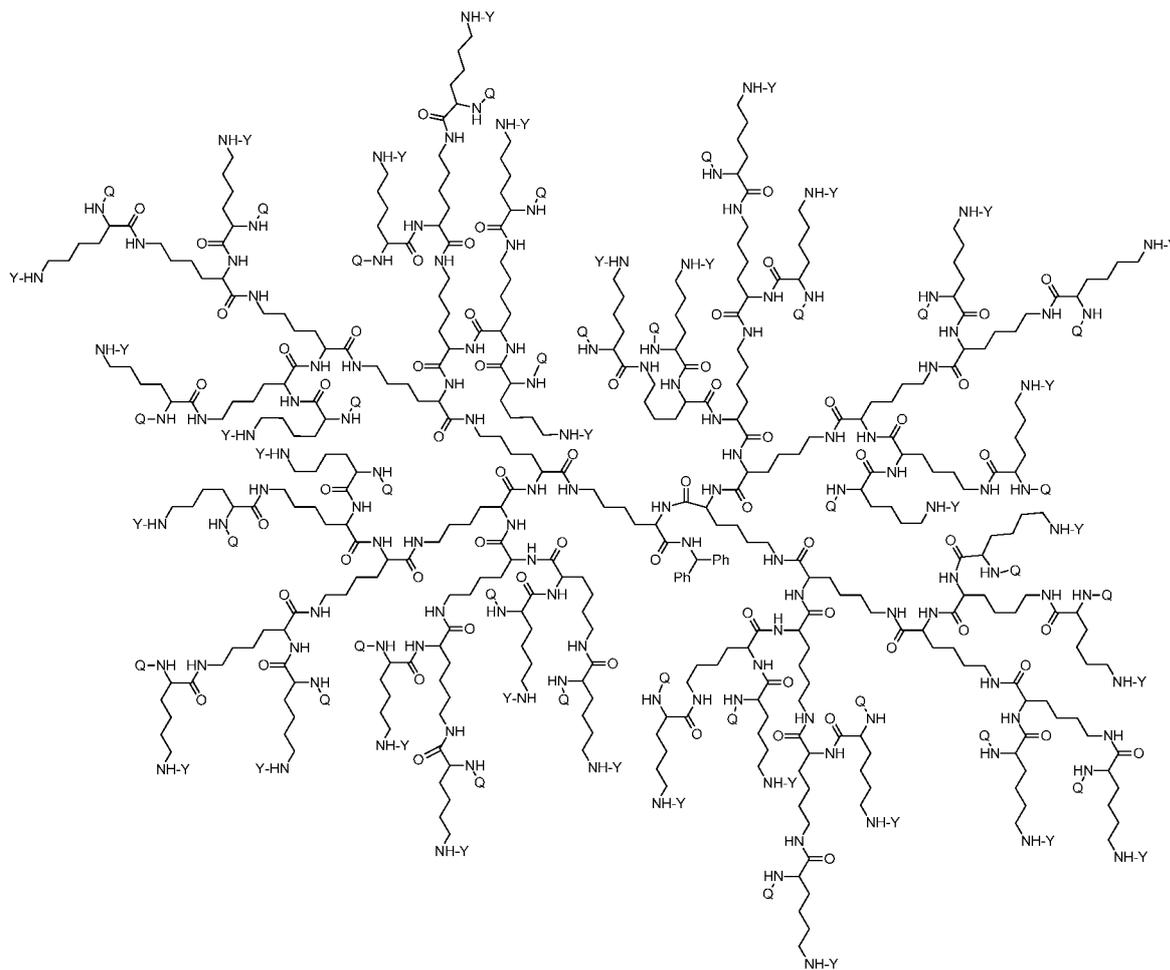


20. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-19, где ядро представляет собой

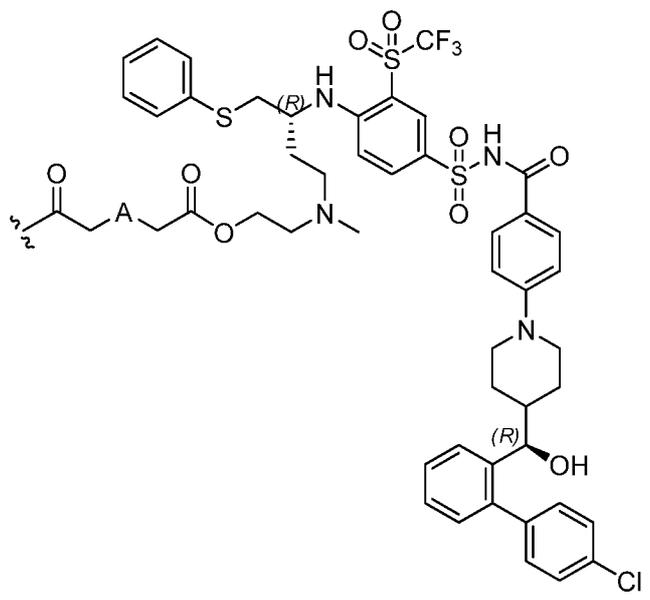


21. Фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (IV):

Измененная формула изобретения
к ответу на запрос формальной экспертизы от 21.05.2021



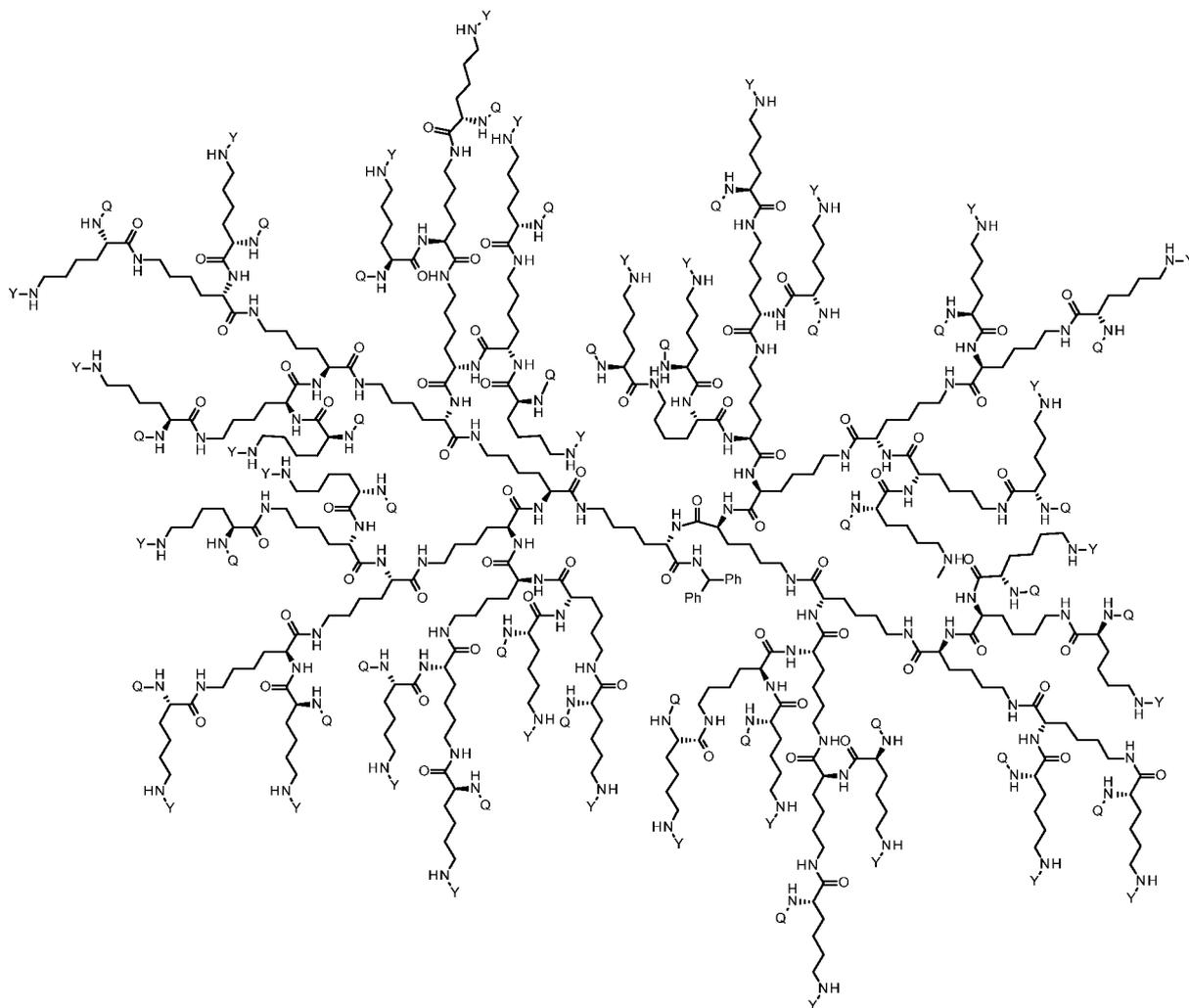
(IV), или его фармацевтически приемлемую соль, где Y представляет собой PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ или H; Q представляет собой H или L-AA, в котором L-AA характеризуется структурой:



A представляет собой -S- или -N(CH₃), при условии, что сумма PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ и L-AA меньше 64, оставшиеся фрагменты Q и Y представляют собой H, и при условии, что по меньшей мере один Q представляет собой L-AA.

22. Фармацевтический состав, содержащий лиофилизированный дендример формулы (V):

Измененная формула изобретения
к ответу на запрос формальной экспертизы от 21.05.2021

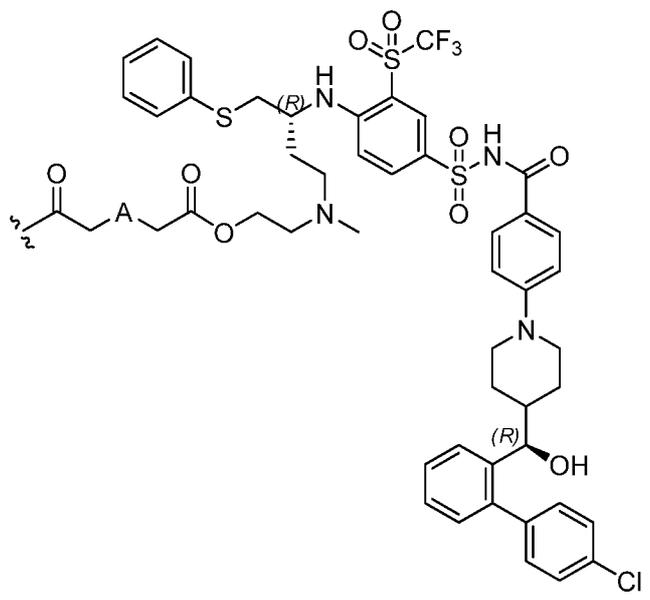


(V),

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

Y представляет собой PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ или H,

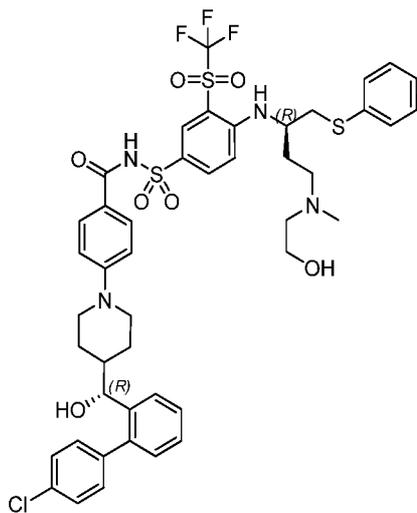
Q представляет собой H или L-AA, где L-AA характеризуется структурой:



A представляет собой –S- или –N(CH₃), при условии, что сумма PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ и L-AA меньше 64, оставшиеся фрагменты Q и Y представляют собой H, и при условии, что по меньшей мере один Q представляет собой L-AA.

23. Фармацевтический состав по п. 21 или п. 22, где A представляет собой –S-.
24. Фармацевтический состав по п. 21 или п. 22, где A представляет собой –N(CH₃).
25. Фармацевтический состав по любому из пп. 21-24, где сумма PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ и L-AA является целым числом от 50 до 64.
26. Фармацевтический состав по п. 25, где сумма PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ и L-AA является целым числом от 58 до 64.
27. Фармацевтический состав по любому из пп. 21-26, где дендример содержит от 25 до 32 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀.
28. Фармацевтический состав по п. 27, где дендример содержит от 29 до 32 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀.

29. Фармацевтический состав по любому из пп. 21-28, где дендример содержит от 25 до 32 L-AA.
30. Фармацевтический состав по п. 29, где дендример содержит от 29 до 32 L-AA.
31. Фармацевтический состав по любому из пп. 21-30, где дендример содержит от 0 до 14 атомов водорода в положениях Q и/или Y.
32. Фармацевтический состав по п. 31, где дендример содержит от 0 до 6 атомов водорода в положениях Q и/или Y.
33. Фармацевтический состав по любому из пп. 21-32, где PEG характеризуется средней молекулярной массой от примерно 2000 до 2200 Да.
34. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-33, где PEG характеризуется PDI от примерно 1,00 до 1,10.
35. Фармацевтический состав по п. 34, где PEG характеризуется PDI, равным примерно 1,05.
36. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-35, где дендример характеризуется молекулярной массой от примерно 90 до 120 кДа.
37. Фармацевтический состав по п. 36, где дендример характеризуется молекулярной массой от примерно 103 до 107 кДа.
38. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-37, где AA представляет собой соединение А:



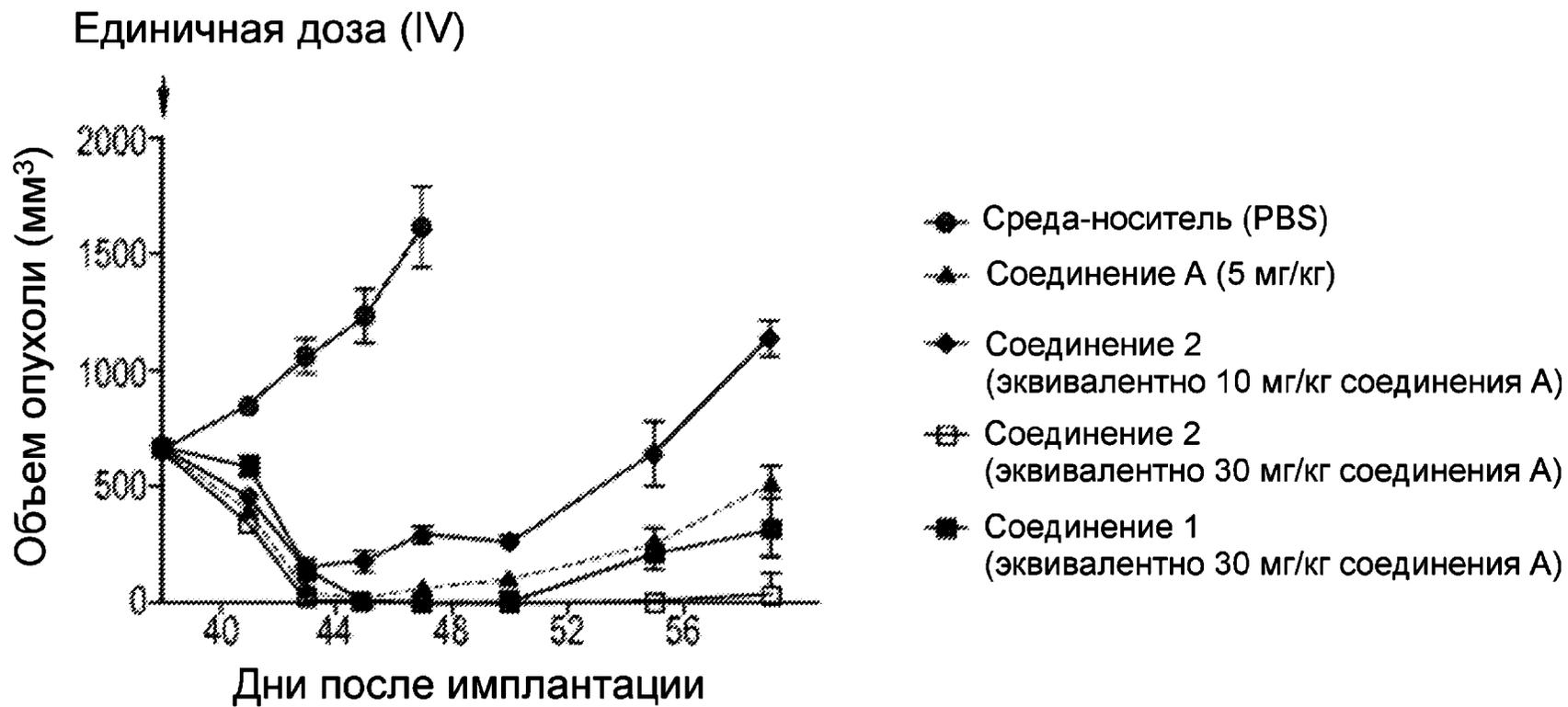
(соединение А).

39. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-37, где рН фармацевтического состава составляет от примерно 4,0 до примерно 6,0.
40. Фармацевтический состав по п. 39, где рН фармацевтического состава составляет от примерно 4,8 до примерно 5,6.
41. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-40, где фармацевтический состав содержит примерно 90-110% дендримера формулы (I), (II), (III), (IV) или (V) согласно количественному анализу относительно эталона известной чистоты.
42. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-41, где фармацевтический состав характеризуется чистотой не ниже 85% согласно данным анализа с помощью SEC-UV.
43. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-42, где суммарная массовая доля примесей в фармацевтическом составе составляет менее примерно 3%.
44. Фармацевтический состав по п. 43, где массовая доля свободного соединения А в фармацевтическом составе составляет $\leq 1,0\%$.
45. Фармацевтический состав по п. 43, где массовая доля любой одной необозначенной примеси в фармацевтическом составе составляет $\leq 0,5\%$.

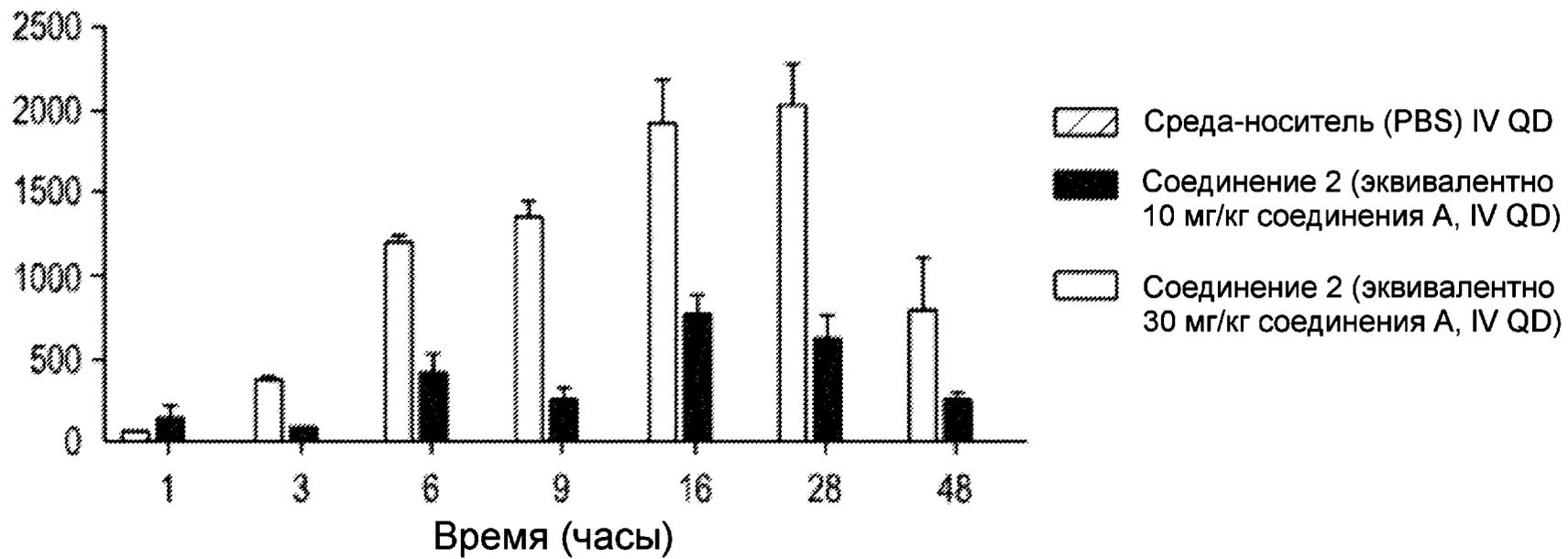
46. Фармацевтический состав по п. 43, где суммарная массовая доля свободных примесей в фармацевтическом составе составляет $\leq 1,2\%$.
47. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-46, где массовая доля уксусной кислоты в фармацевтическом составе составляет менее 1,5%.
48. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-46, где средний размер частицы в фармацевтическом составе, измеренный методом динамического светорассеяния (ДРС), составляет от примерно 15 до примерно 25 нм в диаметре.
49. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-48, где фармацевтический состав характеризуется PDI, измеренным методом ДРС, от примерно 0,20 до примерно 0,30.
50. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-49, где фармацевтический состав содержит не более чем примерно 6000 частиц размером больше или равным примерно 10 мкм на 50 мл контейнер при восстановлении в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе.
51. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-49, где фармацевтический состав содержит не более чем примерно 600 частиц размером больше или равным примерно 25 мкм на 50 мл контейнер при восстановлении в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе.
52. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-51, где осмоляльность фармацевтического состава составляет от примерно 200 до примерно 400 мОсмоль/кг при восстановлении в фармацевтически приемлемом разбавителе или растворителе.
53. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-52, где фармацевтический состав содержит не более чем примерно 0,06 ЕЭ/мл.

54. Фармацевтический состав, содержащий лиофилизированное соединение формулы (I), (II), (III), (IV) или (V), полученное способом, включающим стадии растворения соединения формулы (I), (II), (III), (IV) или (V) в ледяной уксусной кислоте с образованием раствора, сублимационную сушку раствора и вымораживание уксусной кислоты при пониженном давлении.
55. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-54, где массовая доля уксусной кислоты в фармацевтическом составе составляет не более 5%.
56. Фармацевтический состав по п. 55, где содержание воды в уксусной кислоте составляет менее чем примерно 200 м.д.
57. Способ лечения рака, включающий внутривенное введение субъекту, нуждающемуся в этом, фармацевтического состава по любому из пп. 1-56 или его фармацевтически приемлемой соли и фармацевтически приемлемого разбавителя или растворителя
58. Применение фармацевтического состава по любому из пп. 1-56 для лечения рака.
59. Применение фармацевтического состава по любому из пп. 1-56 в производстве лекарственного средства для лечения рака.
60. Набор, состоящий из одного или нескольких контейнеров, содержащих фармацевтический состав согласно любому из пп. 1-56 и инструкции по применению.
61. Набор по п. 60, где набор дополнительно включает один или несколько контейнеров с фармацевтически приемлемым разбавителем или растворителем.
62. Набор по п. 59, где разбавитель или растворитель содержит цитратный буферный раствор.

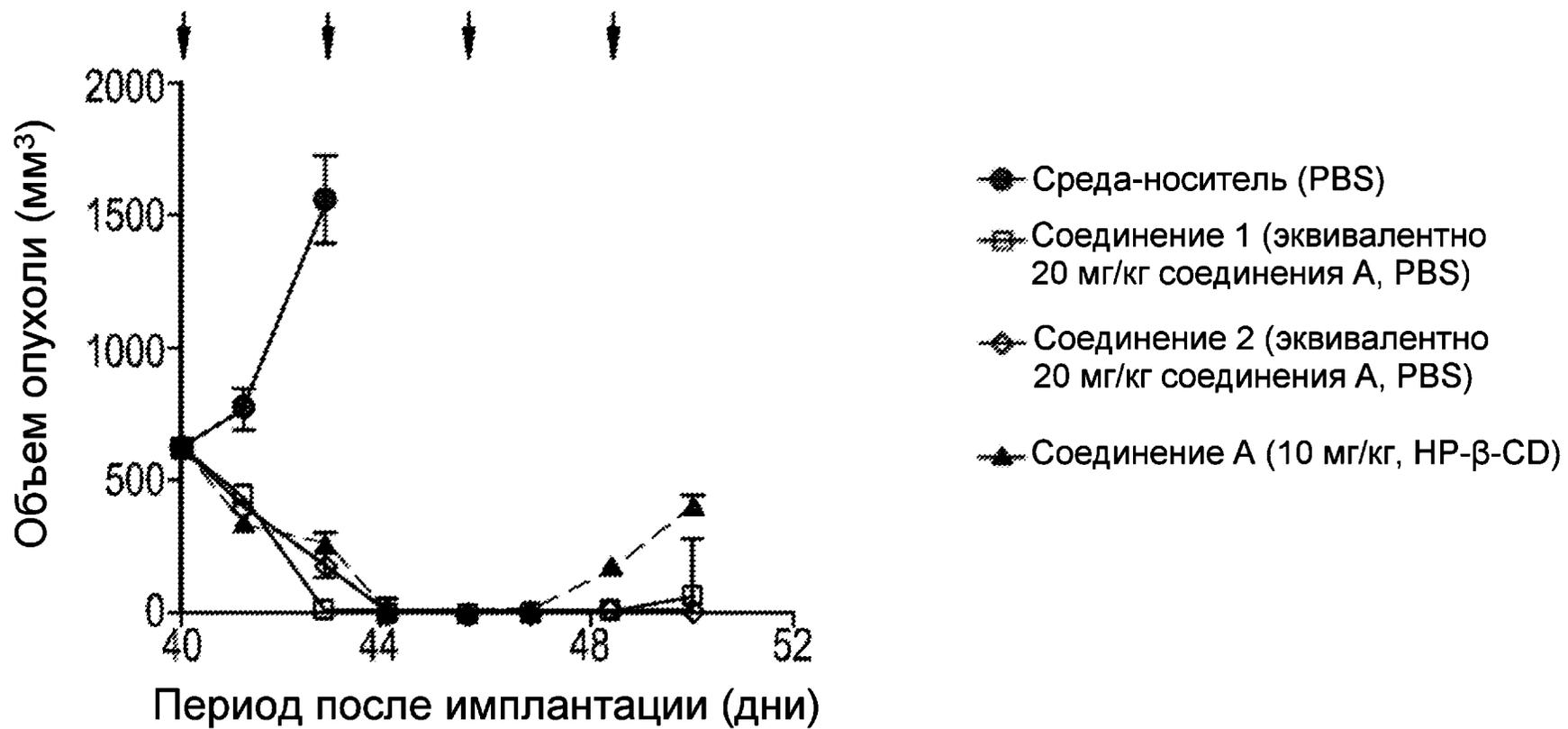
63. Набор по п. 59, где разбавитель или растворитель содержит ацетатный буферный раствор.



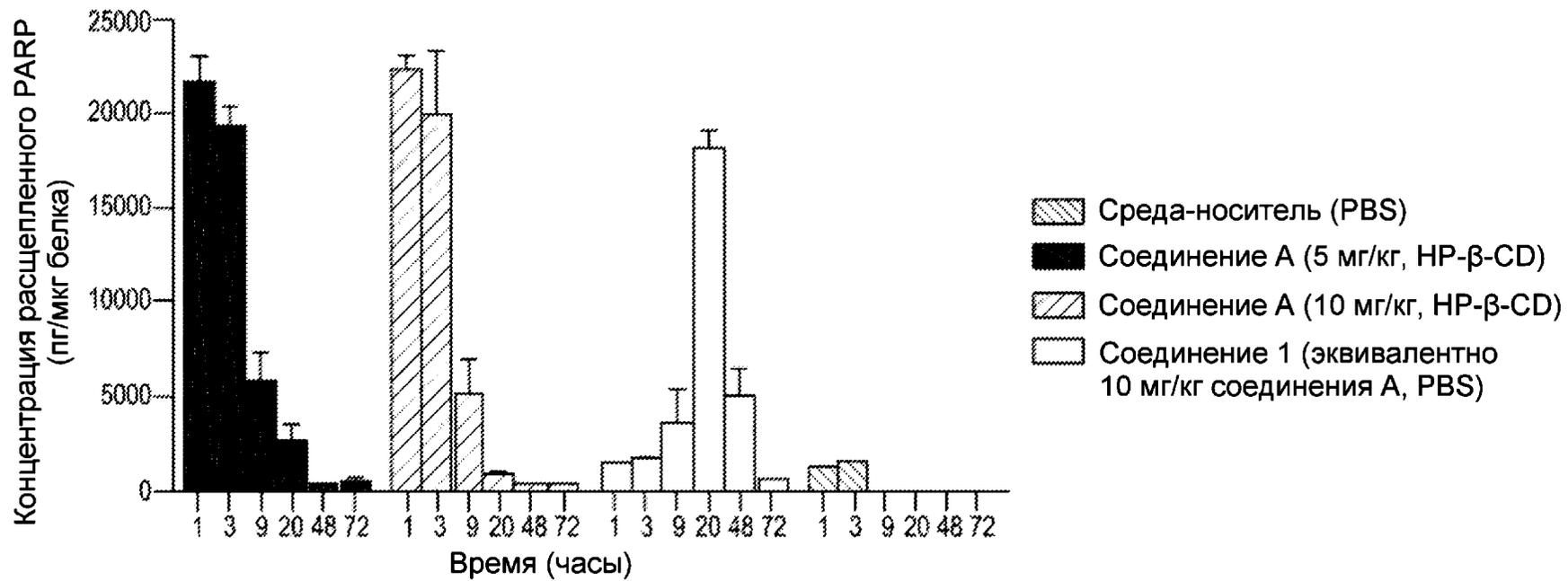
Фигура 1



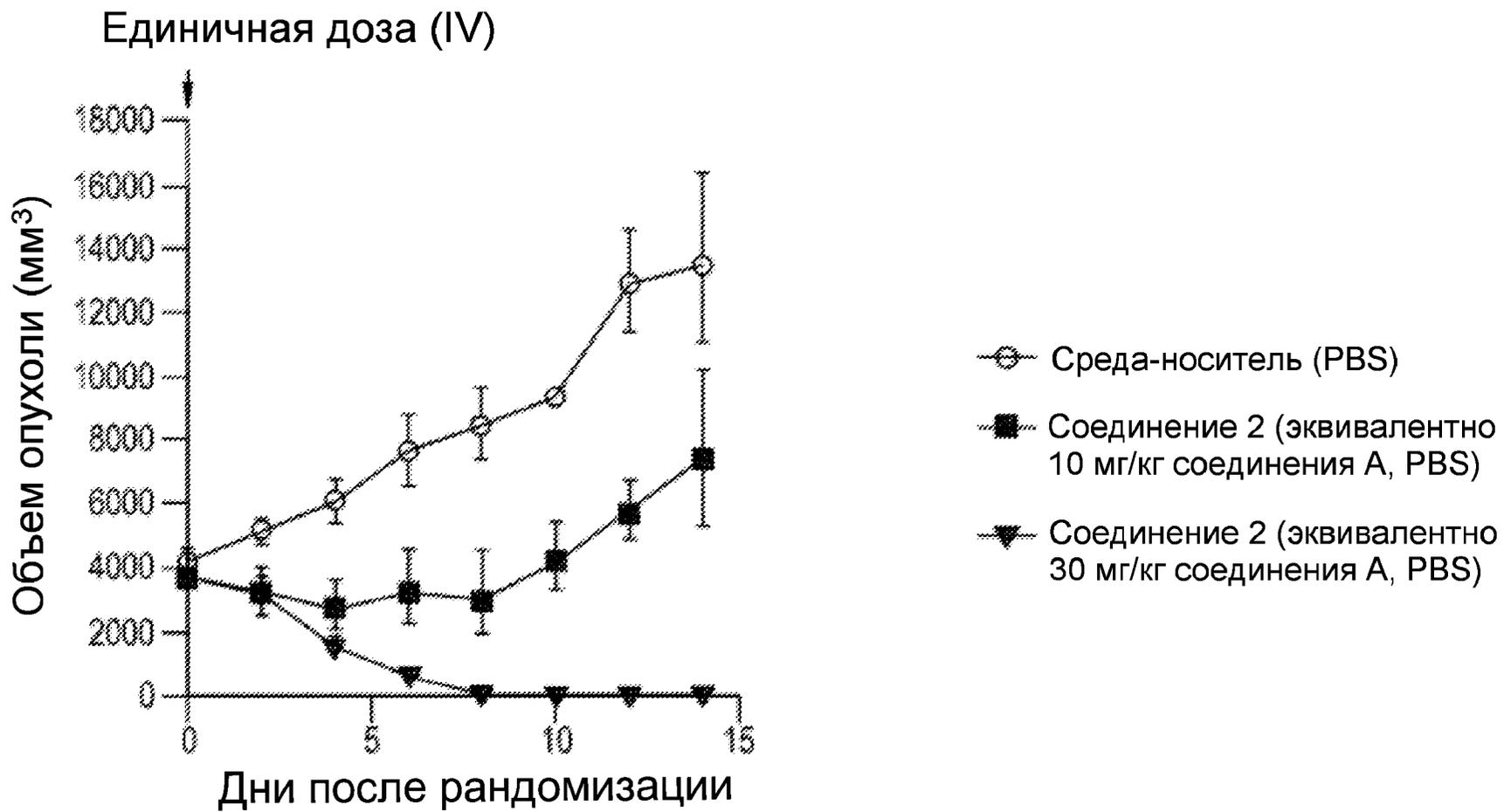
Фигура 2



Фигура 3

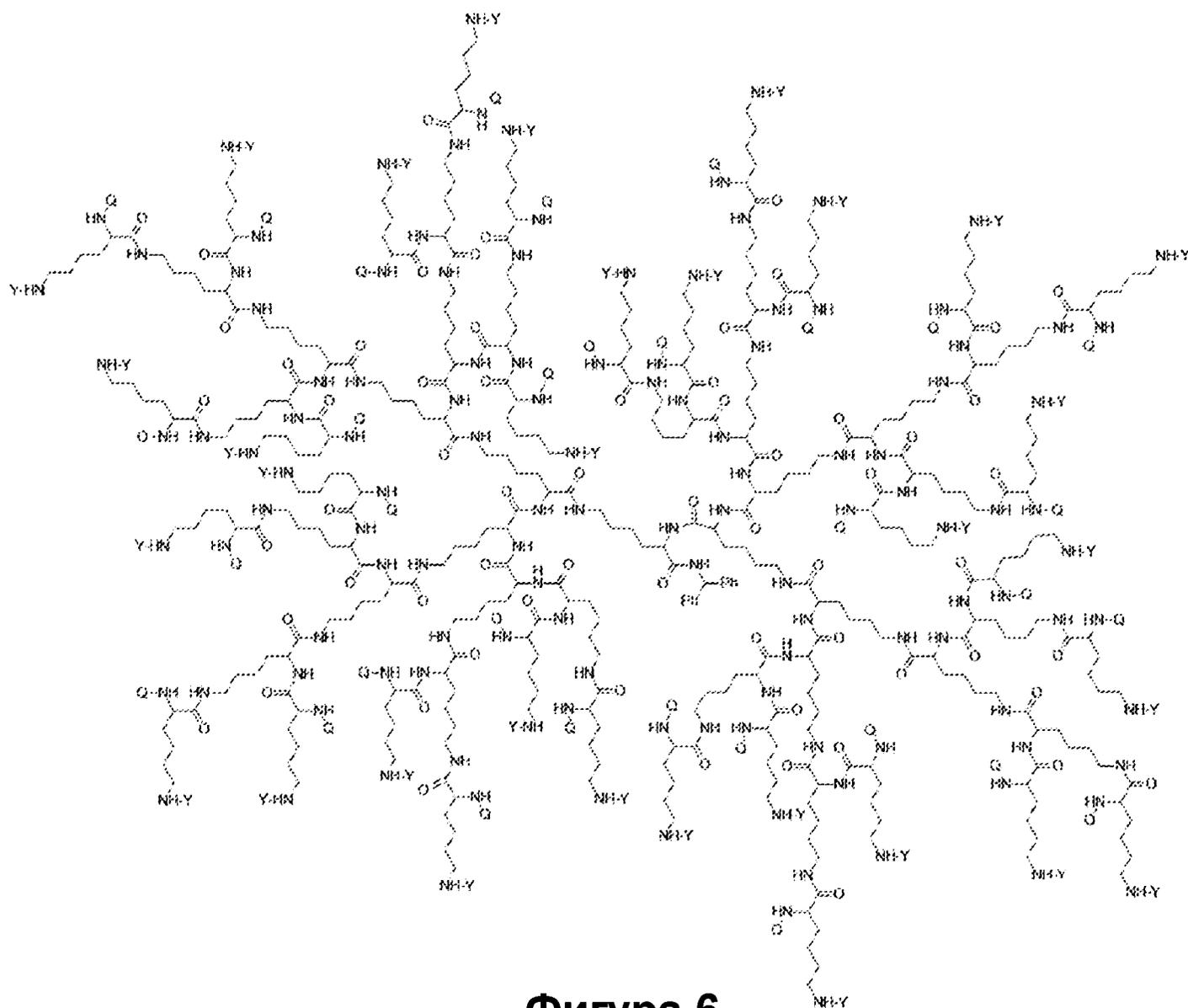


Фигура 4

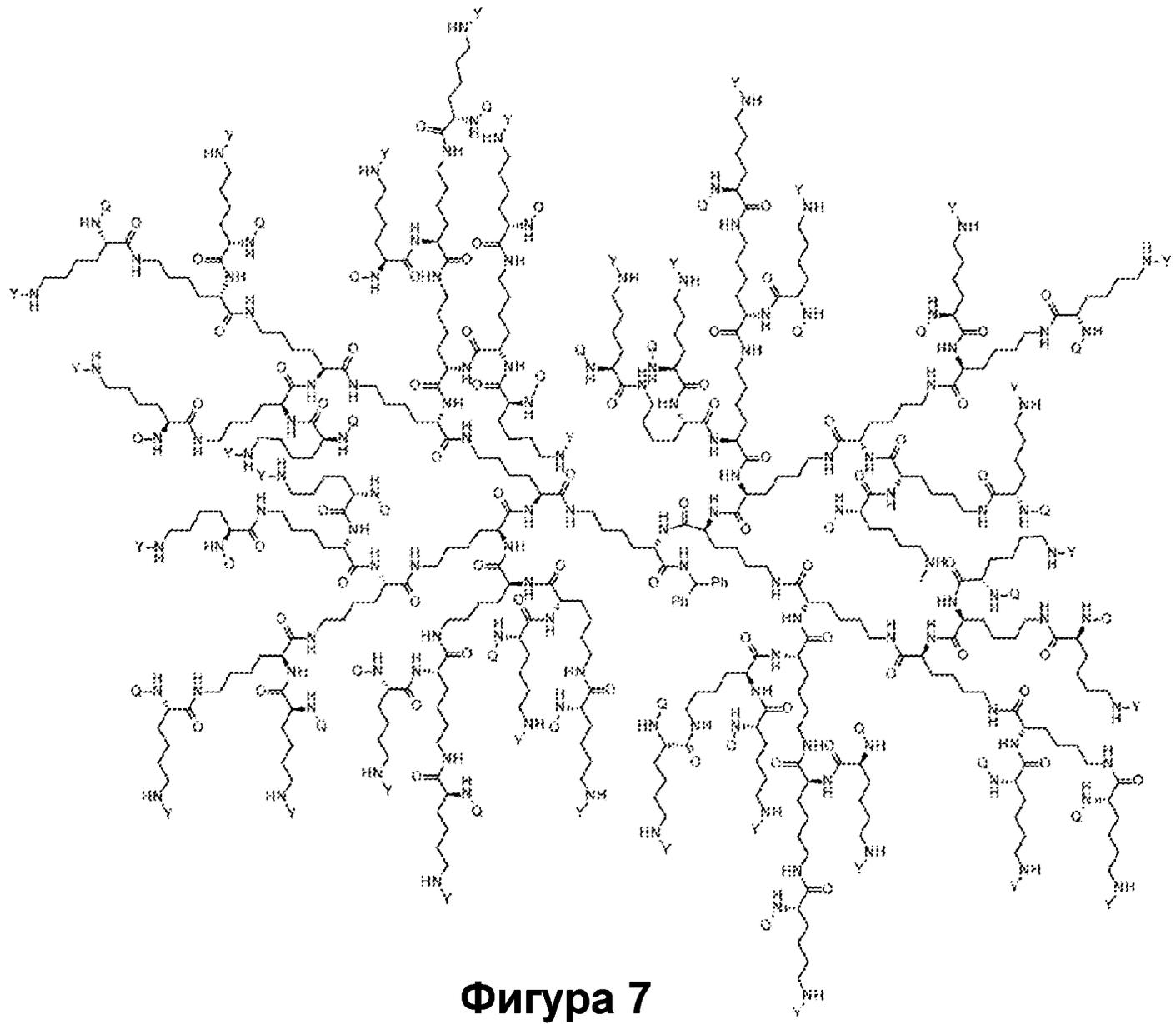


5/10

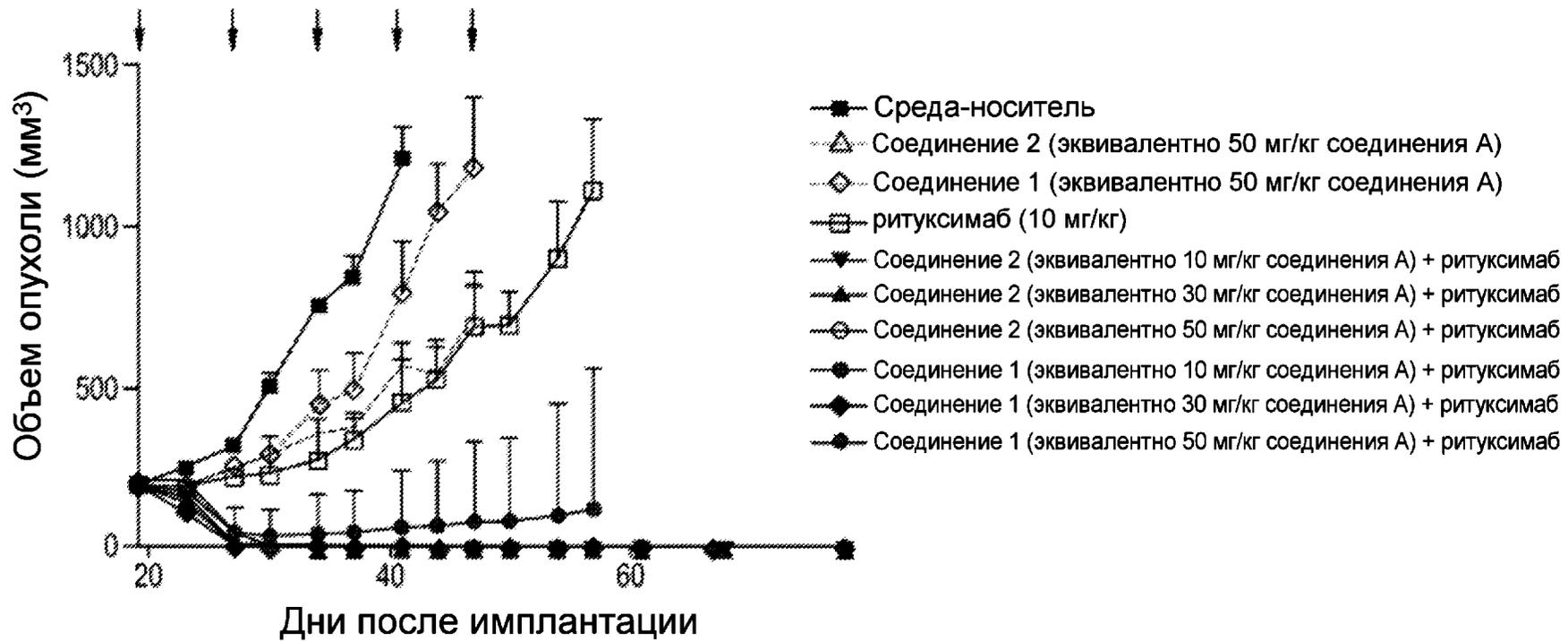
Фигура 5



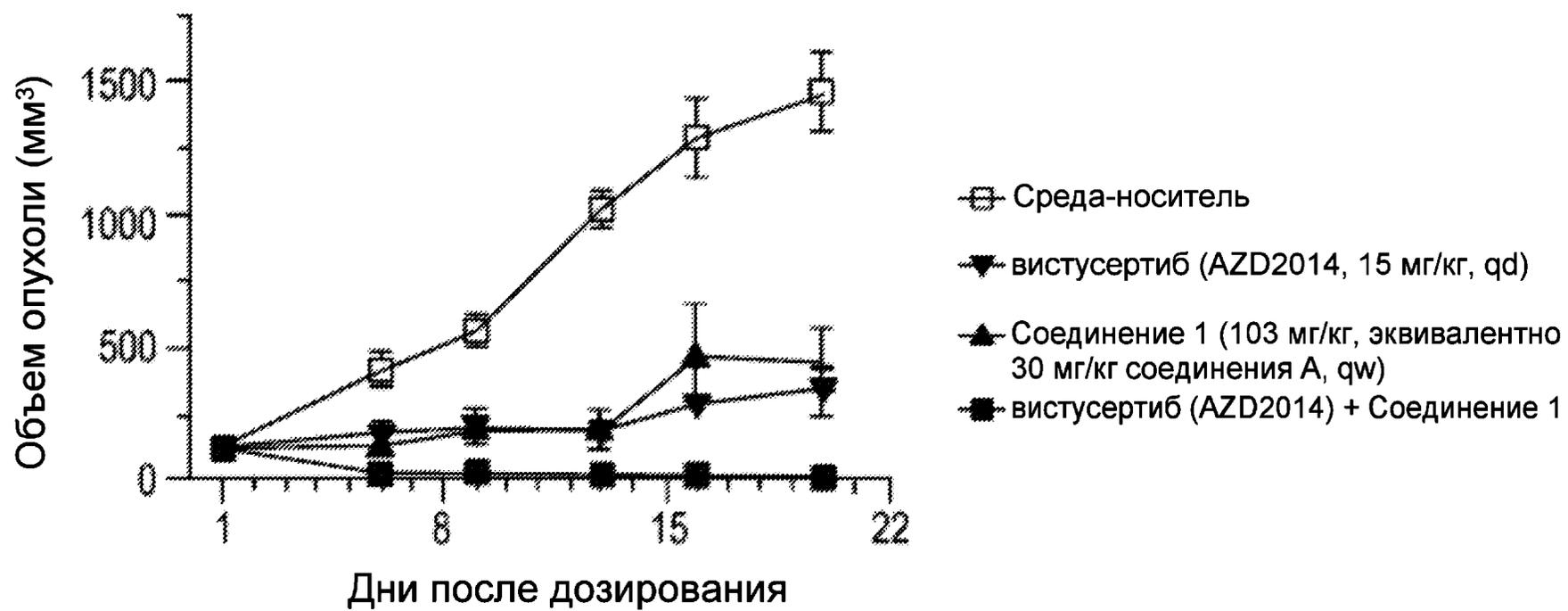
Фигура 6



Фигура 7

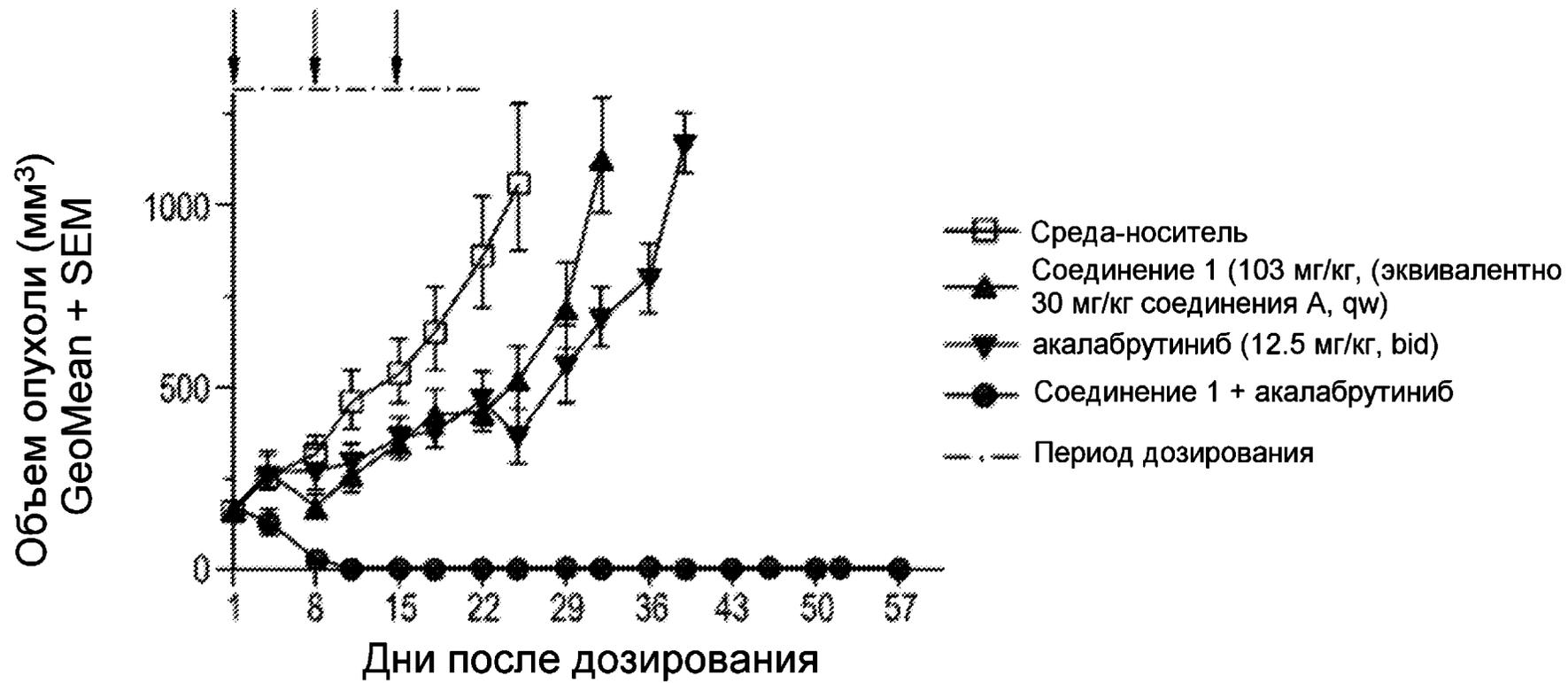


Фигура 8



9/10

Фигура 9



Фигура 10