

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202391372** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2023.07.19

(51) Int. Cl. *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/395 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.11.09

(54) **МАКРОЦИКЛИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(31) 63/111,933

(32) 2020.11.10

(33) US

(86) PCT/IB2021/060350

(87) WO 2022/101771 2022.05.19

(71) Заявитель:
ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Солтер Рис, Дудкин Вадим Й., Сун
Фэнбинь, Чжан Вэй, Голдберг Шалом,
Кит Джон (US)

(74) Представитель:

Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к соединениям и их фармацевтически приемлемым солям, их иммуноконъюгатам, радиоактивным иммуноконъюгатам; фармацевтическим композициям, содержащим указанные соединения и их иммуноконъюгаты, радиоактивные иммуноконъюгаты; и применению указанных соединений и их иммуноконъюгатов, радиоактивных иммуноконъюгатов при лечении неопластических заболеваний или расстройств.

A1

202391372

202391372

A1

МАКРОЦИКЛИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

5 **ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА СМЕЖНЫЕ ЗАЯВКИ**

Данная заявка испрашивает преимущество предварительной заявки на патент США № 63/111,933, поданной 10 ноября 2020 г., которая полностью и для всех целей включена в настоящий документ путем ссылки.

10 **ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПОДАННЫЙ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ**

Данная заявка содержит перечень последовательностей, который подается в электронном виде посредством EFS-Web как перечень последовательностей в формате ASCII с именем файла JBI6417WOPCT1_SeqListing.txt, датой создания 26 октября 15 2021 г. и размером 26 Кб. Перечень последовательностей, представленный посредством EFS-Web, является частью описания и полностью включен в настоящий документ путем ссылки.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

20 Настоящее изобретение относится к соединениям (макроциклическим соединениям) и их фармацевтически приемлемым солям, иммуноконъюгатам, их радиоактивным иммуноконъюгатам, фармацевтическим композициям, содержащим указанные соединения и иммуноконъюгаты, их радиоактивные иммуноконъюгаты, и 25 применению указанных соединений и иммуноконъюгатов, их радиоактивных иммуноконъюгатов при лечении неопластических заболеваний или расстройств.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Радионуклиды, испускающие альфа-частицы, демонстрируют большие перспективы для лечения рака благодаря комбинации высокой линейной передачи 30 энергии с небольшим радиусом действия, что обеспечивает возможность эффективного уничтожения, которое в основном локализуется в опухолевых клетках (Kim, Y.S. and M.W. Brechbiel, An overview of targeted alpha therapy. *Tumour Biol*, 2012. 33(3): p. 573–90). Целевая доставка альфа-излучателей с использованием антитела, каркасного белка, низкомолекулярного лиганда, аптамера или другого связывающего фрагмента,

специфического к раковому антигену, обеспечивает способ селективной доставки радионуклида в опухоли для повышения их эффективности и ослабления побочных эффектов. В общепринятой практике связывающий фрагмент присоединен к хелатору, который связывается с альфа-излучающим радиоактивным металлом с образованием радиоактивного комплекса. Во многих таких примерах для получения того, что известно как радиоактивный иммуноконъюгат, используют моноклональное антитело (мАт) в качестве нацеливающего вектора.

Актиний-225 (^{225}Ac) представляет собой альфа-излучающий радиоизотоп, который представляет особый интерес для применения в медицинских целях (Miederer et al., Realizing the potential of the Actinium-225 radionuclide generator in targeted alpha particle therapy applications. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008. 60(12):71–82). 10-суточный период полураспада ^{225}Ac достаточно велик, чтобы облегчить получение радиоактивного конъюгата, но является достаточно коротким, чтобы соответствовать фармакокинетике циркуляции средств доставки, таких как антитела, и, следовательно, радиоактивные иммуноконъюгаты ^{225}Ac представляют особый интерес. Кроме того, ^{225}Ac распадается за несколько стадий так, что в конечном итоге перед образованием стабильного изотопа ^{209}Bi испускаются 4 альфа-частицы на каждый распад ^{225}Ac , в результате чего увеличивается эффективность. Другой радиоизотоп, представляющий интерес для применения в медицинских целях, представляет собой лютеций-177 (^{177}Lu), который испускает как гамма-излучение, подходящее для визуализации, так и бета-излучение средней энергии, подходящее для лучевой терапии. Было показано, что ^{177}Lu -меченные пептиды демонстрируют уменьшенное повреждение нормальной ткани и что ^{177}Lu -мечение позволяет использовать один радиоактивно меченный агент как для терапии, так и для визуализации (Kwekkeboom DJ, et al. [^{177}Lu -DOTA⁰, Tyr³]octreotate: comparison with [^{111}In -DTPA⁰]octreotide in patients. *Eur J Nucl Med*. 2001;28: p. 1319–1325). Другие радиоизотопы, которые используются для применения в терапевтических целях, включают, например, бета- или альфа-излучатели, такие как, например, ^{32}P , ^{47}Sc , ^{67}Cu , ^{77}As , ^{89}Sr , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}Ag , ^{131}I , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{153}Sm , ^{159}Gd , ^{165}Dy , ^{166}Ho , ^{169}Er , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{194}Ir , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{255}Fm и ^{227}Th . Другие радиоизотопы, которые используют для визуализации, включают гамма- и/или позитрон-излучающие радиоизотопы, такие как, например, ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{86}Y , ^{89}Zr и ^{111}In .

В настоящее время наиболее широко используемым хелатором для актиния-225 и лантанидов является DOTA (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная

кислота; тетракетан); в предшествующих программах клинических и доклинических исследований, как правило, использовали 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусную кислоту (DOTA) для хелатирования актиния. Однако известно, что хелатирование актиния с использованием DOTA может представлять собой сложную задачу (Deal, K. A., et al., Improved *in vivo* stability of actinium-225 macrocyclic complexes. *J Med Chem*, 1999. 42(15): p. 2988-92). Например, при присоединении к нацеливающим лигандам, таким как белки или антитела, DOTA обеспечивает соотношение для DOTA : актиний-225 по меньшей мере > 500 : 1 для хелатирования и часто требует жестких условий или высоких уровней DOTA на антитело. Другие макроциклические хелаты для лантанидов и актиния-225 описаны, например, в публикации международной заявки на патент WO 2018/183906; Thiele et al. An Eighteen-Membered Macrocyclic Ligand for Actinium-225 Targeted Alpha Therapy *Angew. Chem. Int. Ed.* (2017) 56, 14712-14717; Roca-Sabio et al. Macrocyclic Receptor Exhibiting Unprecedented Selectivity for Light Lanthanides, *J. Am. Chem. Soc.* (2009) 131, 3331-3341.

Сайт-специфичность стала наиболее важным направлением в разработке конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC) (Agarwal, P. and C.R. Bertozzi, Site-specific antibody-drug conjugates: the nexus of bioorthogonal chemistry, protein engineering, and drug development, *Bioconjug Chem*, 2015. 26(2): p. 176-92), поскольку было продемонстрировано, что как эффективность, так и безопасность ADC могут быть повышены с помощью способов сайт-специфической конъюгации по сравнению со случайной конъюгацией. Считается, что для радиоактивных иммуноконъюгатов могут быть достигнуты аналогичные преимущества в отношении безопасности и эффективности.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

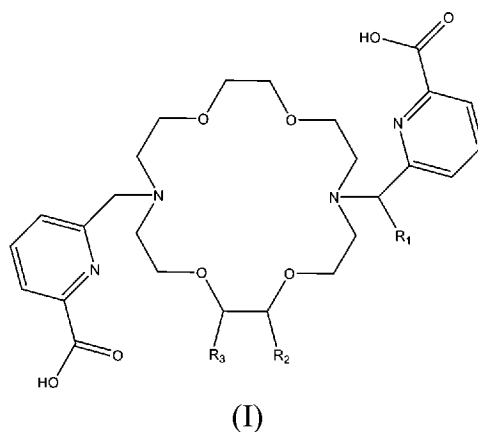
Соответственно, в данной области существует потребность в новых соединениях, которые связывают радиоактивные металлы, предпочтительно альфа-излучающие радиоактивные металлы, такие как актиний-225 (^{225}Ac), и которые можно использовать для получения стабильных радиоактивных иммуноконъюгатов с высокой удельной радиоактивностью и высоким выходом. Настоящее изобретение удовлетворяет эту потребность, поскольку в нем предложены макроциклические соединения, способные связывать радиоактивные металлы, такие как альфа-излучающие радиоактивные металлы, например ^{225}Ac , независимо от удельной радиоактивности или содержания наиболее распространенных примесей металлов, а

также способности хелатировать используемый в визуализации радиоактивный металл, например ^{134}Ce . Соединения изобретения можно использовать для получения радиоактивных иммуноконъюгатов, имеющих высокую стабильность *in vitro* и *in vivo*, путем конъюгации с нацеливающим лигандом, таким как антитело, белок, аптамер и т. д., предпочтительно сайт-специфическим образом с использованием «клик-реакций».

Радиоактивные иммуноконъюгаты, полученные путем конъюгации соединений изобретения с нацеливающим лигандом, можно использовать для нацеленной радиотерапии, например для целевой радиотерапии неопластической клетки и/или целенаправленного лечения неопластического заболевания или неопластической патологии, включая рак.

Изобретения охватывают соединения, способные образовывать комплексы с радиоактивным металлом, комплексами радиоактивных металлов и радиоактивными иммуноконъюгатами, как описано в настоящем документе.

В дополнительном варианте осуществления изобретение представляет собой соединение формулы (I):



или его фармацевтически приемлемую соль, где:

R_1 представляет собой водород, а R_2 представляет собой $-L_1-R_4$;

альтернативно R_1 представляет собой $-L_1-R_4$, а R_2 представляет собой водород;

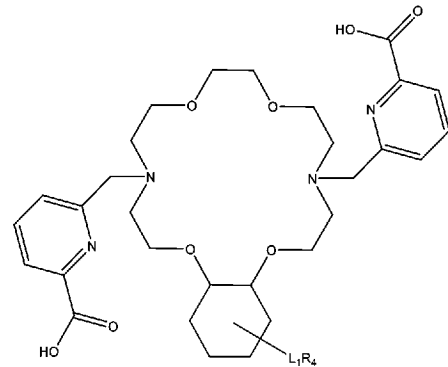
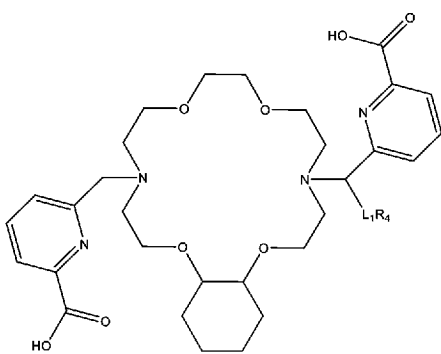
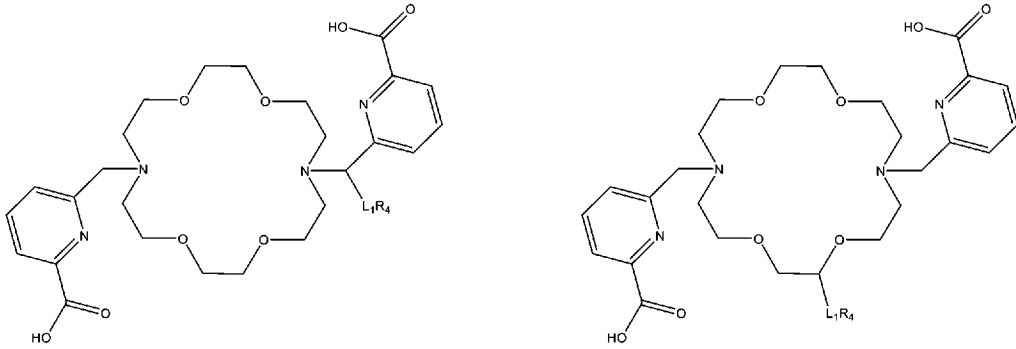
R_3 представляет собой водород;

альтернативно R_2 и R_3 , взятые вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил, причем 5- или 6-членный циклоалкил необязательно замещен $-L_1-R_4$;

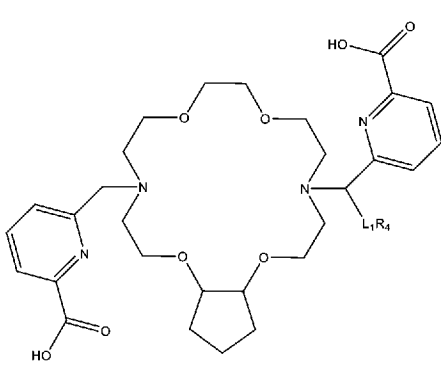
L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

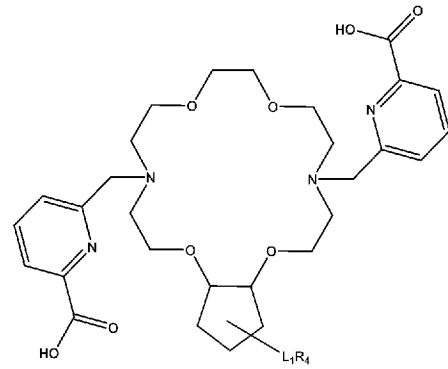
В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к одному или более соединениям, независимо выбранным из группы, состоящей из:



5



И



где

L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

10 R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

В определенных вариантах осуществления R_4 представляет собой $-NH_2$, $-NCS$, $-NCO$, $-N_3$, алкинил, циклоалкинил, $-C(O)R_{13}$, $-COOR_{13}$, $-CON(R_{13})_2$, малеимида, ацилгалогенид, тетразин или транс-циклооктен.

15 В определенных вариантах осуществления R_4 представляет собой циклооктинил или производное циклооктинила, выбранное из группы, состоящей из бициклононила

(BCN), дифтористого циклооктинила (DIFO), дибензоциклооктинила (DIBO), кето-DIBO, биарилазациклооктинонила (BARAC), дибензоазациклооктинила (DIBAC, DBCO, ADIBO), диметоксиазациклооктинила (DIMAC), дифторбензоциклооктинила (DIFBO), монобензоциклооктинила (MOBO) и тетраметоксидибензоциклооктинила (TMDIBO).

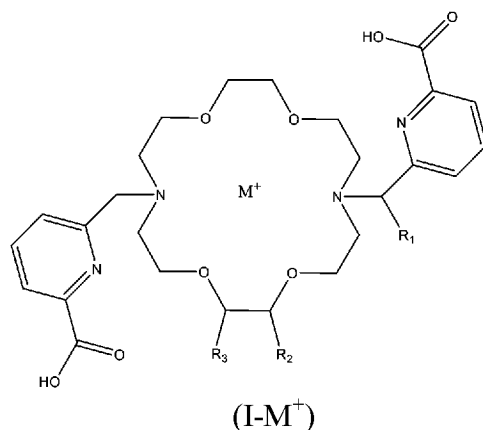
В определенных вариантах осуществления R_4 представляет собой DBCO или BCN.

В определенных вариантах осуществления R_4 содержит нацеливающий лиганд, причем нацеливающий лиганд выбран из группы, состоящей из антитела, фрагмента антитела (например, антигенсвязывающего фрагмента), связывающего пептида, связывающего полипептида (такого как селективный нацеливающий олигопептид, содержащий до 50 аминокислот), связывающего белка, фермента, фрагмента, содержащего нуклеотидное основание (такого как олигонуклеотид, ДНК- или РНК-вектор или аптамер), и лектина.

В определенных вариантах осуществления нацеливающий лиганд представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

В другом варианте осуществления изобретения настоящее изобретение представляет собой комплекс радиоактивного металла, содержащий ион радиоактивного металла в комплексе с соединением формулы I.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к комплексу радиоактивного металла формулы (I-M⁺):



или его фармацевтически приемлемой соли, где:

M^+ представляет собой ион радиоактивного металла, выбранный из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (²²⁵Ac), радий-223 (²²³Ra), висмут-213 (²¹³Bi), свинец-212 (²¹²Pb(II) и/или ²¹²Pb(IV)), тербий-149 (¹⁴⁹Tb), тербий-152 (¹⁵²Tb), тербий-155 (¹⁵⁵Tb), фермий-255 (²⁵⁵Fm), торий-227 (²²⁷Th),

торий-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), аstat-211 (^{211}At), церий-134 (^{134}Ce), неодим-144 (^{144}Nd), лантан-132 (^{132}La), лантан-135 (^{135}La) и уран-230 (^{230}U);

R_1 представляет собой водород, а R_2 представляет собой $-L_1-R_4$;

альтернативно R_1 представляет собой $-L_1-R_4$, а R_2 представляет собой

5 водород;

R_3 представляет собой водород;

альтернативно R_2 и R_3 , взятые вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил, причем 5- или 6-членный циклоалкил необязательно замещен $-L_1-R_4$;

10 L_1 отсутствует или представляет собой линкер;

R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

В некоторых вариантах осуществления R_4 представляет собой $-\text{NH}_2$, $-\text{NCS}$, $-\text{NCO}$, $-\text{N}_3$, алкинил, циклоалкинил, $-\text{C}(\text{O})\text{R}_{13}$, $-\text{COOR}_{13}$, $-\text{CON}(\text{R}_{13})_2$, малеимино, ацилгалогенид, тетразин или транс-циклооктен.

В определенных вариантах осуществления R_4 представляет собой циклооктини́л или производное циклооктини́ла, выбранное из группы, состоящей из бициклонони́ла (BCN), дифтористого циклооктини́ла (DIFO), дибензоциклооктини́ла (DIBO), кето-DIBO, биарилазациклооктини́ла (BARAC), дибензоазациклооктини́ла (DIBAC, DBCO, ADIBO), диметоксиазациклооктини́ла (DIMAC), дифторбензоциклооктини́ла (DIFBO), монобензоциклооктини́ла (MOBO) и тетраметоксидибензоциклооктини́ла (TMDIBO).

В определенных вариантах осуществления R_4 представляет собой DBCO или BCN.

25 В определенных вариантах осуществления ион альфа-излучающего радиоактивного металла представляет собой актиний-225 (^{225}Ac).

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к радиоактивным иммуноконъюгатам формулы (I- M^+) или их фармацевтически приемлемой соли, причем

30 M^+ представляет собой ион радиоактивного металла, причем M^+ выбран из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (^{225}Ac), радий-223 (^{223}Ra), висмут-213 (^{213}Bi), свинец-212 ($^{212}\text{Pb}(\text{II})$ и/или $^{212}\text{Pb}(\text{IV})$), тербий-149 (^{149}Tb), тербий-152 (^{152}Tb), тербий-155 (^{155}Tb), фермий-255 (^{255}Fm), торий-227 (^{227}Th),

торий-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), аstat-211 (^{211}At), церий-134 (^{134}Ce), неодим-144 (^{144}Nd), лантан-132 (^{132}La), лантан-135 (^{135}La) и уран-230 (^{230}U);

R_1 представляет собой водород, а R_2 представляет собой $-L_1-R_4$;

альтернативно R_1 представляет собой $-L_1-R_4$, а R_2 представляет собой

5 водород;

R_3 представляет собой водород;

альтернативно R_2 и R_3 , взятые вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил, причем 5- или 6-членный циклоалкил необязательно замещен $-L_1-R_4$;

10 L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

R_4 представляет собой нацеливающий лиганд; причем нацеливающий

лиганд выбран из группы, состоящей из антитела, фрагмента антитела

(например, антигенсвязывающего фрагмента), связывающего фрагмента,

связывающего пептида, связывающего полипептида (такого как селективный

15 нацеливающий олигопептид, содержащий до 50 аминокислот), связывающего

белка, фермента, фрагмента, содержащего нуклеотидное основание (такого как олигонуклеотид, ДНК- или РНК-вектор или аптамер), и лектина.

В определенных вариантах осуществления ион альфа-излучающего радиоактивного металла представляет собой актиний-225 (^{225}Ac).

20 В другом варианте осуществления изобретение относится к иммуноконъюгату, содержащему соединения изобретения, ковалентно связанные посредством R_4 с нацеливающим лигандом, предпочтительно антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

25 В дополнительном варианте осуществления радиоактивный иммуноконъюгат содержит комплекс радиоактивного металла изобретения, ковалентно связанный с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом посредством триазольного фрагмента.

30 В другом варианте осуществления изобретение относится к способам получения иммуноконъюгата или радиоактивного иммуноконъюгата изобретения, включающим ковалентное связывание соединения или комплекса радиоактивного металла изобретения с нацеливающим лигандом, предпочтительно посредством R_4 , соединения или комплекса радиоактивного металла с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение, иммуноконъюгат или радиоактивный иммуноконъюгат изобретения, а также фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтическая композиция может содержать один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов.

В другом варианте осуществления в настоящем изобретении также предложены композиции (например, фармацевтические композиции) и лекарственные средства, содержащие любое из соединений, описанных в настоящем документе (или их фармацевтически приемлемых солей), и фармацевтически приемлемый носитель или один или более эксципиентов или наполнителей. В сходном варианте осуществления в настоящем изобретении также предложены композиции (например, фармацевтические композиции) и лекарственные средства, содержащие любой из вариантов осуществления модифицированного антитела, модифицированного фрагмента антитела или модифицированного связывающего пептида настоящей технологии, описанной в настоящем документе, и фармацевтически приемлемый носитель или один или более эксципиентов или наполнителей.

В другом варианте осуществления изобретение относится к способам применения радиоактивных иммуноконъюгатов и фармацевтических композиций изобретения для нацеленной лучевой терапии.

В одном варианте осуществления изобретение относится к способу селективного воздействия на неопластические клетки для лучевой терапии нуждающегося в этом субъекта, причем способ включает введение субъекту фармацевтической композиции изобретения.

В одном варианте осуществления изобретение относится к способу лечения неопластического заболевания или расстройства у нуждающегося в этом субъекта; причем способ включает введение субъекту фармацевтической композиции изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Предшествующее краткое изложение, а также последующее подробное описание изобретения станут более понятными при рассмотрении вместе с прилагаемыми графическими материалами. Необходимо понимать, что изобретение не ограничено точными вариантами осуществления, показанными на графических материалах.

На графических материалах показано следующее:

на **ФИГ. 1А–1Б** представлены хроматограммы ВЭЖХ из испытания на хелатирование с La^{3+} ; на **ФИГ. 1А** показаны хроматограммы ВЭЖХ для 6-((16-((6-карбоксопиридин-2-ил)(фенил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновой кислоты (ТОРА-[С7]-фенил) до смешивания (сверху) и после смешивания с La^{3+} (в центре); смещение времени удерживания от 14,137 минуты до 12,047 минуты после смешивания с La^{3+} и Ас-225 указывает на быстрое хелатирование La^{3+} ; на **ФИГ. 1Б** представлены хроматограммы ВЭЖХ ТОРА-[С7]-изопентила перед смешиванием (сверху) и после смешивания с La^{3+} (снизу); смещение времени удерживания от 17,181 минуты до 15,751 минуты после смешивания с La^{3+} указывает на быстрое хелатирование La^{3+} и Ас-225 ТОРА-[С7]-изопентилом;

на **ФИГ. 2** схематически представлено радиоактивное мечение антитела с получением радиоактивного иммуноконъюгата в соответствии с вариантами осуществления изобретения способами случайной конъюгации (например, способами мечения лизиновых остатков, цистеиновых остатков и т. д.) или способами сайт-специфической конъюгации (например, гликан-специфическими способами, способами с меткой конъюгации или внедренными цистеиновыми способами); на **ФИГ. 2А** схематично представлена случайная конъюгация посредством одностадийного прямого радиоактивного мечения; на **ФИГ. 2Б** на схеме показана случайная конъюгация посредством радиоактивного мечения с помощью клик-реакции; на **ФИГ. 2В** представлена сайт-специфическая конъюгация посредством одностадийного прямого радиоактивного мечения; и на **ФИГ. 2Г** схематично представлена сайт-специфическая конъюгация посредством радиоактивного мечения с помощью клик-реакции.

На **ФИГ. 3А–3Б** представлены хроматограммы ВЭЖХ из испытания на хелатирование с Ас-225. На **ФИГ. 3А** показана хроматограмма ВЭЖХ 6-((16-((6-карбоксопиридин-2-ил)(фенил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновой кислоты (ТОРА-[С7]-фенил), хелатированной с Ас-225 (РА (радиоактивный) след, метод срез-подсчет-реконструкция). На **ФИГ. 3Б** показана хроматограмма ВЭЖХ 6-((16-(1-(6-карбоксопиридин-2-ил)-4-метилпентил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновой кислоты (ТОРА-[С7]-изопентил), хелатированной с Ас-225 (РА (радиоактивный) след, метод срез-подсчет-реконструкция).

На **ФИГ. 4А–4Б** представлены хроматограммы ВЭЖХ из испытания на хелатирование с Ас-225. На **ФИГ. 4А** показана хроматограмма ВЭЖХ ТОРА-[С7]-фенилтиомочевины-Н11В6, хелатированной с Ас-225 (УФ). На **ФИГ. 4Б** показана хроматограмма ВЭЖХ ТОРА-[С7]-фенилтиомочевины-Н11В6, хелатированной с Ас-225 RA (радиоактивный след, метод срез-подсчет-реконструкция).

На **ФИГ. 5** представлен скан быстрой тонкослойной хроматографии (БТСХ), указывающий процентное содержание Ас-225, связанного с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-Н11В6, в присутствии металлических примесей, как описано в примере 22.

На **ФИГ. 6** представлен скан БТСХ, указывающий процентное содержание Ас-225, связанного с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-Н11В6, в присутствии металлических примесей, как описано в примере 22.

На **ФИГ. 7** представлен скан БТСХ, указывающий процентное содержание Ас-225, связанного с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-Н11В6, в присутствии металлических примесей, как описано в примере 22.

На **ФИГ. 8** представлен скан БТСХ, указывающий процентное содержание Ас-225, связанного с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-Н11В6, в присутствии металлических примесей, как описано в примере 22.

На **ФИГ. 9** представлен скан БТСХ, указывающий процентное содержание Ас-225, хелатированного с ДОТА-Н11В6, в присутствии металлических примесей, как описано в примере 22.

На **ФИГ. 10** представлен скан БТСХ, указывающий процентное содержание Ас-225, связанного с ДОТА-Н11В6, в присутствии металлических примесей, как описано в примере 22.

На **ФИГ. 11** представлен скан БТСХ, указывающий процентное содержание Ас-225, хелатированного с ДОТА-Н11В6, в присутствии металлических примесей, как описано в примере 22.

На **ФИГ. 12** представлен скан БТСХ, указывающий процентное содержание Ас-225, связанного с ДОТА-Н11В6, в присутствии металлических примесей, как описано в примере 22.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

В разделе «Предпосылки создания изобретения» и в тексте настоящей заявки приведены цитаты или описания различных публикаций, статей и патентов; причем каждая из этих ссылок полностью включена в настоящее описание путем ссылки.

5 Описание документов, актов, материалов, устройств, изделий и т. п., которые были включены в настоящее описание, приведено в качестве контекста для изобретения. Такое описание не является допущением того, что любой из таких источников или все такие источники являются частью предшествующего уровня техники в отношении каких-либо описываемых или заявленных изобретений.

10 Все технические и научные термины в настоящем документе, если не указано иное, имеют общепринятое значение, понятное любому специалисту в области, к которой относится данное изобретение. В ином случае определенные термины в данном документе имеют значения, установленные в данном описании. Все патенты, опубликованные заявки на патенты и публикации, процитированные в данном документе, включены в него посредством ссылки, как если бы они полностью излагались в данном документе.

Следующие термины используются в документе в соответствии с определением ниже.

20 В настоящем документе и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа и аналогичные отсылки в контексте описания элементов (в частности, в контексте представленной ниже формулы изобретения) следует понимать как охватывающее как единственное, так и множественное число, если в настоящем документе не указано иное или если это явно не противоречит контексту. Указание диапазонов значений в настоящем документе предназначено только для использования в качестве краткого способа указания по отдельности каждого отдельного значения в пределах диапазона, если в настоящем документе не указано иное, и каждое отдельное значение включено в описание, как если бы оно было отдельно указано в настоящем документе. Все описанные в настоящем документе способы могут быть выполнены в любом приемлемом порядке, если в настоящем документе не указано иное или если это явно не противоречит контексту. Использование любого и всех примеров или фраз для указания примера (например, «такой как»), приведенных в настоящем документе, предназначено только для лучшего освещения вариантов осуществления и не накладывает ограничений на объем формулы изобретения, если не указано иное.

30 Никакие формулировки, содержащиеся в описании, не следует толковать как

указывающие на наличие какого-либо незаявленного элемента, являющегося существенным.

По существу ссылка на определенный элемент, такой как водород или H, подразумевает включение всех изотопов этого элемента. Например, если определено, что R-группа включает водород или H, группа также включает в себя дейтерий и тритий. Соединения, содержащие радиоизотопы, такие как тритий, C^{14} , P^{32} и S^{35} , таким образом, входят в объем настоящей технологии. Процедуры введения таких меток в соединения настоящей технологии будут очевидны специалистам в данной области на основе описания в настоящем документе.

Термин «замещенный» означает, что по меньшей мере один атом водорода замещен неводородной группой, при условии, что все нормальные валентности поддерживаются и что замещение приводит к получению стабильного соединения. Если конкретная группа является «замещенной», эта группа может иметь один или более заместителей, предпочтительно от одного до пяти заместителей, более предпочтительно от одного до трех заместителей, наиболее предпочтительно от одного до двух заместителей, независимо выбранных из списка заместителей. Например, термин «замещенный» относится к органической группе, как определено ниже (например, алкильной группе), в которой содержащиеся одна или более связей с атомом водорода заменены на связь с атомами, не являющимися водородом или углеродом. Замещенные группы также включают в себя группы, в которых одна или более связей с атомом (атомами) углерода или водорода замещены одной или более связями, включающими в себя двойные или тройные связи, с гетероатомом. Таким образом, если не указано иное, замещенная группа замещена одним или более заместителями. В некоторых вариантах осуществления замещенная группа замещена 1, 2, 3, 4, 5 или 6 заместителями. Примеры заместителей включают в себя: галогены (т. е. F, Cl, Br и I); гидроксильные группы; алкокси, алкенокси, арилокси, аралкилокси, гетероциклил, гетероциклилалкил, гетероциклилокси и гетероциклилалкокси группы; карбонильные группы (оксогруппы); карбоксилаты; сложные эфиры; уретаны; оксимы; гидроксиламины; алкоксиамины; аралкоксиамины; тиолы; сульфиды; сульфоксиды; сульфоны; сульфонилы; пентафторсульфанил (т. е. SF₅), сульфонамиды; амины; N-оксиды; гидразины; гидразиды; гидразоны; азиды; амиды; мочевины; амидины; гуанидины; енамины; имидазы; изоцианаты; изотиоцианаты; цианаты; тиоцианаты; имины; нитрогруппы; нитрилы (т. е. CN); и т. п. Термин «независимо» при использовании в отношении заместителей означает, что, когда возможно более одного

из таких заместителей, такие заместители могут быть одинаковыми или отличаться друг от друга.

Замещенные кольцевые группы, такие как замещенные циклоалкильные, арильные, гетероциклические и гетероарильные группы, также включают в себя кольца и кольцевые системы, в которых связь с атомом водорода заменена на связь с атомом углерода. Таким образом, замещенные циклоалкильные, арильные, гетероциклические и гетероарильные группы также могут быть заменены замещенными или незамещенными алкильными, алкенильными и алкинильными группами, как определено ниже.

В настоящем документе C_m-C_n , например C_1-C_{11} , C_1-C_8 или C_1-C_6 , при использовании перед указанием группы, означают эту группу, содержащую от m до n атомов углерода.

Алкильные группы включают в себя неразветвленные и разветвленные алкильные группы, имеющие от 1 до 12 атомов углерода и, как правило, от 1 до 10 атомов углерода или, в некоторых вариантах осуществления, от 1 до 8, от 1 до 6 или от 1 до 4 атомов углерода. Примеры неразветвленных алкильных групп включают в себя такие группы, как метильная, этильная, *n*-пропильная, *n*-бутильная, *n*-пентильная, *n*-гексильная, *n*-гептильная и *n*-октильная группы. Примеры разветвленных алкильных групп включают в себя, без ограничений, изопропильную, изобутильную, втор-бутильную, трет-бутильную, неопентильную, изопентильную и 2,2-диметилпропильную группы. Алкильные группы могут быть замещенными или незамещенными. Типичные замещенные алкильные группы могут быть замещены одним или более заместителями, такими как перечисленные выше, и включают, без ограничений, галогеналкил (например, трифторметил), гидроксилалкил, тиоалкил, аминоалкил, алкиламиноалкил, диалкиламиноалкил, алкоксиалкил, карбоксиалкил и т. п.

Циклоалкильные группы включают моно-, би- или трициклические алкильные группы, имеющие от 3 до 12 атомов углерода в кольце (-ах) или, в некоторых вариантах осуществления, от 3 до 10, от 3 до 8 или от 3 до 4, 5 или 6 атомов углерода. Примеры моноциклических циклоалкильных групп включают, без ограничений, циклопропильную, циклобутильную, циклопентильную, циклогексильную, циклогептильную и циклооктильную группы. В некоторых вариантах осуществления циклоалкильная группа имеет от 3 до 8 членов кольца, тогда как в других вариантах осуществления число атомов углерода в кольце находится в диапазоне от 3 до 5, от 3 до 6 или от 3 до 7. Би- и трициклические кольцевые системы включают как мостиковые

циклоалкильные группы, так и конденсированные кольца, такие как, без ограничений, бицикло[2.1.1] гексан, адамантил, декалин и т. п. Циклоалкильные группы могут быть замещенными или незамещенными. Замещенные циклоалкильные группы могут быть замещены один или более раз неводородными и неуглеродными группами, как определено выше. Однако замещенные циклоалкильные группы также включают в себя кольца, замещенные неразветвленными или разветвленными алкильными группами, как определено выше. Характерные замещенные циклоалкильные группы могут быть монозамещенными или могут быть замещены более одного раза, такие как, без ограничений, 2,2-, 2,3-, 2,4- 2,5- или 2,6-дизамещенные циклогексильные группы, которые могут быть замещены заместителями, такими как перечисленные выше.

Циклоалкилалкильные группы представляют собой алкильные группы, как определено выше, в которых водород или углеродную связь алкильной группы заменяют связью с циклоалкильной группой, как определено выше. В некоторых вариантах осуществления циклоалкилалкильные группы имеют от 4 до 16 атомов углерода, от 4 до 12 атомов углерода и, как правило, от 4 до 10 атомов углерода. Циклоалкилалкильные группы могут быть замещенными или незамещенными. Замещенные циклоалкилалкильные группы могут быть замещены в алкильной, циклоалкильной или как в алкильной, так и циклоалкильной частях группы. Характерные замещенные циклоалкилалкильные группы могут быть монозамещенными или могут быть замещены более одного раза, например, без ограничений, моно-, ди- или тризамещенные, такие как перечисленные выше.

Алкенильные группы включают в себя линейные и разветвленные алкильные группы, как определено выше, за исключением того, что между двумя атомами углерода присутствует по меньшей мере одна двойная связь. Алкенильные группы имеют от 2 до около 12 атомов углерода, как правило от 2 до 10 атомов углерода или, в некоторых вариантах осуществления, от 2 до 8, от 2 до 6, от 2 до 4 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления алкенил может иметь одну углерод-углеродную двойную связь или множество углерод-углеродных двойных связей, например 2, 3, 4 или более углерод-углеродных двойных связей. Примеры алкенильных групп включают, без ограничений, метенил, этенил, пропенил, бутенил и т. д. Алкенильные группы могут быть замещенными или незамещенными. Характерные замещенные алкенильные группы могут быть монозамещенными или могут содержать более одного заместителя, например, без ограничений, моно-, ди- или тризамещенные, такие как перечисленные выше.

Циклоалкенильные группы включают циклоалкильные группы, определенные выше, имеющие по меньшей мере одну двойную связь между двумя атомами углерода. Циклоалкенильная группа может представлять собой моно- или полициклическую алкильную группу, имеющую от 3 до 12, более предпочтительно от 3 до 8 атомов углерода в кольце (-ах) и содержащую по меньшей мере одну двойную связь между двумя атомами углерода. Циклоалкенильные группы могут быть замещенными или незамещенными. В некоторых вариантах осуществления циклоалкенильная группа может иметь одну, две или три двойные связи или множество углерод-углеродных двойных связей, например 2, 3, 4 или более углерод-углеродных двойных связей, но не включает ароматических соединений. Циклоалкенильные группы имеют от 3 до 14 атомов углерода или, в некоторых вариантах осуществления, от 5 до 14 атомов углерода, от 5 до 10 атомов углерода или даже 5, 6, 7 или 8 атомов углерода. Примеры циклоалкенильных групп включают циклогексенил, циклопентенил, циклогексадиенил, циклобутадиенил и циклопентадиенил.

Циклоалкенилалкильные группы представляют собой алкильные группы, как определено выше, в которых водород или углеродную связь алкильной группы заменяют связью с циклоалкенильной группой, как определено выше. Циклоалкенилалкильные группы могут быть замещенными или незамещенными. Замещенные циклоалкенилалкильные группы могут быть замещены в алкильной, циклоалкенильной или как в алкильной, так и циклоалкенильной частях группы. Характерные замещенные циклоалкенилалкильные группы могут быть замещены один или более раз заместителями, такими как перечисленные выше.

Алкинильные группы включают в себя линейные и разветвленные алкильные группы, как определено выше, за исключением того, что между двумя атомами углерода присутствует по меньшей мере одна тройная связь. Алкинильные группы имеют от 2 до 12 атомов углерода и, как правило, от 2 до 10 атомов углерода или, в некоторых вариантах осуществления, от 2 до 8, от 2 до 6 или от 2 до 4 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления алкинильная группа содержит одну, две или три углерод-углеродные тройные связи. Примеры включают, без ограничений, помимо прочего, $-\text{C}=\text{CH}$, $-\text{C}=\text{CCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{C}=\text{CCH}_3$, $-\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, Алкинильные группы могут быть замещенными или незамещенными. Терминальный алкин имеет по меньшей мере один атом водорода, связанный с атомом углерода с тройной связью. Характерные замещенные алкинильные группы могут быть монозамещенными или могут содержать более одного заместителя, например, без ограничений, моно-, ди- или

тризамещенные, такие как перечисленные выше. «Циклоалкин» или «циклоалкинил» представляет собой циклоалкильное кольцо, содержащее по меньшей мере одну тройную связь между двумя атомами углерода. Примеры циклоалкинов или циклоалкинильных групп включают, без ограничений, циклооктин, бициклононин (BCN), двухфтористый циклооктин (DIFO), дибензоциклооктин (DIBO), кето-DIBO, биарилазациклооктинон (BARAC), дибензоазациклооктин (DIBAC), диметоксиазациклооктин (DIMAC), дифторбензоциклооктин (DIFBO), монобензоциклооктин (MOBO) и тетраметокси-DIBO (TMDIBO).

Арильные группы представляют собой циклические ароматические углеводороды, которые не содержат гетероатомов. Арильные группы настоящего документа включают в себя моноциклические, бициклические и трициклические кольцевые системы. Таким образом, арильные группы включают в себя, без ограничений, фенильную, азуленильную, гепталенильную, бифенильную, флуоренильную, фенантренильную, антраценильную, инденильную, инданильную, пенталенильную и нафтильную группы. В некоторых вариантах осуществления арильные группы содержат 6–14 атомов углерода, а в других — от 6 до 12 или даже 6–10 атомов углерода в кольцевых участках групп. В некоторых вариантах осуществления арильные группы представляют собой фенил или нафтил. Арильные группы могут быть замещенными или незамещенными. Фраза «арильные группы» включает в себя группы, содержащие конденсированные кольца, такие как конденсированные ароматические-алифатические кольцевые системы (например, инданил, тетрагидратнафтил и т. п.). Характерные замещенные арильные группы могут быть монозамещенными или могут быть замещены более чем один раз. Например, монозамещенные арильные группы включают в себя, без ограничений, 2-, 3-, 4-, 5- или 6-замещенные фенильные или нафтильные группы, которые могут быть замещены заместителями, такими как перечисленные выше. Арильные фрагменты хорошо известны и описаны, например, в работе R. J., ed., *Hawley's Condensed Chemical Dictionary*, 13th Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York (1997). Арильная группа может представлять собой одну кольцевую структуру (т. е. моноциклическую) или содержать множество кольцевых структур (т. е. полициклическую), которые являются конденсированными кольцевыми структурами. Предпочтительно арильная группа представляет собой моноциклическую арильную группу.

Алкоксигруппы представляют собой гидроксильные группы (–OH), в которых связь с атомом водорода заменена на связь с атомом углерода замещенной или

незамещенной алкильной группы, как определено выше. Примеры линейных алкоксигрупп включают в себя, без ограничений, метокси, этокси, пропокси, бутокси, пентокси, гексокси и т. п. Примеры разветвленных алкоксигрупп включают в себя, без ограничений, изопропокси, втор-бутокси, трет-бутокси, изопентокси, изогексокси и т. п. Примеры циклоалкоксигрупп включают в себя, без ограничений, циклопропилокси, циклобутилокси, циклопентилокси, циклогексилокси и т. п. Алкоксигруппы могут быть замещенными или незамещенными. Характерные замещенные алкоксигруппы могут быть замещены один или более раз заместителями, такими как перечисленные выше.

10 Аналогичным образом алкилтио или тиоалкокси относится к группе $-SR$, в которой R представляет собой алкил, присоединенный к первичной молекуле посредством серного мостика, например, $-S$ -метил, $-S$ -этил и т. д. Типичные примеры алкилтио включают в себя, без ограничений, $-SCH_3$, $-SCH_2CH_3$ и т. д.

Используемый в настоящем документе термин «галоген» относится к брому, хлору, фтору или иоду. Соответственно, термин «галоген» означает фтор, хлор, бром или иод. В некоторых вариантах осуществления галоген представляет собой фтор. В других вариантах осуществления галоген представляет собой хлор или бром.

Термины «гидрокси» и «гидроксил» могут использоваться взаимозаменяемо и относятся к $-OH$.

20 Термин «карбокси» относится к $-COOH$.

Термин «циано» относится к $-CN$.

Термин «нитро» относится к $-NO_2$.

Термин «изотиоцианат» относится к $-N=C=S$.

Термин «изоцианат» относится к $-N=C=O$.

25 Термин «азидо» относится к $-N_3$.

Термин «амино» относится к $-NH_2$. Термин «алкиламино» относится к аминогруппе, в которой один или оба атома водорода, связанные с азотом, замещены алкильной группой. Алкиламиногруппа может быть представлена как $-NR_2$, в которой каждый R независимо представляет собой водород или алкильную группу. Например, алкиламин включает метиламин ($-NHCH_3$), диметиламин ($-N(CH_3)_2$), $-NHCH_2CH_3$ и т. д. Предполагается, что используемый в настоящем документе термин «аминоалкил» включает в себя как разветвленные, так и линейные насыщенные алифатические углеводородные группы, замещенные одной или более аминогруппами. Типичные

примеры аминоалкильных групп включают, без ограничений, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ и $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_3$.

Используемый в настоящем документе термин «амид» относится к $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$, где каждый R независимо представляет собой алкильную группу или водород.

5 Примеры амидов включают, без ограничений, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NHCH}_3$ и $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$.

Термины «гидроксилалкил» и «гидроксиалкил» используются взаимозаменяемо и относятся к алкильной группе, замещенной одной или более гидроксильными группами. Алкил может представлять собой разветвленный или линейный алифатический углеводород. Примеры гидроксилалкила включают в себя, без
10 ограничений, гидроксилметил ($-\text{CH}_2\text{OH}$), гидроксипропил ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) и т. д.

Используемый в настоящем документе термин «гетероцикл» включает стабильные моноциклические и полициклические углеводороды, которые содержат по меньшей мере один гетероатом, являющийся членом кольца, такой как сера, кислород или азот. Используемый в настоящем документе термин «гетероарил» включает
15 стабильные моноциклические и полициклические ароматические углеводороды, которые содержат по меньшей мере один гетероатом, являющийся членом кольца, такой как сера, кислород или азот. Гетероарил может быть моноциклическим или полициклическим, например, бициклическим или трициклическим. Каждое кольцо гетероциклической или гетероарильной группы, содержащей гетероатом, может
20 содержать один или два атома кислорода или серы и/или от одного до четырех атомов азота при условии, что общее число гетероатомов в каждом кольце составляет четыре или менее, и каждое кольцо имеет по меньшей мере один атом углерода.

Гетероарильные группы, которые являются полициклическими, например бициклическими или трициклическими, должны включать по меньшей мере одно
25 полностью ароматическое кольцо, но другое конденсированное кольцо или кольца могут быть ароматическими или неароматическими. Гетероциклическая или гетероарильная группа может быть присоединена по любому доступному атому азота или углерода любого кольца гетероциклической или гетероарильной группы.

Предпочтительно термин «гетероарил» относится к 5- или 6-членным
30 моноциклическим группам и 9- или 10-членным бициклическим группам, имеющим по меньшей мере один гетероатом (O, S или N) в по меньшей мере одном из колец, причем кольцо, содержащее гетероатом, предпочтительно имеет 1, 2 или 3 гетероатома, более предпочтительно 1 или 2 гетероатома, выбираемых из O, S и/или N. Гетероатом (-ы) азота гетероарила может (могут) быть замещенным (-ыми) или незамещенным (-ыми).

Кроме того, гетероатом (-ы) азота и серы гетероарила могут необязательно быть окисленными (т. е. $N \rightarrow O$ и $S(O)_r$, где r равен 0, 1 или 2).

Термин «эфир» относится к $-C(O)_2R$, где R представляет собой алкил.

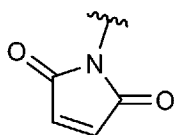
Термин «карбамат» относится к $-OC(O)NR_2$, где каждый R независимо
5 представляет собой алкил или водород.

Термин «альдегид» обозначает группу $-C(O)H$.

Термин «карбонат» относится к $-OC(O)OR$, где R представляет собой алкил.

Термин «малеимид» относится к группе с химической формулой $H_2C_2(CO)_2NH$.

Термин «малеимидо» относится к малеимидной группе, ковалентно связанной с другой
10 группой или молекулой. Предпочтительно малеимидная группа является N-связанной, например:



Термин «ацилгалогенид» относится к $-C(O)X$, где X представляет собой галоген
15 (например, Br , Cl). Примеры ацилгалогенидов включают ацилхлорид ($-C(O)Cl$) и ацилбромид ($-C(O)Br$).

В соответствии с общепринятыми в данной области правилами:



используется в структурных формулах в настоящем документе для иллюстрации связи,
которая является точкой присоединения фрагмента, функциональной группы или
20 заместителя к основе, родительской структуре или структуре каркаса, например, соединение изобретения или нацеливающий лиганд.

Когда любая переменная встречается более одного раза в любом компоненте или
формуле соединения, ее определение в каждом случае не зависит от ее определения в
каждом другом случае. Таким образом, например, если показано, что группа замещена
25 0–3 группами R , то указанная группа может быть необязательно замещена максимум тремя группами R , и в каждом случае R выбирают независимо из определения R .

Если показана связь с заместителем, пересекающая связь, соединяющую два атома в кольце, то такой заместитель может быть связан с любым атомом в кольце.

В контексте данного документа термин «ион радиоактивного металла» или «ион
30 радиометалла» относится к одному или более изотопам элементов, которые испускают частицы и/или фотоны. В изобретении может быть использован любой ион

радиоактивного металла, известный специалистам в данной области техники с учетом данного описания. Примеры ионов радиоактивных металлов, подходящих для применения в изобретении, включают, без ограничений, ^{47}Sc , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{86}Y , ^{89}Zr , ^{89}Sr , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}Ag , ^{111}In , ^{117}Sn , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{153}Sm , ^{159}Gd , ^{165}Dy , ^{166}Ho , ^{169}Er , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{194}Ir , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Th и ^{255}Fm . Предпочтительно ион радиоактивного металла представляет собой «терапевтический излучатель», т. е. ион радиоактивного металла, который можно использовать в терапевтических сферах применения. Примеры терапевтических излучателей включают, без ограничений, бета-излучатели или альфа-излучатели, такие как ^{132}La , ^{135}La , ^{134}Ce , ^{144}Nd , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{153}Sm , ^{159}Gd , ^{165}Dy , ^{166}Ho , ^{169}Er , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{194}Ir , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{255}Fm and ^{227}Th , ^{226}Th , ^{230}U . Предпочтительно используемый в настоящем изобретении ион радиоактивного металла представляет собой ион альфа-излучающего радиоактивного металла, такой как актиний-225 (^{225}Ac).

Соединения по изобретению относятся к макроциклическому соединению, с которым можно образовывать комплекс металла, предпочтительно радиоактивного металла. В некоторых вариантах осуществления соединение представляет собой макроцикл или макроциклическое кольцо, содержащее один или более гетероатомов, например, кислород и/или азот в качестве атомов в кольце. Предпочтительно соединение представляет собой макроцикл, являющийся производным 4,13-диаза-18-краун-6.

Используемый в настоящем документе термин «комплекс радиоактивного металла» относится к комплексу, содержащему ион радиоактивного металла, связанный с макроциклическим соединением. Ион радиоактивного металла связан или координируется с макроциклом посредством координационной связи. Гетероатомы макроциклического кольца могут участвовать в координированном связывании иона радиоактивного металла с макроциклическим соединением. Макроциклическое соединение может быть замещенным одной или более замещающими группами, и одна или более замещающих групп также могут участвовать в координированном связывании иона радиоактивного металла с макроциклическим соединением в качестве дополнения или альтернативы связыванию с гетероатомами макроциклического кольца.

Используемый в настоящем документе термин ТОРА относится к макроциклу, известному в данной области как $\text{H}_2\text{bp}18\text{c}6$, и альтернативно может иметь название N,N'-бис[(6-карбокси-2-пиридил)метил]-4,13-диаза-18-краун-6. См., например, Rosa-

Sabio et al., Macrocyclic Receptor Exhibiting Unprecedented Selectivity for Light Lanthanides, *J. Am. Chem. Soc.* (2009) 131, 3331–3341, включено в настоящий документ в путем ссылки.

В контексте данного документа «клик-химия» относится к химическому
5 понятию, введенному Шарплессом, которое описывает химические реакции, специально приспособленные для быстрого и надежного образования ковалентных связей путем соединения малых единиц, включающих реакционноспособные группы (см. Kolb, et al., *Angewandte Chemie International Edition* (2001) 40: 2004–2021). Клик-химия относится не к конкретной реакции, а к концепции, включающей, не
10 ограничиваясь этим, реакции, которые имитируют реакции, обнаруженные в природе. В некоторых вариантах осуществления клик-реакции являются модульными, имеют широкую область применения, дают высокие продукты реакции, дают инертные побочные продукты, являются стереоспецифичными, демонстрируют большую термодинамическую движущую силу, которая способствует реакции с одним
15 продуктом реакции, и/или могут проводиться при физиологических условиях. В некоторых вариантах осуществления клик-реакция может быть проведена в простых реакционных условиях, использует легко доступные исходные материалы и реагенты, не использует токсичных растворителей или использует растворитель, который является мягким или легко удаляемым, таким как вода, и/или обеспечивает простое
20 выделение продукта нехроматографическими методами, такими как кристаллизация или дистилляция.

В клик-химических реакциях используются реактивные группы, которые редко встречаются в природных биомолекулах и химически инертны по отношению к биомолекулам, но когда партнеры по клик-реакции взаимодействуют между собой,
25 реакция может происходить эффективно в биологически соответствующих условиях, например, в условиях культивирования клеток, таких как отсутствие избыточного тепла и/или агрессивных реагентов. Как правило, для клик-реакций необходимо по меньшей мере две молекулы, содержащие партнеров по клик-реакции, которые могут взаимодействовать друг с другом. Такие партнеры по клик-реакции, которые реагируют
30 друг с другом, иногда упоминаются в данном документе как пары ручек клик-реакции или пары клик-реакции. В некоторых вариантах осуществления партнеры по клик-реакции представляют собой азид и напряженный алкин, например, циклооктин или производное циклооктина, или любой другой алкин. В других вариантах осуществления партнеры по клик-реакции представляют собой реакционноспособные

диены и подходящие тетразиндиенофилы. Например, транс-циклооктен, норборнен или бисциклононен можно соединить с подходящим тетразиндиенофилом в качестве пары клик-реакции. В еще других вариантах осуществления тетразолы могут выступать в качестве скрытых источников нитрилиминов, которые могут соединяться с

5 неактивированными алкенами в присутствии ультрафиолетового света с образованием пары клик-реакции, называемой парой «фотоклик»-реакции. В других вариантах осуществления партнеры по клик-реакции представляют собой цистеин и малеимид. Например, цистеин из пептида (например, GGGC) может взаимодействовать с малеимидом, который связан с хелатирующим агентом (например, NOTA).

10 Специалистам в данной области техники известны другие подходящие скобы клик-реакции (см., например, Spicer et al., Selective chemical protein modification. *Nature Communications*. 2014; 5: p. 4740). В других вариантах осуществления партнеры по клик-реакции представляют собой компоненты лигирования по Штаудингеру, такие как фосфин и азид. В других вариантах осуществления партнеры по клик-реакции

15 представляют собой компоненты реакции Дильса-Альдера, такие как диены (например, тетразин) и алкены (например, транс-циклооктен (TCO) или норборнен). Иллюстративные партнеры по клик-реакции описаны в US20130266512 и в WO2015073746, соответствующее описание партнеров по клик-реакции в обоих случаях включено в данный документ посредством ссылки.

20 В соответствии с предпочтительными вариантами осуществления в клик-реакции в качестве пары клик-реакций или партнеров по реакции используют азидную и алкиновую группу, более предпочтительно напряженную алкиновую группу, например, циклоалкин, такой как циклооктин или производное циклооктина. В таких вариантах осуществления клик-реакция представляет собой циклоприсоединение по

25 Хьюсгену или 1,3-диполярное циклоприсоединение между азидом ($-N_3$) и алкиновым фрагментом с образованием 1,2,3-триазольного линкера. Клик-реакции между алкинами и азидами обычно требуют добавления медного катализатора для ускорения реакции 1,3-циклоприсоединения и известны как катализируемые медью реакции азид-алкинового циклоприсоединения (CuAAC). Однако клик-реакции между циклооктином

30 или производными циклооктина и азидами обычно не требуют добавления медного катализатора, а вместо этого протекают посредством промотируемого напряжением азид-алкинового циклоприсоединения (SPAAC) (Debets, M.F., et al., Bioconjugation with strained alkenes and alkynes. *Acc Chem Res*, 2011. 44(9): p. 805-15).

При использовании в настоящем документе термин «нацеливающий лиганд» относится к любой молекуле, которая обеспечивает повышенную аффинность к выбранной мишени, например, антигену, клетке, типу клетки, ткани, органу, области тела или компартменту (например, клеточному, тканевому или органному компартменту). Нацеливающие лиганды включают в себя, без ограничений, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, аптамеры, полипептиды и каркасные белки. Нацеливающий лиганд предпочтительно представляет собой полипептид, более предпочтительно антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, сконструированный домен или каркасный белок.

В контексте данного документа термин «антитело» или «иммуноглобулин» используется в широком значении и относится к молекулам иммуноглобулинов или антител, включая поликлональные антитела, моноклональные антитела включая мышьиные/крысиные, человеческие, адаптированные к человеку, гуманизированные и химерные моноклональные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты.

В общем смысле антитела представляют собой белки или пептидные цепи, которые специфически связываются со специфическим антигеном. Структуры антител хорошо известны. Иммуноглобулины могут относиться к пяти основным классам, а именно IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, в зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелой цепи. IgA и IgG дополнительно подразделяются на изоформы IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Антитела, использованные в изобретении, могут быть из любого из пяти основных классов или соответствующих подклассов. Легкие цепи антител любых видов позвоночных можно относить в зависимости от аминокислотных последовательностей их константных доменов к одному из двух четко отличающихся типов, а именно, каппа и лямбда. В соответствии с конкретными вариантами осуществления антитела, использованные в изобретении, включают константные области тяжелой и/или легкой цепи, мышьиных антител или человеческих антител. Каждый из четырех подклассов IgG имеет различные биологические функции, известные как эффекторные функции. Эти эффекторные функции, как правило, опосредованы через взаимодействие с Fc-рецептором (FcγR) или путем связывания C1q и фиксации комплемента. Связывание с FcγR может приводить к антителозависимому клеточно-опосредованному цитолизу, тогда как связывание с факторами комплемента может приводить к комплемент-опосредованному лизису клеток. Антитело, пригодное для изобретения, может не

иметь или может иметь минимальную эффекторную функцию, но сохранять свою способность связывать FcRn.

В контексте данного документа термин «антигенсвязывающий фрагмент» относится к фрагменту антитела, такому как, например, диатело, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv-фрагмент, стабилизированный дисульфидными связями Fv-фрагмент (dsFv), (dsFv)₂, биспецифический dsFv (dsFv-dsFv'), стабилизированное дисульфидными связями диатело (ds-диатело), молекула одноцепочечного антитела (scFv), однодоменное антитело (одАт), димер scFv (двухвалентное антитело), мультиспецифическое антитело, образованное из части антитела, содержащей одну или более CDR, верблюжье однодоменное антитело, наноантитело, доменное антитело, двухвалентное доменное антитело или любой другой фрагмент антитела, который связывается с антигеном, но не содержит структуру полного антитела. Антигенсвязывающий фрагмент обладает возможностью связывания с тем же антигеном, с которым связывается исходное антитело или исходный фрагмент антитела. В настоящем документе термин «одноцепочечное антитело» относится к стандартному для данной области техники одноцепочечному антителу, которое содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соединенные коротким пептидом размером от около 15 до около 20 аминокислот. В настоящем документе термин «однодоменное антитело» относится к стандартному для данной области однодоменному антителу, которое содержит переменную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи или которое содержит только переменную область тяжелой цепи.

В контексте данного документа термин «каркас» или «каркасный белок» относится к любому белку, который имеет домен, связывающий мишень, и который может связываться с мишенью. Каркас содержит «каркасную область», которая, как правило, является структурной, и «связывающий домен», который вступает в контакт с мишенью и обеспечивает специфическое связывание. Связывающий домен каркаса не обязательно должен определяться одной непрерывной последовательностью каркаса. В некоторых случаях каркас может быть частью более крупного связывающего белка, который сам по себе может быть частью мультимерного связывающего белка, который содержит несколько каркасов. Некоторые связывающие белки могут быть би- или мультиспецифическими в том смысле, что они могут связываться с двумя или более различными эпитопами. Каркас может быть получен из одноцепочечного антитела, или каркас может быть получен не из антитела.

В контексте данного документа термин «аптамер» относится к одноцепочечному олигонуклеотиду (одноцепочечной молекуле ДНК или РНК), который может специфически связываться со своей мишенью с высокой аффинностью. Аптамер может быть использован в качестве молекулы, нацеленной на различные органические и неорганические вещества.

Фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных в настоящем документе, входят в объем настоящей технологии и включают соли присоединения кислоты или основания, которые сохраняют желаемую фармакологическую активность и не являются биологически нежелательными (например, соль не является чрезмерно токсичной, аллергенной или раздражающей и является биодоступной). Когда соединение настоящей технологии имеет основную группу, такую как, например, аминогруппа, фармацевтически приемлемые соли могут быть образованы с неорганическими кислотами (такими как соляная кислота, бромоводородная кислота, азотная кислота, серная кислота и фосфорная кислота), органические кислоты (например, альгинат, муравьиная кислота, уксусная кислота, бензойная кислота, глюконовая кислота, фумаровая кислота, щавелевая кислота, винная кислота, молочная кислота, малеиновая кислота, лимонная кислота, янтарная кислота, яблочная кислота, метансульфоновая кислота, бензолсульфоновая кислота, нафталинсульфоновая кислота и *p*-толуолсульфоновая кислота) или кислотные аминокислоты (такие как аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота). Когда соединение настоящей технологии имеет кислотную группу, такую как, например, группа карбоновой кислоты, она может образовывать соли с металлами, такими как щелочные и щелочноземельные металлы (например, Na^+ , Li^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}), аммиак или органические амины (например, дициклогексилламин, триметиламин, триэтиламин, пиридин, пиколин, этаноламин, диэтанолламин, триэтанолламин) или основные аминокислоты (например, аргинин, лизин и орнитин). Такие соли могут быть получены *in situ* во время выделения и очистки соединений или путем отдельного взаимодействия очищенного соединения в форме свободного основания или свободной кислоты с подходящей кислотой или основанием соответственно и выделения полученной таким образом соли.

Специалистам в данной области будет понятно, что соединения настоящей технологии могут демонстрировать явления таутомерии, конформационной изомерии, геометрической изомерии и/или стереоизомеризма. Поскольку изображения формул в рамках описания и формулы изобретения могут представлять только одну из

возможных таутомерных, конформационно-изомерных, стереохимических или геометрических изомерных форм, следует понимать, что настоящая технология охватывает любые таутомерные, конформационно-изомерные, стереохимические и/или геометрические изомерные формы соединений, имеющих одно или более из полезных свойств, описанных в настоящем документе, а также смеси этих различных форм.

Сtereoизомеры соединений (также известные как оптические изомеры) включают в себя все хиральные, диастереомерные и рацемические формы структуры, если явно не указана определенная стереохимия. Таким образом, соединения, используемые в настоящей технологии, включают в себя обогащенные или разделенные оптические изомеры на любом или всех асимметричных атомах, как очевидно из иллюстраций. Как рацемические, так и диастереомерные смеси, а также отдельные оптические изомеры могут быть выделены или синтезированы так, чтобы они были по существу свободными от их энантиомерных или диастереомерных партнеров, и эти стереоизомеры входят в объем настоящей технологии.

В настоящем изобретении предложены новые макроциклические комплексы, которые являются по существу более стабильными, чем в традиционном уровне техники. Таким образом, эти новые комплексы преимущественно могут более эффективно нацеливаться на раковые клетки, при по существу меньшей токсичности для нецелевой ткани, чем комплексы существующего уровня техники. Кроме того, новые комплексы преимущественно могут быть получены при комнатной температуре, в отличие от комплексов типа DOTA, которые, как правило, требуют повышенных температур (например, по меньшей мере 80 °C) для образования комплексов с радионуклидом. В настоящей технологии также используют альфа-излучающие радионуклиды вместо бета-радионуклидов. Альфа-излучающие радионуклиды имеют гораздо более высокую энергию и, таким образом, по существу более эффективны, чем бета-излучающие радионуклиды.

Хотя в настоящем документе были проиллюстрированы и описаны определенные варианты осуществления, обычный специалист в данной области после прочтения приведенного выше описания может осуществлять изменения, замены эквивалентов и другие типы изменений в отношении соединений по настоящей технологии или солей, фармацевтических композиций, производных, пролекарств, метаболитов, таутомеров или рацемических смесей, как показано в настоящем документе. Каждый аспект и вариант осуществления, описанный выше, может также

иметь или включать в себя такие вариации или аспекты, описанные применительно к любому или ко всем прочим аспектам и вариантам осуществления.

Настоящая технология также не должна ограничиваться в плане конкретных вариантов осуществления, описанных в настоящем документе, которые должны быть
5 единичными иллюстрациями отдельных аспектов настоящей технологии.

Специалистам в данной области будет очевидно, что в настоящую технологию можно вносить множество модификаций и изменений без отступления от ее сущности и объема. Функционально эквивалентные способы, входящие в объем настоящей
технологии в дополнение к перечисленным в настоящем документе, станут

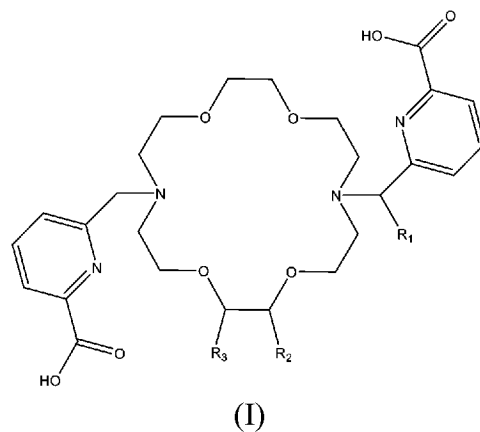
10 очевидными специалистам в данной области после ознакомления с представленными выше описаниями. Предполагается, что такие модификации и вариации включены в объем приложенной формулы изобретения. Следует понимать, что данная технология не ограничивается конкретными способами, реагентами, соединениями, композициями, мечеными соединениями или биологическими системами, которые, конечно, могут
15 изменяться. Также следует понимать, что терминология, используемая в настоящем документе, предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления и не предполагает ограничений. Таким образом, предполагается, что описание будет рассматриваться только в качестве примера, а сфера охвата, объем и сущность
настоящей технологии обозначаются только прилагаемой формулой изобретения,
20 входящими в нее определениями и любыми их эквивалентами.

Примеры осуществления, иллюстративно описанные в настоящем документе, можно соответствующим образом применять в отсутствие любого элемента или элементов, ограничения или ограничений, которое (-ые) явно не описано (-ы) в
настоящем документе. Таким образом, например, термины «содержащий»,
25 «включающий», «закрывающий в себе» и т. д. следует понимать в широком смысле и без ограничений. Кроме того, в настоящем документе термины и выражения применяются для описания, а не для ограничения, и использование таких терминов и выражений не имеет целью полное или частичное исключение каких-либо эквивалентов приведенных и описанных признаков или их частей, при этом
30 допускается возможность различных модификаций в пределах объема заявленной технологии. Кроме того, фразу «состоящий по существу из» следует понимать как включение конкретно этих элементов и тех дополнительных элементов, которые не оказывают существенного влияния на базовые и новые характеристики заявленной технологии. Фраза «состоящий из» исключает любой неуказанный элемент.

Все публикации, заявки на патенты, выданные патенты и другие документы (например, журналы, статьи и/или учебные руководства), упомянутые в настоящем описании, включены в настоящий документ путем ссылки, как если бы каждая отдельная публикация, заявка на патент, выданный патент или другой документ были
 5 конкретно и по отдельности включены в настоящий документ путем ссылки в полном объеме. Определения, которые содержатся в тексте, включенном в настоящий документ путем ссылки, исключаются в той степени, в которой они противоречат определениям, приведенным в настоящем описании.

10 Соединения (макроциклические соединения) изобретения

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы (I):



15 или его фармацевтически приемлемой соли, где:

R_1 представляет собой водород, а R_2 представляет собой $-L_1-R_4$;

альтернативно R_1 представляет собой $-L_1-R_4$, а R_2 представляет собой водород;

R_3 представляет собой водород;

20 альтернативно R_2 и R_3 , взятые вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил, причем 5- или 6-членный циклоалкил необязательно замещен $-L_1-R_4$;

L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

25 R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

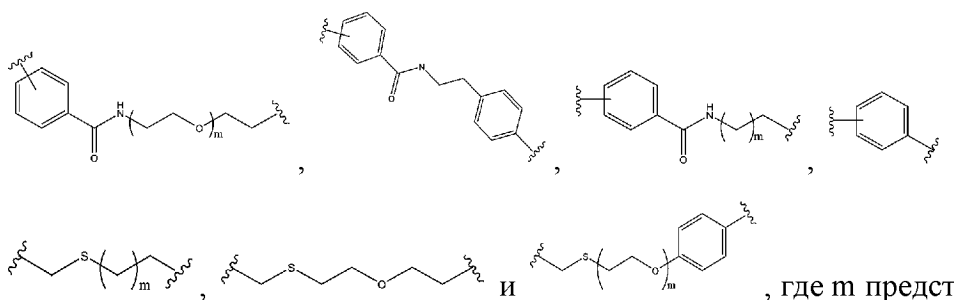
В некоторых вариантах осуществления L_1 отсутствует. Если L_1 отсутствует, R_4 напрямую связан (например, посредством ковалентной связи) с соединением.

В некоторых вариантах осуществления L_1 представляет собой линкер.

Используемый в настоящем документе термин «линкер» относится к химическому фрагменту, который соединяет соединение по изобретению с нуклеофильным фрагментом, электрофильным фрагментом или нацеливающим лигандом. В

5 изобретении может быть использован любой подходящий линкер, известный специалистам в данной области техники с учетом данного описания. Линкеры могут иметь, например, замещенный или незамещенный алкил, замещенный или незамещенный гетероалкильный фрагмент, замещенный или незамещенный арил или гетероарил, полиэтиленгликолевый (ПЭГ) линкер, пептидный линкер, линкер на основе сахара или расщепляемый линкер, например, дисульфидная связь или сайт

10 расщепления протеазой, такой как валин-цитруллин- ρ -аминобензил (РАВ). Примеры линкерных структур, подходящих для применения в изобретении, включают, без ограничений:



В некоторых вариантах осуществления R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент или электрофильный фрагмент. Термин «нуклеофильный фрагмент» или «нуклеофильная группа» относится к функциональной группе, которая предоставляет

20 пару электронов для образования ковалентной связи в химической реакции.

«Электрофильный фрагмент» или «электрофильная группа» относится к функциональной группе, которая принимает пару электронов для образования ковалентной связи в химической реакции. Нуклеофильные группы вступают в реакцию с электрофильными группами и, *наоборот*, в химические реакции с образованием

25 новых ковалентных связей. Взаимодействие нуклеофильной группы или электрофильной группы соединения изобретения с нацеливающим лигандом или другим химическим фрагментом (например, линкером), содержащим соответствующий партнер по реакции, обеспечивает ковалентную связь нацеливающего лиганда или химического фрагмента с соединением изобретения.

Примеры нуклеофильных групп включают, без ограничений, азиды, амины и тиолы. Примеры электрофильных групп включают, без ограничений, реакционноспособные с амином группы, реакционноспособные с тиолом группы, алкинилы и циклоалкинилы. Реакционноспособная с амином группа предпочтительно реагирует с первичными аминами, включая первичные амины, которые существуют на N-конце каждой полипептидной цепи и в боковой цепи остатков лизина. Примеры реакционноспособных с амином групп, подходящих для применения в изобретении, включают, но не ограничиваются ими, N-гидроксисукцинимид (NHS), замещенный NHS (такой как сульфо-NHS), изотиоцианат (-NCS), изоцианат (-NCO), эфиры, карбоксильную кислоту, ацилгалогениды, амиды, алкиламиды и тетра- и перфторфениловый эфир. Реакционноспособная с тиолом группа реагирует с тиолами или сульфгидридами, предпочтительно тиолами, присутствующими в боковой цепи цистеиновых остатков полипептидов. Примеры реакционноспособных с тиолом групп, подходящих для применения в изобретении, включают, но не ограничиваются ими, акцепторы Мишеля (например, малеимид), галоацетил, ацилгалогениды, активированные дисульфиды и фенилоксадиазолсульфон.

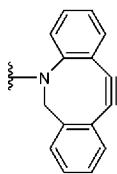
В определенных вариантах осуществления R_4 представляет собой $-NH_2$, $-NCS$ (изотиоцианат), $-NCO$ (изоцианат), $-N_3$ (азидо), алкинил, циклоалкинил, карбоновую кислоту, эфир, амидо, алкиламид, малеимидо, ацилгалогенид, тетразин или транс-циклооктен, более конкретно $-NCS$, $-NCO$, $-N_3$, алкинил, циклоалкинил, $-C(O)R_{13}$, $-COOR_{13}$, $-CON(R_{13})_2$, малеимидо, ацилгалогенид (например, $-C(O)Cl$, $-C(O)Br$), тетразин или транс-циклооктен, причем каждый R_{13} независимо представляет собой водород или алкил.

В некоторых вариантах осуществления R_4 представляет собой алкинильную, циклоалкинильную или азидную группу, что позволяет присоединять соединение изобретения к нацеливающему лиганду или другому химическому фрагменту (например, линкеру) с помощью химической клик-реакции. В таких вариантах осуществления клик-реакция, которая может быть проведена, представляет собой циклоприсоединение по Хьюсену или 1,3-диполярное циклоприсоединение между азидом ($-N_3$) и алкинильной или циклоалкинильной группой с образованием 1,2,4-триазольного линкера или фрагмента. В одном варианте осуществления соединение изобретения содержит алкинильную или циклоалкинильную группу, а нацеливающий лиганд или другой химический фрагмент содержит азидную группу. В другом варианте осуществления соединение изобретения содержит азидную группу, а нацеливающий

лиганд или другой химический фрагмент содержит алкинильную или циклоалкинильную группу.

В определенных вариантах осуществления R_4 представляет собой алкинильную группу, более предпочтительно концевую алкинильную группу или циклоалкинильную группу, которая взаимодействует с азидной группой, в частности посредством промотируемого напряжением азид-алкинового циклоприсоединения (SPAAC).
 5 Примеры циклоалкинильных групп, которые могут реагировать с азидными группами посредством SPAAC, включают в себя, без ограничений, циклооктинил или бициклононин (BCN), двухфтористый циклооктин (DIFO), дибензоциклооктин (DIBO),
 10 кето-DIBO, биарилазациклооктинон (BARAC), дибензоазациклооктин (DIBAC, DBCO, ADIBO), диметоксиазациклооктин (DIMAC), дифторбензоциклооктин (DIFBO), монобензоциклооктин (MOBO) и тетраметокси-дибензоциклооктин (DBCO), (TMDIBO).

В определенных вариантах осуществления R_4 представляет собой дибензоазациклооктинил (DIBAC, DBCO, ADIBO), который имеет следующую структуру:



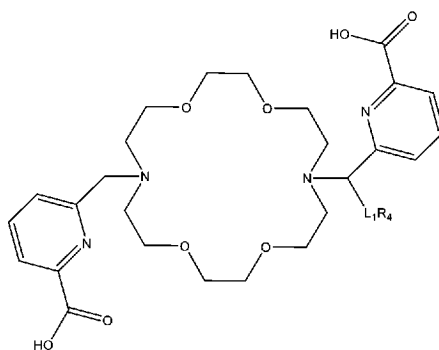
. В вариантах осуществления, в которых R_4 представляет собой DBCO, DBCO может быть ковалентно связан с соединением напрямую или опосредованно, посредством линкера, и предпочтительно присоединен к соединению опосредованно,
 20 посредством линкера.

В определенных вариантах осуществления R_4 представляет собой нацеливающий лиганд. Нацеливающий лиганд может быть связан с соединением напрямую, посредством ковалентной связи, или опосредованно, посредством линкера. Нацеливающий лиганд может представлять собой полипептид, например антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, аптамер или каркасный белок и т. д. В
 25 предпочтительных вариантах осуществления нацеливающий лиганд представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, например антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, например моноклональное антитело (mAb) или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с антигеном,
 30 связанным с неопластическим заболеванием или расстройством, таким как раковый антиген, который может представлять собой простатический специфический

мембранный антиген (PSMA), BCMA, Her2, EGFR, KLK2, CD19, CD22, CD30, CD33, CD79b или нектин-4.

Согласно конкретным вариантам осуществления нацеливающий лиганд специфически связывается с простатическим специфическим антигеном (например, PSMA или KLK2).

В другом варианте осуществления изобретение относится к соединению формулы (II):



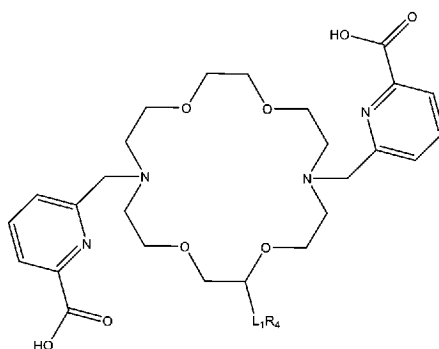
(II)

или его фармацевтически приемлемой соли, где:

L₁ отсутствует или представляет собой линкер; и

R₄ представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

В другом варианте осуществления изобретения относится к соединению формулы (III):



(III)

или его фармацевтически приемлемой соли, где:

L₁ отсутствует или представляет собой линкер; и

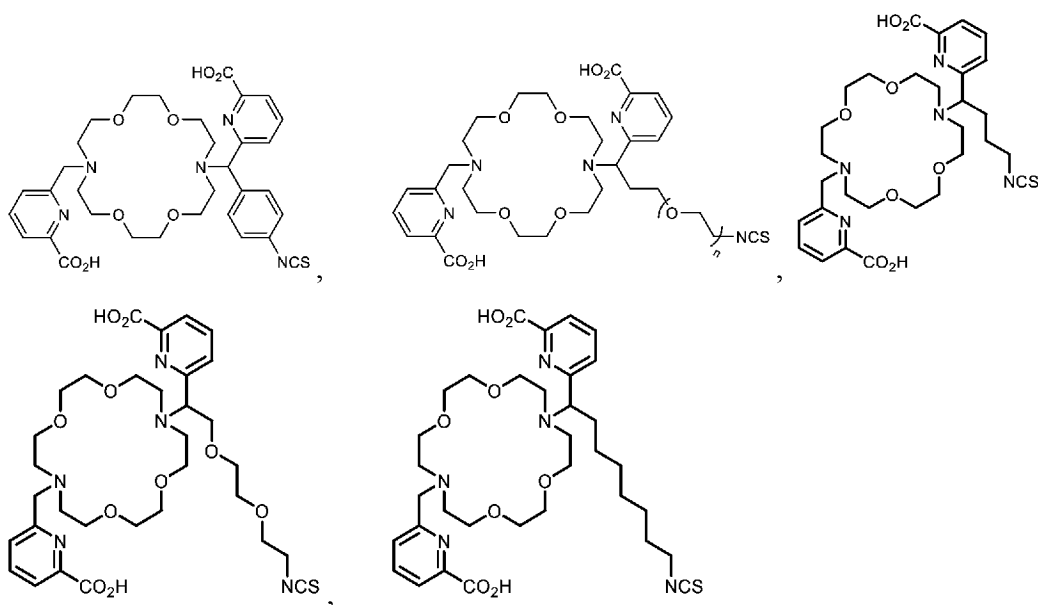
R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

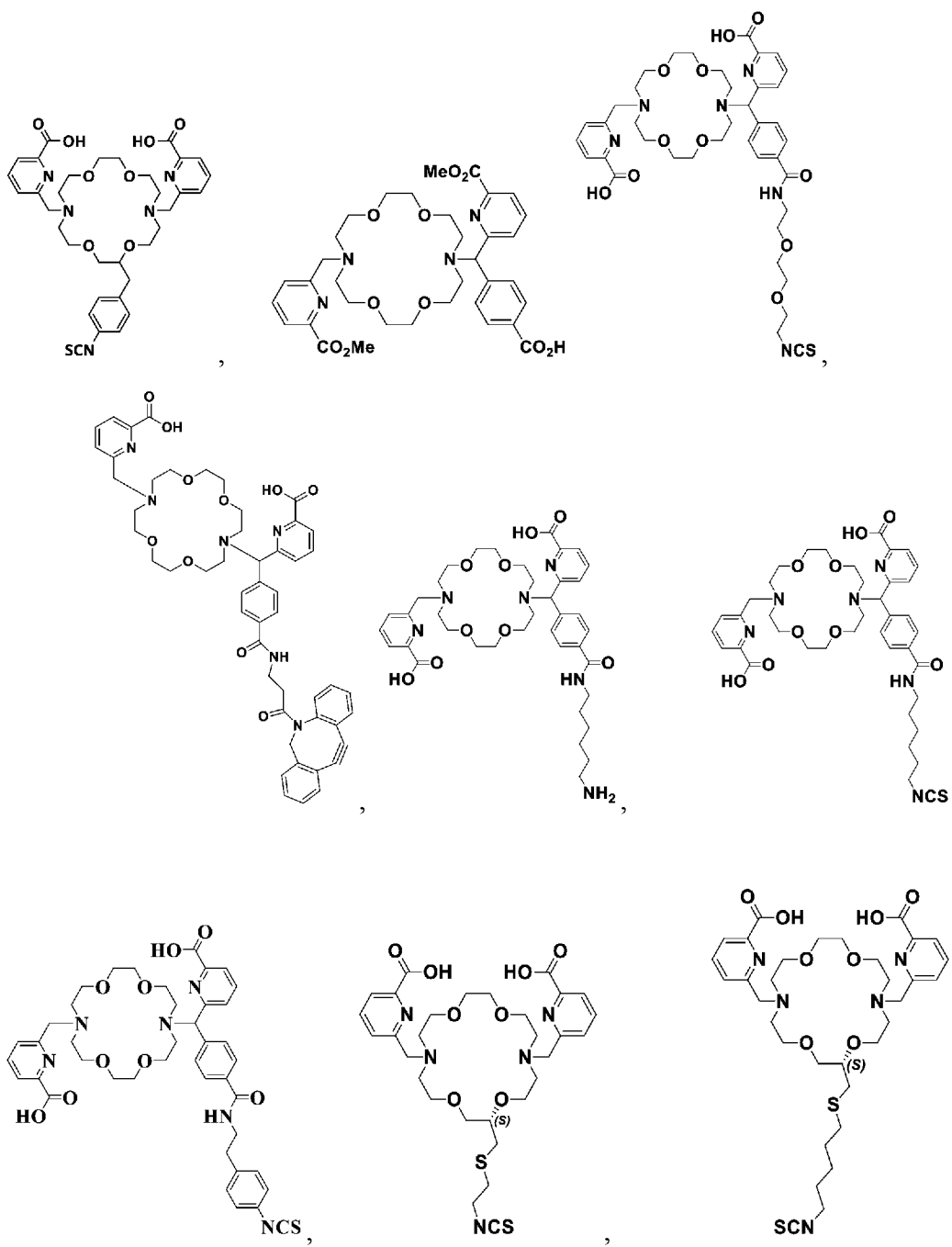
В другом варианте осуществления изобретение относится к соединению, в котором: R_1 представляет собой $-L_1-R_4$; R_2 и R_3 , вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил; L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд; или его фармацевтически приемлемой соли.

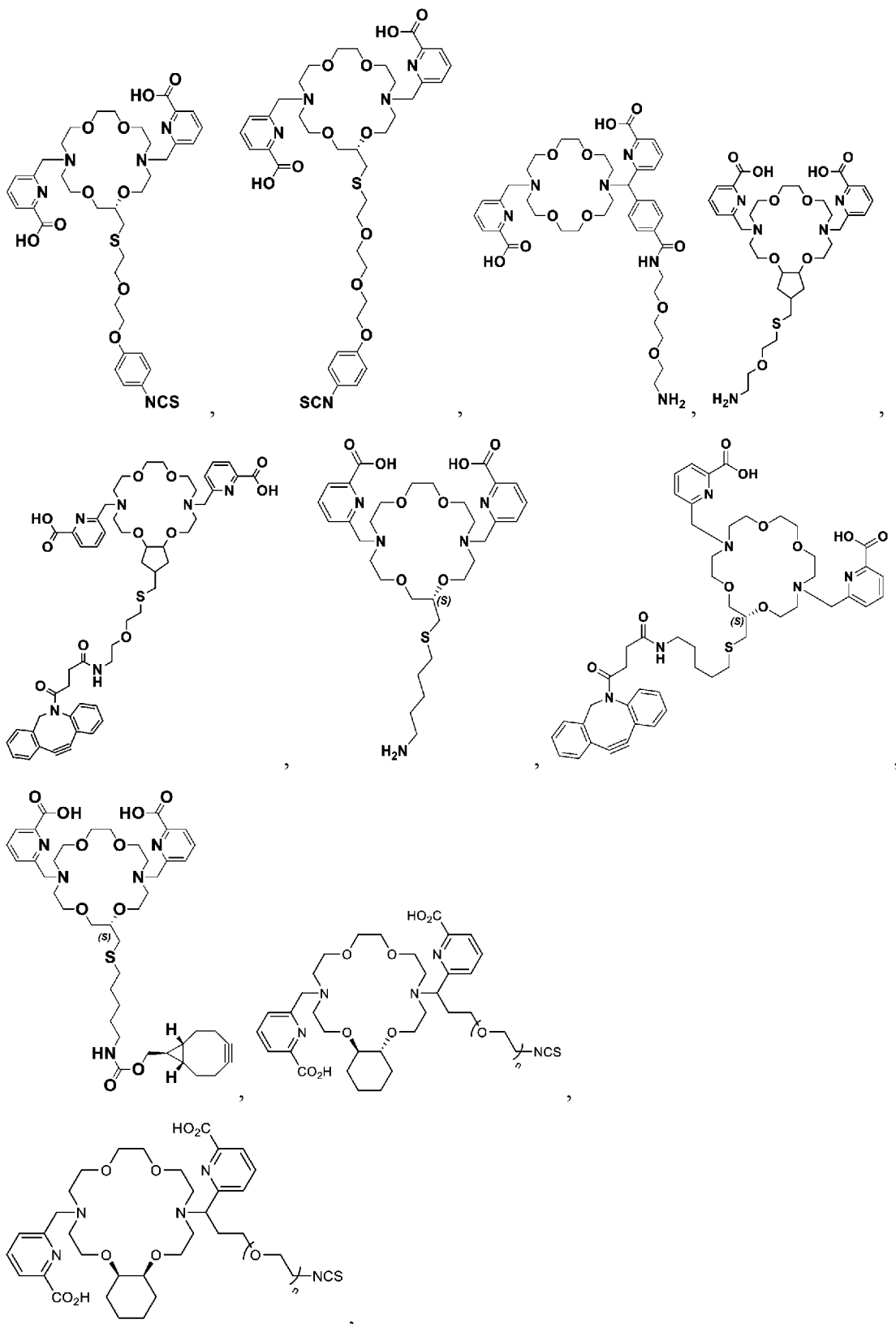
В дополнительном варианте осуществления изобретение относится к соединению, в котором R_1 представляет собой H; R_2 и R_3 , вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил, замещенный $-L_1-R_4$; L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд; или его фармацевтически приемлемой соли.

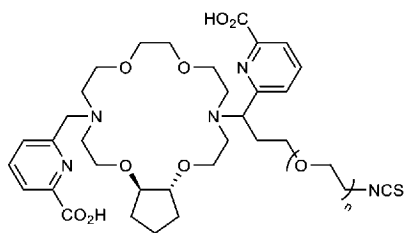
Дополнительные варианты осуществления включают в себя такие, в которых R_4 представляет собой нацеливающий лиганд, причем нацеливающий лиганд выбран из группы, состоящей из антитела, антигенсвязывающего фрагмента антитела, каркасного белка и аптамера.

В одном варианте осуществления соединения по настоящему изобретению представляют собой любой один или более независимо выбранных из группы, состоящей из следующих:

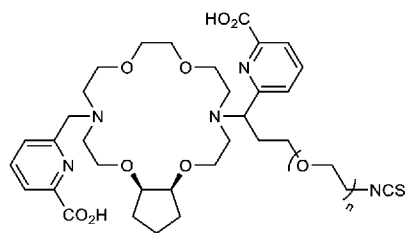








И



, причем n

равно 1–10.

Такие соединения могут быть ковалентно присоединены к нацеливающему лиганду (например, антителу или его антигенсвязывающему фрагменту) с

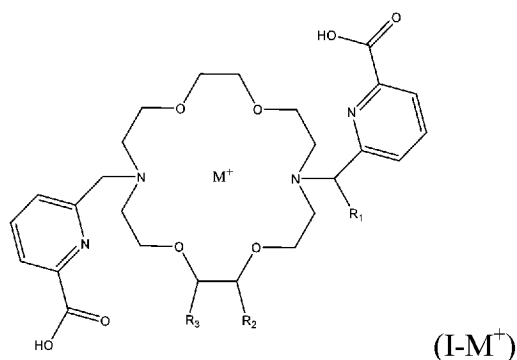
- 5 образованием иммуноконъюгатов или радиоактивных иммуноконъюгатов (при образовании комплекса с металлом) посредством взаимодействия соединения с меченым азидом нацеливающим лигандом с образованием 1,2,3-триазольного линкера посредством химической клик-реакции, как более подробно описано ниже.

- 10 Соединения изобретения можно получать любым известным в данной области способом в контексте настоящего описания. Например, ароматические/гетероароматические группы боковых цепей могут быть присоединены к макроциклической кольцевой части с помощью способов, известных в данной области, таких как проиллюстрированы в примерах и описаны ниже.

15 Комплексы радиоактивных металлов

- В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к комплексам радиоактивных металлов, содержащим ион радиоактивного металла, находящийся в комплексе с соединением изобретения посредством координационной связи. Любое из соединений изобретения, описанных в настоящем документе, может содержать ион радиоактивного металла. Предпочтительно ион радиоактивного металла представляет собой ион альфа-излучающего радиоактивного металла, более предпочтительно ^{225}Ac . Соединения настоящего изобретения могут образовывать комплексы с ионами радиоактивных металлов, в частности ^{225}Ac , при любой специфической активности независимо от примесей металлов, с формированием таким образом комплекса радиоактивного металла, имеющего высокую стабильность хелатирования *in vivo* и *in vitro* и стабильность к провокационным агентам, например диэтилентриаминпентауксусной кислоте (ДТРА).

В определенных вариантах осуществления изобретение относится к структуре комплекса радиоактивного металла формулы (I-M⁺):



или его фармацевтически приемлемой соли, где:

M⁺ представляет собой ион радиоактивного металла, причем M⁺ выбран из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (²²⁵Ac), радий-223 (²²³Ra), висмут-213 (²¹³Bi), свинец-212 (²¹²Pb(II) и/или ²¹²Pb(IV)), тербий-149 (¹⁴⁹Tb), тербий-152 (¹⁵²Tb), тербий-155 (¹⁵⁵Tb), фермий-255 (²⁵⁵Fm), торий-227 (²²⁷Th), торий-226 (²²⁶Th⁴⁺), астат-211 (²¹¹At), церий-134 (¹³⁴Ce), неодим-144 (¹⁴⁴Nd), лантан-132 (¹³²La), лантан-135 (¹³⁵La) и уран-230 (²³⁰U);

R₁ представляет собой водород, а R₂ представляет собой -L₁-R₄;

альтернативно R₁ представляет собой -L₁-R₄, а R₂ представляет собой водород;

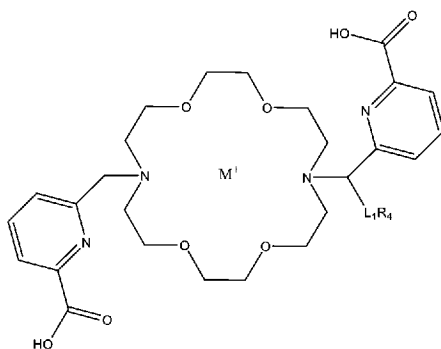
R₃ представляет собой водород;

альтернативно R₂ и R₃, взятые вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил, причем 5- или 6-членный циклоалкил необязательно замещен -L₁-R₄;

L₁ отсутствует или представляет собой линкер;

R₄ представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

В другом варианте осуществления изобретение относится к комплексу радиоактивного металла формулы (II-M⁺):

(II-M⁺)

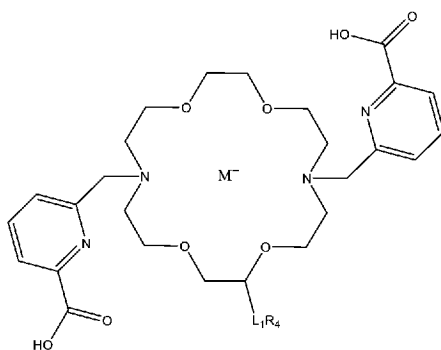
или его фармацевтически приемлемой соли, где:

M⁺ представляет собой ион радиоактивного металла, причем M⁺ выбран из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (²²⁵Ac), радий-223 (²²³Ra), висмут-213 (²¹³Bi), свинец-212 (²¹²Pb(II) и/или ²¹²Pb(IV)), тербий-149 (¹⁴⁹Tb), тербий-152 (¹⁵²Tb), тербий-155 (¹⁵⁵Tb), фермий-255 (²⁵⁵Fm), торий-227 (²²⁷Th), торий-226 (²²⁶Th⁴⁺), астат-211 (²¹¹At), церий-134 (¹³⁴Ce), неодим-144 (¹⁴⁴Nd), лантан-132 (¹³²La), лантан-135 (¹³⁵La) и уран-230 (²³⁰U);

L₁ отсутствует или представляет собой линкер;

R₄ представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

В другом варианте осуществления изобретение относится к комплексу радиоактивного металла формулы (III-M⁺):

(III-M⁺)

или его фармацевтически приемлемой соли, где:

M⁺ представляет собой ион радиоактивного металла, причем M⁺ выбран из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (²²⁵Ac), радий-223 (²²³Ra), висмут-213 (²¹³Bi), свинец-212 (²¹²Pb(II) и/или ²¹²Pb(IV)), тербий-149 (¹⁴⁹Tb), тербий-152 (¹⁵²Tb), тербий-155 (¹⁵⁵Tb), фермий-255 (²⁵⁵Fm), торий-227 (²²⁷Th),

торий-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), астат-211 (^{211}At), церий-134 (^{134}Ce), неодим-144 (^{144}Nd), лантан-132 (^{132}La), лантан-135 (^{135}La) и уран-230 (^{230}U); L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

5 R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

В другом варианте осуществления изобретение относится к комплексу радиоактивного металла, в котором:

10 M^+ представляет собой ион радиоактивного металла, причем M^+ выбран из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (^{225}Ac), радий-223 (^{223}Ra), висмут-213 (^{213}Bi), свинец-212 ($^{212}\text{Pb(II)}$ и/или $^{212}\text{Pb(IV)}$), тербий-149 (^{149}Tb), тербий-152 (^{152}Tb), тербий-155 (^{155}Tb), фермий-255 (^{255}Fm), торий-227 (^{227}Th), торий-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), астат-211 (^{211}At), церий-134 (^{134}Ce), неодим-144 (^{144}Nd), лантан-132 (^{132}La), лантан-135 (^{135}La) и уран-230 (^{230}U);

15 R_1 представляет собой $-L_1-R_4$;

R_2 и R_3 , вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил;

L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

20 R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд; или его фармацевтически приемлемой соли.

В другом варианте осуществления изобретение относится к комплексу радиоактивного металла, в котором:

25 M^+ представляет собой ион радиоактивного металла, причем M^+ выбран из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (^{225}Ac), радий-223 (^{223}Ra), висмут-213 (^{213}Bi), свинец-212 ($^{212}\text{Pb(II)}$ и/или $^{212}\text{Pb(IV)}$), тербий-149 (^{149}Tb), тербий-152 (^{152}Tb), тербий-155 (^{155}Tb), фермий-255 (^{255}Fm), торий-227 (^{227}Th), торий-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), астат-211 (^{211}At), церий-134 (^{134}Ce), неодим-144 (^{144}Nd), лантан-132 (^{132}La), лантан-135 (^{135}La) и уран-230 (^{230}U);

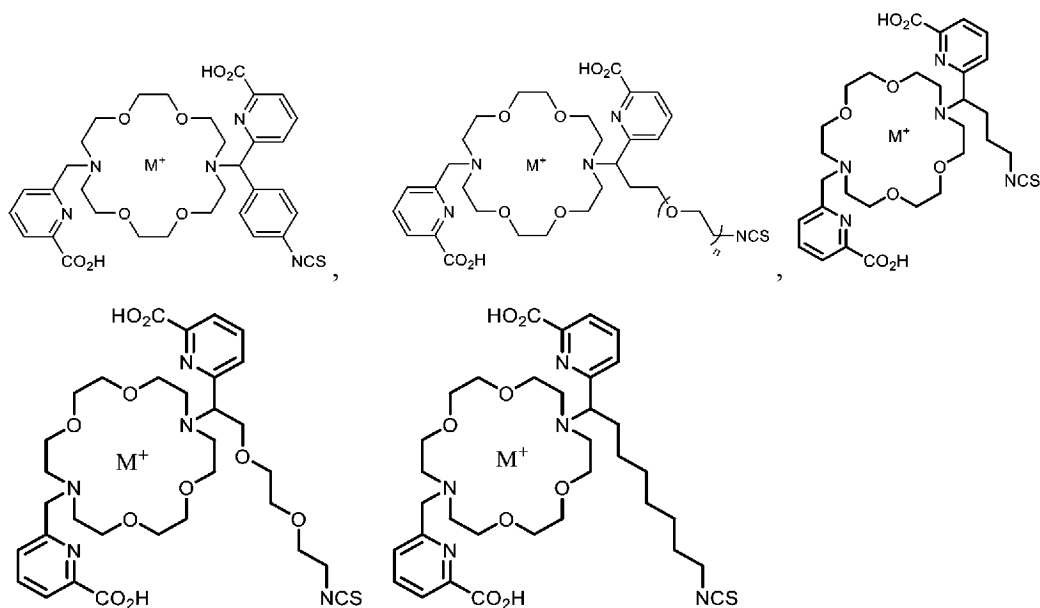
30 R_1 представляет собой H;

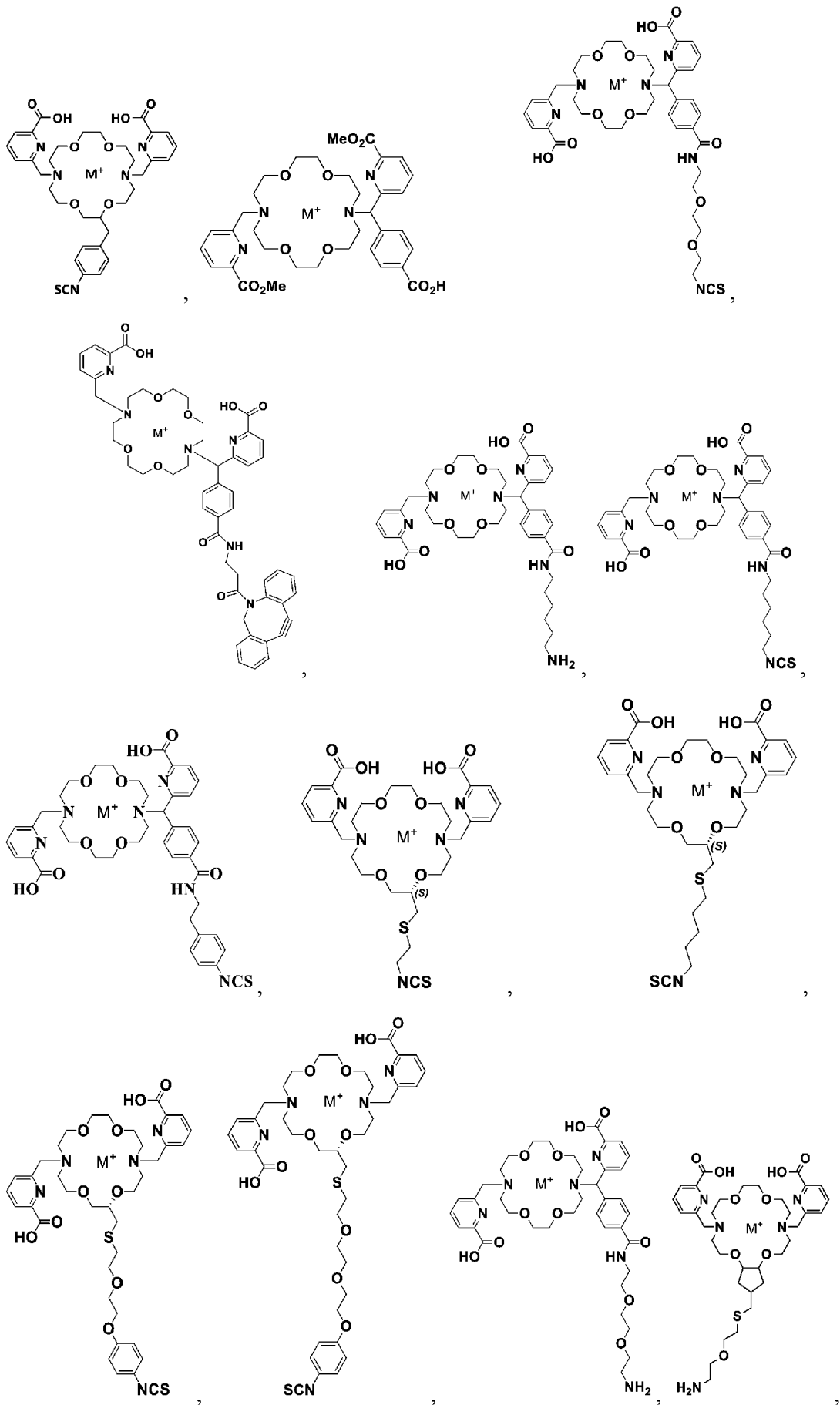
R_2 и R_3 , вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил, замещенный $-L_1-R_4$;

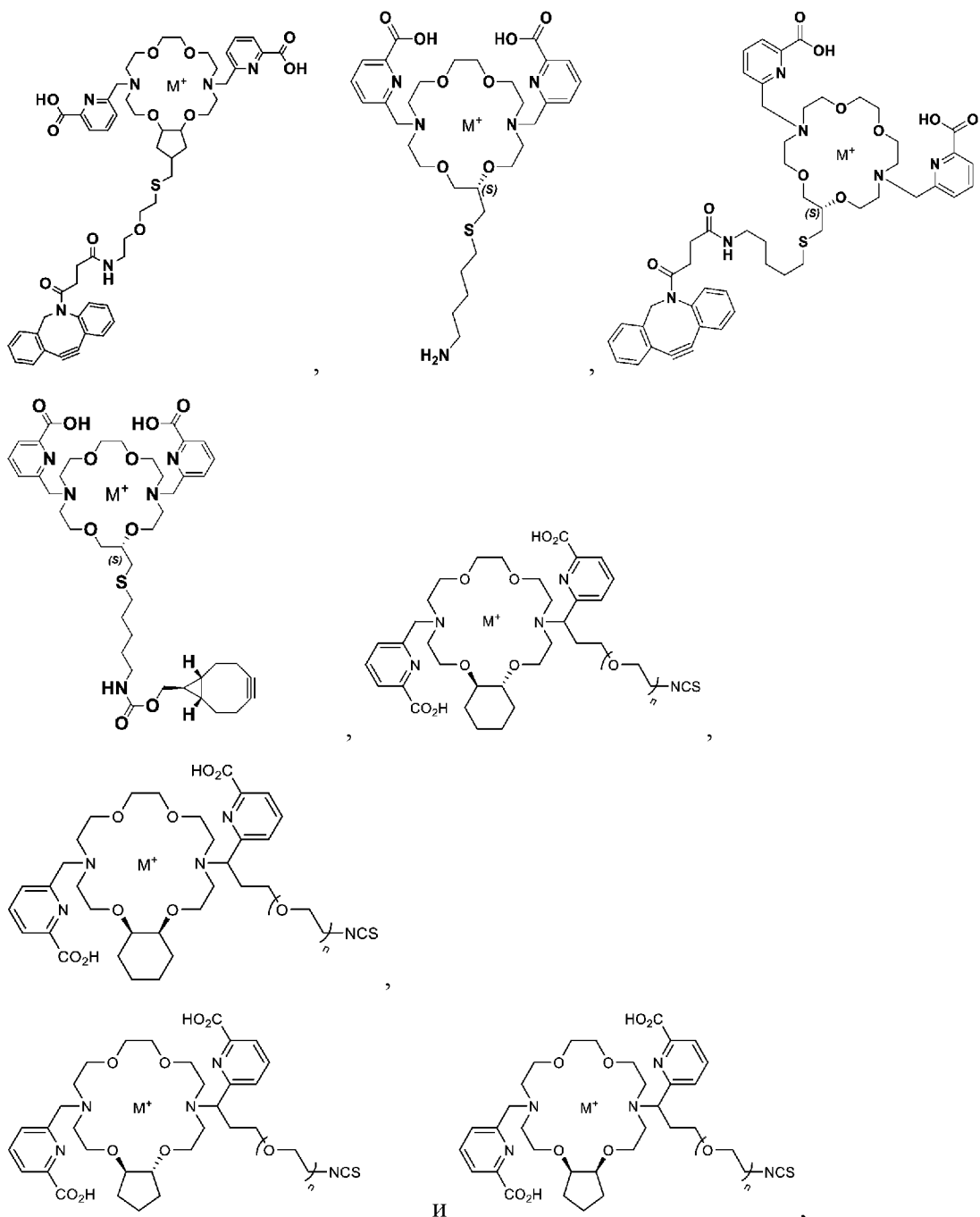
L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд; или его фармацевтически приемлемой соли.

- 5 В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к одному или более комплексам радиоактивных металлов, выбранным из группы, состоящей из:







- 5 причём n представляет собой 1–10, а M^+ представляет собой ион радиоактивного металла, причём M^+ выбран из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (^{225}Ac), радий-223 (^{223}Ra), висмут-213 (^{213}Bi), свинец-212 ($^{212}\text{Pb(II)}$) и/или $^{212}\text{Pb(IV)}$), тербий-149 (^{149}Tb), тербий-152 (^{152}Tb), тербий-155 (^{155}Tb), фермий-255 (^{255}Fm), торий-227 (^{227}Th), торий-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), астат-211 (^{211}At), церий-134 (^{134}Ce), неодим-144 (^{144}Nd), лантан-132 (^{132}La), лантан-135 (^{135}La) и уран-230 (^{230}U).
- 10

Комплексы радиоактивных металлов можно получать любым известным в данной области способом в контексте настоящего описания. Например,

макроциклическое соединение настоящего изобретения можно смешивать с ионом радиоактивного металла и инкубировать смесь, чтобы обеспечить образование комплекса радиоактивного металла. В одном примере осуществления соединения смешивают с раствором $^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$ с образованием радиоактивного комплекса, содержащего ^{225}Ac , который связан с соединением посредством координационной связи. Как описано выше, соединения изобретения эффективно хелатируют радиоактивные металлы, в частности ^{225}Ac . Таким образом, в конкретных вариантах осуществления соединения изобретения смешивают с раствором иона ^{225}Ac в соотношении концентрации соединения изобретения к иону ^{225}Ac 1 : 1000, 1 : 500, 1 : 400, 1 : 300, 1 : 200, 1 : 100, 1 : 50, 1 : 10 или 1 : 5, предпочтительно от 1 : 5 до 1 : 200, более предпочтительно от 1 : 5 до 1 : 100. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления отношение соединения изобретения к ^{225}Ac , которое можно использовать для образования комплекса радиоактивного металла, намного ниже отношения, которое можно обеспечить с другими известными хелаторами ^{225}Ac , например с DOTA. Радиоактивный комплекс можно охарактеризовать мгновенной тонкослойной хроматографией (например, БТСХ-СГ), ВЭЖХ, ЖХ-МС и т. д. Примеры способов описаны в настоящем документе, например в примерах ниже.

Иммунokonъюгаты и радиоактивные иммунokonъюгаты

В другом варианте осуществления изобретение относится к иммунokonъюгатам и радиоактивным иммунokonъюгатам. Соединения изобретения и комплексы радиоактивных металлов изобретения могут быть конъюгированы (т. е. ковалентно связаны) с нацеливающими лигандами, такими как антитело, с получением иммунokonъюгатов и/или радиоактивных иммунokonъюгатов, подходящих, например, для применения в медицинских целях у субъектов, например у людей, таких как нацеленная лучевая терапия. При использовании макроциклических соединений, комплексов радиоактивных металлов и радиоактивных иммунokonъюгатов изобретения нацеливающие лиганды, в частности антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые могут специфически связываться с мишенями, представляющими интерес (такими как раковые клетки), можно сайт-специфически метить ионами радиоактивных металлов с получением радиоактивных иммунokonъюгатов. В частности, при использовании соединений изобретения и/или комплексов радиоактивных металлов изобретения можно получать радиоактивные иммунokonъюгаты, имеющие высокий

уровень комплексообразования ионов радиоактивных металлов, в частности ^{225}Ac , и желаемое соотношение соединение-антитело (CAR).

В соответствии с конкретными вариантами осуществления способы изобретения обеспечивают среднее CAR менее 10, менее 8, менее 6 или менее 4; или CAR от около 2 до около 8, или от около 2 до около 6, или от около 2 до около 4, или от около 2 до около 3; или CAR, составляющий около 2, или около 3, или около 4, или около 5, или около 6, или около 7, или около 8.

Используемый в настоящем документе термин «иммуноконъюгат» представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированный (например, связанный посредством ковалентной связи) со второй молекулой, такой как токсин, лекарственное средство, ион радиоактивного металла, комплекс радиоактивного металла и т. д. «Радиоактивный иммуноконъюгат» (который также может называться радиоконъюгатом), в частности, представляет собой иммуноконъюгат, в котором антитело или его антигенсвязывающий фрагмент помечен радиоактивным металлом или конъюгирован с комплексом радиоактивного металла.

В некоторых вариантах осуществления изобретения иммуноконъюгат содержит соединение изобретения, например соединение формулы (I), как описано в настоящем документе, ковалентно связанное с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, предпочтительно посредством линкера. В зависимости от реакционно-способных функциональных групп (т. е. нуклеофилов и электрофилов) соединений формулы (I) и антитела или его антигенсвязывающего фрагмента между соединениями и антителом или его антигенсвязывающим фрагментом возможно множество способов присоединения с различными связями.

В некоторых вариантах осуществления изобретения радиоактивный иммуноконъюгат содержит комплекс радиоактивного металла изобретения, например комплекс радиоактивного металла, описанный в настоящем документе, ковалентно связанный с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, предпочтительно посредством линкера.

Любое из соединений или комплексов радиоактивных металлов изобретения, описанных в настоящем документе, можно использовать для получения иммуноконъюгатов или радиоактивных иммуноконъюгатов изобретения.

В некоторых вариантах осуществления комплекс радиоактивного металла или радиоактивный иммуноконъюгат изобретения содержит ион альфа-излучающего радиоактивного металла, координированный с фрагментом соединения радиоактивного

комплекса. Предпочтительно ион альфа-излучающего радиоактивного металла представляет собой ^{225}Ac .

В определенных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент в иммуноконъюгате или радиоактивном иммуноконъюгате настоящей заявки может специфически связываться с опухолевым антигеном. Предпочтительно антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с раковым антигеном. Примеры раковых антигенов включают, без ограничений, простатический специфический мембранный антиген (PSMA), BCMA, Her2, EGFR, KLK2, CD19, CD22, CD30, CD33, CD79b и нектин-4.

В одном варианте осуществления антитело специфически связывается с PSMA. Антитело предпочтительно представляет собой PSMB127. Антитело человеческого IgG4, которое связывается с простатическим специфическим мембранным антигеном человека (PSMA), упоминаемым в данном документе как «анти-PSMA мАт» с обозначением «PSMB127», имеет последовательность CDR1 тяжелой цепи (HC) SEQ ID NO: 3, последовательность HC CDR2 SEQ ID NO: 4, последовательность HC CDR3 SEQ ID NO: 5, последовательность CDR1 легкой цепи (LC) SEQ ID NO: 6, последовательность LC CDR2 SEQ ID NO: 7, и последовательность CDR3 LC SEQ ID NO: 8, и имеет последовательность HC SEQ ID NO: 9 и последовательность LC SEQ ID NO: 10. Анти-PSMA мАт экспрессировали и очищали с использованием стандартных методов хроматографии. Антитело PSMB127, его биологическая активность, применение или другая связанная с ним информация описаны, например, в публикации заявки на патент США №US 20200024360A1, содержание которой полностью включено в настоящий документ путем ссылки.

В другом варианте осуществления антитело специфически связывается с человеческим калликреином-2 (KLK2). KLK2 также может именоваться hK2. Предпочтительно антитело представляет собой H11B6 (также называемое h11B6). Антитело H11B6, биологическая активность, применение или другая связанная с ним информация описаны в патенте США №10,100,125, содержание которого полностью включено в настоящий документ путем ссылки. Как описано в настоящем документе, полипептид антитела H11B6 содержит переменную область тяжелой цепи (HC), содержащую аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12 и SEQ ID NO: 13, и переменную область легкой цепи (LC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 16.

Таким образом, в соответствии с конкретными вариантами осуществления радиоактивный конъюгат настоящего изобретения содержит антитело h11B6, которое имеет (a) переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:11 (SDYAWN), CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:12 (YISYSGSTTYNPSLKS), и CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13 (GYYYGSGF); и (b) переменную область легкой цепи (VL), содержащую CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14 (KASESVEYFGTSLMH), CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15 (AASNRES), и CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16 (QQTRKVPYT).

Антитело H11B6 может дополнительно иметь переменную область тяжелой цепи, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18, или иметь константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, и константную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 или иметь тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22.

В данном описании используется схема нумерации по Кабату (Kabat et al., 1991) (Sequences of Immunological Interest, 5th edition, NIH, Bethesda, Md., изложение которой включено в настоящий документ путем ссылки).

В соответствии с конкретными вариантами осуществления антитело по настоящему изобретению содержит переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичность аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17, и/или переменную область легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичность аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления антитело по настоящему изобретению имеет константную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичность аминокислотной последовательности

SEQ ID NO: 19, и/или константную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичность аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 20.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления антитело по
5 настоящему изобретению содержит тяжелую цепь, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичность аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21, и/или легкую цепь, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичность аминокислотной
10 последовательности SEQ ID NO: 22.

Согласно конкретным вариантам осуществления антитело по настоящему изобретению (например, h11B6) содержит или состоит из интактного (т. е. полного) антитела, такого как молекула IgA, IgD, IgE, IgG или IgM.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления антитело по
15 настоящему изобретению (например, h11B6) содержит или состоит из интактной молекулы IgG или варианта. Молекула IgG может быть любого известного подтипа, например IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

Согласно конкретным вариантам осуществления антитело по настоящему изобретению содержит антитело h11B6, которое представляет собой антитело IgG1.
20 Согласно конкретным вариантам осуществления антитело по данному изобретению содержит антитело h11B6, которое относится к изолипу IgG1 каппа. Согласно конкретным вариантам осуществления антитело по настоящему изобретению содержит антитело h11B6, которое представляет собой антитело IgG1 или его вариант, например Fc-вариант.

В любом из вариантов осуществления, описанных в настоящем документе (для простоты в настоящем документе «в любом описанном в настоящем документе варианте осуществления» или т. п.), антитело может включать, без ограничений, белимумаб, могамулизумаб, блинатумомаб, ибритумомаб-тиуксетан, обинутузумаб, офатумумаб, ритуксимаб, инотузумаб озогамидин, моксетумумаб пасудотокс,
30 брентуксимаб ведотин, даратумумаб, ипилимумаб, цетуксимаб, нецитумумаб, панитумумаб, динутуксимаб, пертузумаб, трастузумаб, трастузумаб эмтансин, силтуксимаб, цемиплимаб, ниволумаб, пембролизумаб, оларатумаб, атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб, капромаб пендетид, элотузумаб, деносумаб, зив-афлиберцепт, бевацизумаб, рамуцирумаб, тоситумомаб, гемтузумаб озогамидин, алемтузумаб,

циксутумумаб, гирентуксимаб, нимотузумаб, катумаксомаб или этарацизумаб. В любом варианте осуществления, описанном в настоящем документе, существует возможность, что фрагмент антитела включает в себя антигенсвязывающий фрагмент белимумаба, могамулизумаба, блинатумомаба, ибритумомаба-тиуксетана, 5 обинутузумаба, офатумумаба, ритуксимаба, инотузумаба озогамидина, моксетумумаба пасудотокса, брентуксимаба ведотина, даратумумаба, ипилимумаба, цетуксимаба, нецитумумаба, панитумумаба, динутуксимаба, пертузумаба, трастузумаба, трастузумаба эмтансина, силтуксимаба, цемиплимаба, ниволумаба, пембролизумаба, оларатумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, капромаба пендетид, 10 элотузумаба, деносуаба, зивафлиберцепта, бевацизумаба, рамуцирумаба, тоситумомаба, гемтузумаба озогамидина, алемтузумаба, циксутумумаба, гирентуксимаба, нимотузумаба, катумаксомаба или этарацизумаба. В любом варианте осуществления, описанном в настоящем документе, связывающий пептид может включать, без ограничений, пептид, связывающий простата-специфический 15 мембранный антиген (PSMA), агонист рецептора соматостатина, агонист рецептора бомбезина, соединение, связывающее сепразу, или его связывающий фрагмент.

Иммуноконъюгаты и радиоактивные иммуноконъюгаты изобретения могут быть получены любым способом, известным в данной области в контексте настоящего описания, для конъюгации лигандов, например антител, с соединениями изобретения, 20 включая химические и/или ферментативные способы. Например, иммуноконъюгаты и радиоактивные иммуноконъюгаты могут быть получены с помощью реакции сочетания, включая, без ограничений, образование эфиров, тиоэфиров или амидов из активированных кислот или ацилгалогенидов; реакции нуклеофильного замещения (например, такие как нуклеофильное замещение галогенидного кольца или раскрытие 25 кольца системы с напряженными кольцами); азид-алкиновое циклоприсоединение по Хьюсгену (например, 1,3-диполярное циклоприсоединение между азидом и алкином с образованием 1,2,3-триазольного линкера); тиол-еновое присоединение; образование имида; реакции Дильса-Альдера между тетразинами и транс-циклооктеном (ТСО); и присоединение по Михаэлю (например, присоединение малеимида). В зависимости от 30 используемой реакционно-способной функциональной группы возможно множество других способов присоединения с различными связями. Присоединение лиганда может быть выполнено на соединении, которое координировано с ионом радиоактивного металла, или на соединении, которое не координировано с ионом радиоактивного металла.

В одно варианте осуществления радиоактивный иммуноконъюгат может быть получен путем ковалентного связывания комплекса радиоактивного металла изобретения с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, например, посредством клик-химической реакции (см., например, ФИГ. 2Б и 2Г, упоминается как «радиоактивное мечение с помощью клик-реакции»). В альтернативном варианте осуществления радиоактивный иммуноконъюгат может быть получен сначала путем получения иммуноконъюгата изобретения путем ковалентного связывания соединения изобретения с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, например посредством химической клик-реакции; иммуноконъюгат можно впоследствии метить ионом радиоактивного металла с получением радиоактивного иммуноконъюгата (см., например, ФИГ. 2А и 2В, упоминаемое как «одностадийное прямое радиоактивное мечение»). Как специфичный для остатка (например, ФИГ. 2А и 2Б), так и сайт-специфический способ (например, ФИГ. 2В и 2Г) конъюгации можно использовать для получения иммуноконъюгата и радиоактивных иммуноконъюгатов изобретения.

Специфичные для остатков способы конъюгации с белками хорошо известны и чаще всего включают в себя либо лизиновые боковые цепи с использованием активированного эфира, либо изотиоцианата, либо цистеиновые боковые цепи с малеимидом, галогенацетильным производным или активированным дисульфидом (Brinkley *Bioconjugate Chem* 1992:2). Поскольку большинство белков имеют множество лизиновых и цистеиновых остатков, с помощью таких способов, как правило, получают гетерогенные смеси продуктов с различным числом конъюгированных молекул во множестве аминокислотных положений. Были установлены дополнительные способы, включая тирозинспецифическую конъюгацию (Ban et al. *Bioconjugate Chemistry* 2013:520), методолин-специфические способы (Lin et al. *Science* 2017 (355) 597), дополнительные сфокусированные цистеином подходы (Toda et al. *Angew Chemie* 2013:12592) и другие.

В последнее время для моноклональных антител и других белков были установлены сайт-селективные и сайт-специфические способы конъюгации (Agarwal, P. and C.R. Bertozzi, *Bioconjug Chem*, 2015. 26(2): p. 176–92; Rabuka et al. *Curr Opin Chem Biol* 2010:790). К ним относятся включение ненатуральных аминокислот; слияние белка, представляющего интерес, с «самомаркировочной меткой», такой как SNAP или DHFR, или меткой, которая распознается и модифицируется специфически другим ферментом, таким как сортаза А, лигаза липоевой кислоты и формилглицин-образующего фермента; ферментативная модификация гликана для обеспечения

конъюгации нагрузок, представляющих интерес (Hu et al. *Chem Soc Rev* 2016:1691); применение микробной трансглутаминазы для селективного распознавания определенных положений на антителе; и дополнительные способы с использованием молекулярного распознавания и/или химических подходов для воздействия на селективную конъюгацию (Yamada et al. 2019:5592; Park et al. *Bioconjugate Chem* 2018:3240; Pham et al. *Chembiochem* 2018:799).

В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат или радиоактивный иммуноконъюгат изобретения получают с использованием специфичных для остатка способов конъюгации соединения изобретения с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. Такие специфичные для остатка способы, как правило, приводят к получению иммуноконъюгата или радиоактивного иммуноконъюгата, ковалентно связанного с соединением изобретения или комплексом радиоактивного металла в различных положениях антитела. Можно использовать любой специфичный для остатка способ образования конъюгатов белка или антитела, известный специалистам в данной области техники с учетом данного описания. Примеры специфичных для остатка способов конъюгации, которые можно использовать, включают, без ограничений, конъюгацию соединения изобретения или комплекса радиоактивного металла с лизиновыми остатками антитела с использованием соединения изобретения или комплекса радиоактивного металла, содержащего, например, активированный сложный эфир или изотиоцианатную группу; конъюгацию с цистеиновыми остатками антитела с использованием соединения изобретения или комплекса радиоактивного металла, содержащего, например, малеимид, галогенацетильное производное, ацилгалогенид, группу активированного дисульфида или метилсульфонил фенилоксадиазольную группу; конъюгацию с остальными остатками тирозина антитела с помощью соединения изобретения или комплекса радиоактивного металла, содержащего, например, 4-фенил-3Н-1,2,4-триазаолин-3,5(4Н)-дионы (PTAD); и конъюгацию с метиониновыми остатками антитела с использованием соединения изобретения или комплекса радиоактивного металла, содержащего, например, производное оксазиридина. Кроме того, перед конъюгацией с соединением изобретения или комплексом радиоактивного металла изобретения можно пометить антитело в конкретном остатке би-ортогональной реакционно-способной функциональной группой с использованием одного или более из описанных выше способов. Например, остатки тирозина можно сайт-специфически пометить би-ортогональной реакционно-способной функциональной группой с использованием

производного оксазиридина, связанного с би-ортогональной реакционно-способной функциональной группой, например, азидо, алкинилом или циклоалкинилом, а затем антитело, содержащее меченые остатки тирозина, может быть конъюгировано с соединением изобретения или комплексом радиоактивного металла изобретения с использованием соединения изобретения или комплекса радиоактивного металла, несущего совместимую реакционно-способную функциональную группу.

В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат или радиоактивный иммуноконъюгат изобретения можно получить с использованием сайт-специфичных или сайт-селективных способов конъюгации соединения изобретения с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В отличие от специфичных для остатков способов, «сайт-специфические» или «сайт-селективные» способы, как правило, приводят к получению иммуноконъюгата или радиоактивного иммуноконъюгата, ковалентно связанного с соединением изобретения или комплексом радиоактивного металла в указанном положении антитела. Можно использовать любой сайт-специфический способ формирования конъюгатов белка или антитела, известный специалистам в данной области техники с учетом данного описания. Например, неприродная аминокислота (например, азидо-или алкинил-аминокислота) может быть сайт-специфически включена в антитело с использованием мутантной аминоксил-т-РНК-синтазы, которая может селективно аминоксиллировать свою тРНК неприродной аминокислотой, представляющей интерес. Затем мутантную аминоксиллированную тРНК вместе с амбер-супрессорной тРНК можно использовать для сайт-специфического включения ненатуральной аминокислоты в белок в ответ на янтарный бессмысленный кодон. Антитело, которое является сайт-специфически меченым одним или более из описанных выше способов, может быть впоследствии конъюгировано с соединением изобретения или комплексом радиоактивного металла изобретения, несущим совместимую реакционноспособную функциональную группу.

В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способу получения радиоактивного иммуноконъюгата, который включает взаимодействие соединения изобретения или радиоактивного комплекса изобретения, в котором R_4 представляет собой нуклеофильный или электрофильный фрагмент, с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом или модифицированным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащим нуклеофильный или электрофильный фрагмент.

В одном варианте осуществления изобретение относится к способу, который включает взаимодействие соединения изобретения с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом или модифицированным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащим нуклеофильную или электрофильную функциональную группу, с образованием иммуноконъюгата, имеющего ковалентную связь между соединением изобретения и антителом или его антигенсвязывающим фрагментом или модифицированным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, а последующее взаимодействие иммуноконъюгата с ионом радиоактивного металла происходит таким образом, чтобы ион радиоактивного металла связывался с соединением изобретения иммуноконъюгата посредством координационного связывания с образованием таким образом радиоактивного иммуноконъюгата. Этот вариант осуществления может называться способом «одностадийного прямого радиоактивного мечения» (например, как схематически показано на ФИГ. 2В), поскольку существует только одна стадия химической реакции с участием радиоактивного металла.

В другом варианте осуществления изобретение относится к способу, который включает взаимодействие радиоактивного комплекса изобретения с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом или модифицированным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащим нуклеофильную или электрофильную функциональную группу, с формированием таким образом радиоактивного иммуноконъюгата. Этот вариант осуществления может называться способом «радиоактивного мечения с помощью клик-реакции» (например, как схематически показано на ФИГ. 2Г). Модифицированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент можно получить любым способом, известным в данной области техники с учетом настоящего описания, например, путем мечения антитела по конкретному остатку би-ортогональной реакционноспособной функциональной группой с использованием одного или более из описанных выше способов, или путем сайт-специфического включения ненатуральной аминокислоты (например, азидо- или алкинил-аминокислоты) в антитело с использованием одного или более из описанных выше способов. Степень мечения (DOL), иногда называемая степенью замещения (DOS), является особенно полезным параметром для описания и оптимизации биоконъюгатов, таких как антитело, модифицированное ненатуральной аминокислотой. Она выражается в виде среднего количества ненатуральной аминокислоты, связанной с молекулой белка (например, антителом), или в виде

молярного соотношения в форме метки/белка. DOL может быть определена из спектра поглощения меченого антитела любым способом, известным в данной области.

В определенных вариантах осуществления изобретения иммуноконъюгаты и радиоактивные иммуноконъюгаты настоящего изобретения получают с использованием клик-химической реакции. Например, радиоактивные иммуноконъюгаты изобретения могут быть получены с использованием клик-химической реакции, называемой «радиоактивное мечение с помощью клик-реакции» (см., например, ФИГ. 2Б и 2Г). При радиоактивном мечении с помощью клик-реакции используют партнеров по клик-реакции, предпочтительно азид и алкин (например, циклооктин или производное циклооктина), с образованием ковалентной триазольной связи между радиоактивным комплексом (ионом радиоактивного металла, связанным с соединением изобретения) и антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. Способы радиоактивного мечения антител с помощью клик-реакции описаны, например, в международной заявке на патент №PCT/US18/65913, озаглавленной «Радиоактивное мечение полипептидов» (Radiolabeling of Polypeptides), описание которой включено в настоящий документ посредством ссылки. В других вариантах осуществления, называемых «однотайпным прямым радиоактивным мечением», иммуноконъюгаты получают с использованием клик-химической реакции между антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и соединением изобретения; иммуноконъюгаты затем приводят в контакт с ионом радиоактивного металла с образованием радиоактивного иммуноконъюгата (см., например, ФИГ. 2А и 2В).

В одном варианте осуществления изобретение относится к способу получения радиоактивного иммуноконъюгата, который включает связывание иона радиоактивного металла с соединением изобретения (например, посредством координационной связи).

В одном варианте осуществления способ «однотайпного прямого радиоактивного мечения» для получения радиоактивного иммуноконъюгата включает приведение иммуноконъюгата (т. е. соединения-полипептида комплекса изобретения) в контакт с ионом радиоактивного металла с образованием радиоактивного иммуноконъюгата, причем иммуноконъюгат содержит соединение настоящего изобретения. В соответствии с конкретными вариантами осуществления иммуноконъюгаты обеспечивают посредством химической клик-реакции между соединением настоящего изобретения и полипептидом. В соответствии с конкретными вариантами осуществления радиоактивный иммуноконъюгат обеспечивают без условий отсутствия металлов (например, без каких-либо стадий удаления или

активного исключения из реакционной смеси обычных примесей металлов). Это противоречит некоторым традиционным способам, в которых необходимо радиоактивно метить антитело в строгих условиях отсутствия металлов во избежание конкурентного (непродуктивного) хелатирования распространенных металлов, таких как железо, цинк и медь, что создает значительные трудности в процессе производства.

В одном варианте осуществления изобретение относится к способу получения радиоактивного иммуноконъюгата (включая способ «одностадийного прямого радиоактивного мечения»), включающему:

- (i) взаимодействие модифицированного полипептида с соединением согласно изобретению, причем модифицированный полипептид представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, состоящий из азидогруппы, с получением иммуноконъюгата; и
- (ii) взаимодействие иммуноконъюгата с ионом радиоактивного металла с получением радиоактивного иммуноконъюгата.

В другом варианте осуществления изобретение относится к способу получения радиоактивного иммуноконъюгата (включая способ «одностадийного прямого радиоактивного мечения»), включающему:

- (i) взаимодействие модифицированного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, состоящего из азидной группы, с соединением формулы I с получением иммуноконъюгата; и
- (ii) взаимодействие иммуноконъюгата с ионом радиоактивного металла с получением радиоактивного иммуноконъюгата.

В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способу получения радиоактивного иммуноконъюгата (включая способ «клик-радиомечения», например представленный на ФИГ. 2Г), включающему:

- (i) взаимодействие модифицированного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с радиоактивным комплексом в условиях, позволяющих азидной группе взаимодействовать с алкинильной или циклоалкинильной группой, с получением таким образом радиоактивного иммуноконъюгата.

В данной области техники известны условия проведения клик-реакций, а в изобретении могут быть использованы любые условия для проведения клик-реакций, известные специалистам в данной области техники с учетом данного описания. Примеры условий включают, без ограничений, инкубацию модифицированного

полипептида и радиоактивного комплекса в соотношении от 1 : 1 до 1000 : 1 при рН от 4 до 10 и температуре от 20 °С до 70 °С.

Способы радиоактивного мечения, описанные выше, позволяют образовывать комплекс иона радиоактивного металла в условиях низкого или высокого рН и/или высокой температуры для достижения максимальной эффективности, что можно обеспечить без риска инактивации алкинового партнера по реакции. Эффективное комплексообразование и эффективная реакция SPAAC между меченым азидом антителом или его антигенсвязывающим фрагментом приводят к получению радиоактивных иммуноконъюгатов с высоким радиохимическим выходом даже при низких соотношениях азид : антитело. Единственной стадией, в которой следовые металлы должны быть исключены, является образование комплекса ионов радиоактивного металла с фрагментом макроциклического соединения; стадии производства, очистки и конъюгации антител не должны проводиться в условиях отсутствия металлов.

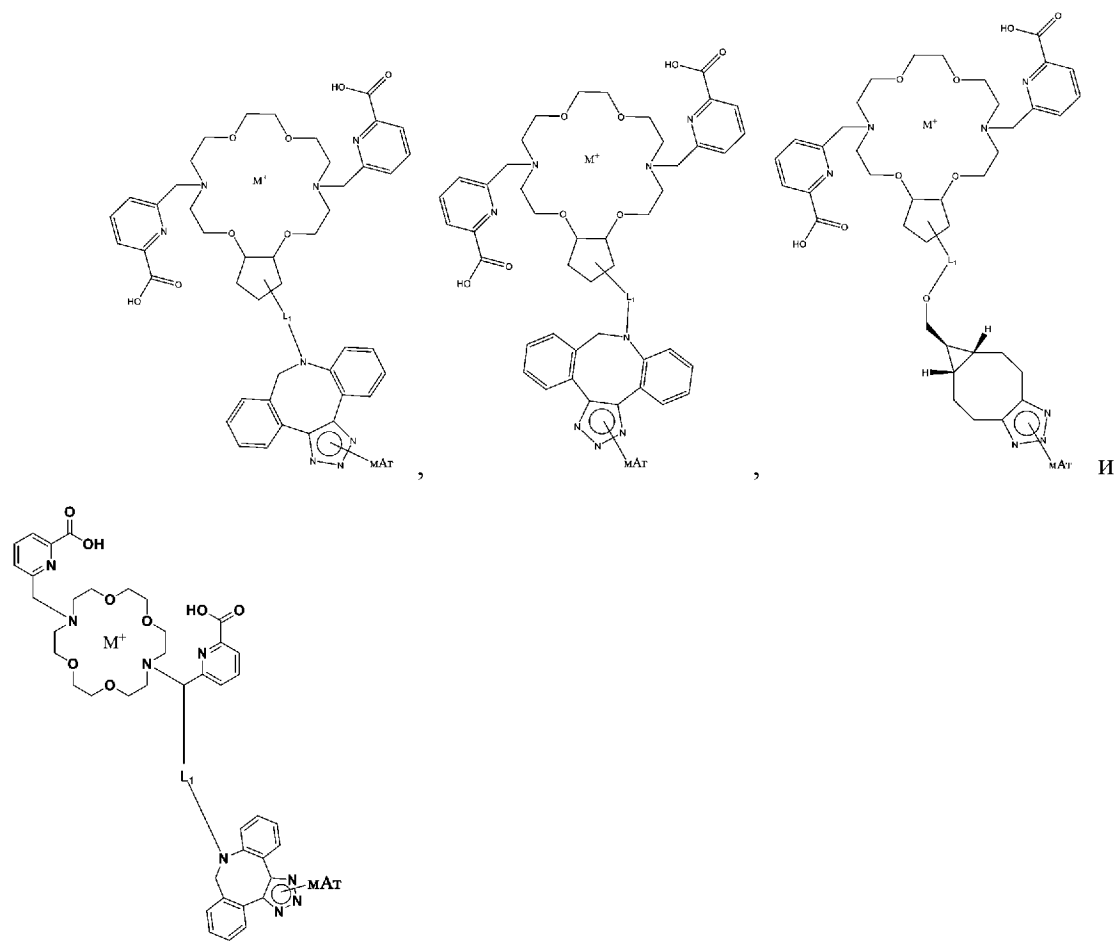
Соединения изобретения и комплексы радиоактивных металлов изобретения также можно использовать при получении сайт-специфических радиоактивно меченных полипептидов, например антител. Способы радиоактивного мечения, описанные в настоящем документе, облегчают сайт-специфическое получение радиоактивных иммуноконъюгатов, используя преимущества известных способов для сайт-специфического введения азидных групп в антитела (Li, X., et al. Preparation of well-defined antibody-drug conjugates through glycan remodeling and strain-promoted azide-alkyne cycloadditions. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014. 53(28): p. 7179-82; Xiao, H., et al., Genetic incorporation of multiple unnatural amino acids into proteins in mammalian cells. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2013. 52(52): p. 14080-3). Способы присоединения молекул к белкам или антителам сайт-специфическим образом известны в данной области, и любой способ сайт-специфического мечения антител, известный специалистам в данной области, может быть использован в изобретении с учетом данного описания. Примеры способов сайт-специфической модификации антител, подходящих для использования в изобретении, включают, без ограничений, включение сконструированных остатков цистеина (например, THIOMAB™), применение неприродных аминокислот или гликанов (например, селеноцистеина, p-AcPhe, формилглицин-образующего фермента (FGE, SMARTag™) и т. д.) и ферментативные способы (например, применение гликотрансферазы, эндогликозидазы, трансклутаминазы микроорганизмов или бактерий (MTG или BTG), сортазы А и т. д.).

В определенных вариантах осуществления модифицированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в получении иммуноконъюгата или радиоактивного иммуноконъюгата изобретения получают путем подгонки антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с помощью бактериальной эндогликозидазы, специфической для β -1,4-связи между остатками основного GlcNAc в сайте гликозилирования Fc антитела, например, GlycINATOR (Genovis), которая оставляет внутреннюю часть GlcNAc интактной на Fc, что обеспечивает сайт-специфическое включение азидсахаров в этот сайт. Подогнанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент могут затем реагировать с меченым азидом сахаром, таким как UDP-N-азидоацетилгалактозамин (UDP-GalNAz) или UDP-6-азидо-6-дезоксигалактозамин, в присутствии гликозилтрансферазы, такой как галактозилтрансфераза GalT или GalNAc-трансфераза, чтобы таким образом получить модифицированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

В других вариантах осуществления модифицированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в получении иммуноконъюгата или радиоактивного иммуноконъюгата изобретения получают путем дегликозилирования антитела или его антигенсвязывающего фрагмента амидазой. Полученное в результате дегликозилированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент может затем реагировать с азидоамином, предпочтительно 3-азидопропиламином, 6-азидогексиламином или любым азидо-линкер-амином или любым азидо-алкилом/гетероалкилом, таким как азидо-полиэтиленгликоль (ПЭГ)-амин, например, O-(2-аминоэтил)-O'-(2-азидоэтил)тетраэтиленгликоль, O-(2-аминоэтил)-O'-(2-азидоэтил)пентаэтиленгликоль, O-(2-аминоэтил)-O'-(2-азидоэтил)триэтиленгликоль и т. д., или в присутствии микробной трансклутаминазы, чтобы таким образом получить модифицированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

Для получения радиоактивного иммуноконъюгата изобретения можно использовать любой описанный в настоящем документе комплекс радиоактивного металла. В конкретных вариантах осуществления комплекс радиоактивного металла имеет структуру формулы (I-M⁺).

В определенных вариантах осуществления радиоактивный иммуноконъюгат представляет собой одну или более структур, независимо выбранных из группы, состоящей из:



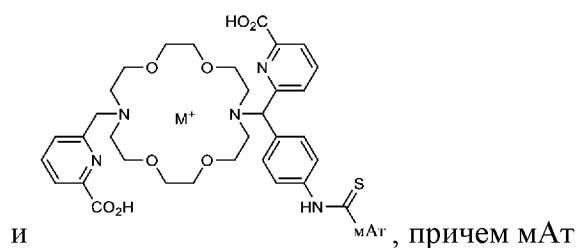
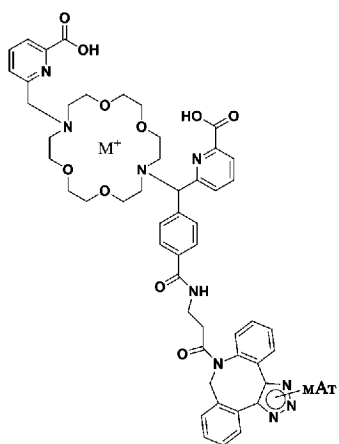
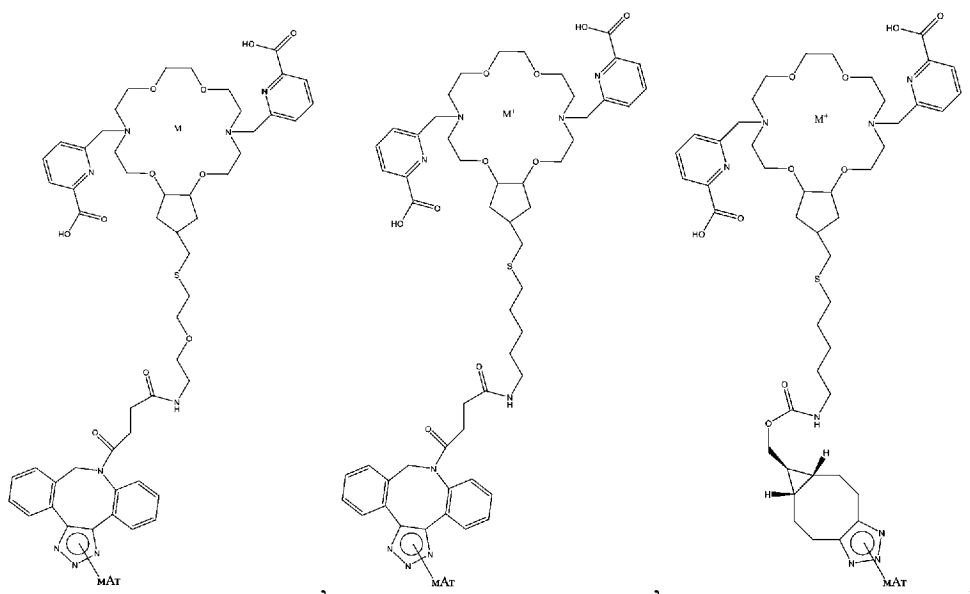
где:

- 5 M^+ представляет собой ион радиоактивного металла, причем M^+ выбран из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (^{225}Ac), радий-223 (^{223}Ra), висмут-213 (^{213}Bi), свинец-212 ($^{212}\text{Pb(II)}$ и/или $^{212}\text{Pb(IV)}$), тербий-149 (^{149}Tb), тербий-152 (^{152}Tb), тербий-155 (^{155}Tb), фермий-255 (^{255}Fm), торий-227 (^{227}Th), торий-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), аstat-211 (^{211}At), церий-134 (^{134}Ce), неодим-144 (^{144}Nd),
- 10 лантан-132 (^{132}La), лантан-135 (^{135}La) и уран-230 (^{230}U);

L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

MAт представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

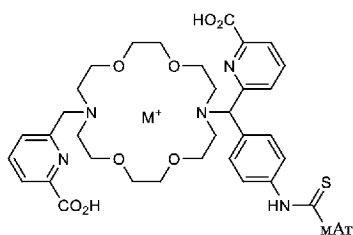
- 15 В другом варианте осуществления радиоактивный иммуноконъюгат представляет собой одну или более структур, независимо выбранных из группы, состоящей из:



представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

Следует отметить, что в структурах радиоактивных иммуноконъюгатов, изображенных в данном документе, содержащих «мАт», в структурах не показан остаток мАт (например, остаток лизина мАт), который связан с комплексом радиоактивного металла.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предложен радиоактивный иммуноконъюгат, имеющий следующую структуру:



(также в настоящем документе обозначается как антительный конъюгат ТОРА-[С7]-фенилтиомочевины-h11B6),

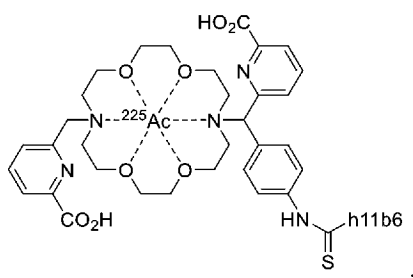
причем M^+ представляет собой актин-225 (^{225}Ac), и

при этом МАТ обладает специфичностью связывания с hK2; например,

(i) причем МАТ представляет собой антитело h11B6, которое включает
 5
 10
 вариабельную область тяжелой цепи (HC), содержащую аминокислотные
 последовательности SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12 и SEQ ID NO: 13, и вариабельную
 область легкой цепи (LC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID
 NO: 14 и SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 16; и/или

(ii) при этом МАТ содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH),
 10
 15
 имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по
 меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% или 100% идентичность аминокислотной
 последовательности SEQ ID NO: 17, и/или вариабельную область легкой цепи (VL),
 имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по
 меньшей мере 95% или по меньшей мере 98%, или 100% идентичность
 аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предложен
 15
 радиоактивный иммуноконъюгат, имеющий следующую структуру:



(i) причем МАТ представляет собой антитело h11B6, которое включает
 20
 вариабельную область тяжелой цепи (HC), содержащую аминокислотные
 последовательности SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12 и SEQ ID NO: 13, и вариабельную
 область легкой цепи (LC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID
 NO: 14 и SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 16; и/или

(ii) при этом МАТ содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH),
 25
 имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по
 меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% или 100% идентичность аминокислотной
 последовательности SEQ ID NO: 17, и/или вариабельную область легкой цепи (VL),
 имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по
 меньшей мере 95% или по меньшей мере 98%, или 100% идентичность
 аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18.

Радиоактивные иммуноконъюгаты, полученные способами, описанными в настоящем документе, могут быть проанализированы с использованием способов, известных специалистам в данной области техники с учетом настоящего описания. Например, анализ методом ЖХ/МС можно использовать для определения соотношения соединения и меченного полипептида, например, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента; аналитическую эксклюзионную хроматографию можно использовать для определения олигомерного состояния полипептидов и конъюгатов полипептида, например, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента; радиохимический выход можно определить с помощью мгновенной тонкослойной хроматографии (например, БТСХ-СГ), а радиохимическую чистоту можно определить с помощью эксклюзионной ВЭЖХ. Примеры способов описаны в настоящем документе, например в примерах ниже.

Фармацевтические композиции и способы применения

В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение изобретения, комплекс радиоактивного металла, иммуноконъюгат или радиоактивный иммуноконъюгат изобретения, а также фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтическая композиция может содержать один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов.

В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит соединение изобретения и фармацевтически приемлемый носитель.

В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит комплекс радиоактивного металла изобретения и фармацевтически приемлемый носитель.

В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит иммуноконъюгат изобретения и фармацевтически приемлемый носитель.

В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит радиоактивный иммуноконъюгат изобретения и фармацевтически приемлемый носитель.

В настоящем документе термин «носитель» относится к любому эксципиенту, разбавителю, наполнителю, соли, буферному раствору, стабилизатору, солюбилизатору, маслу, липиду, везикуле, содержащей липид, микросфере, липосомальной инкапсуляции или другому материалу, хорошо известному в данной

области техники, для применения в фармацевтических составах. Следует понимать, что характеристики носителя, эксципиента или разбавителя будут зависеть от способа введения для конкретного применения. В контексте настоящего документа термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к нетоксичному материалу, который не оказывают негативное влияние на эффективность композиции в соответствии с настоящим изобретением или биологической активности композиции в соответствии с настоящим изобретением. В соответствии с конкретными вариантами осуществления с учетом данного описания в изобретении можно использовать любой фармацевтически приемлемый носитель, приемлемый для применения в фармацевтической композиции на основе антитела или на основе радиоактивного комплекса.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления композиции, описанные в настоящем документе, могут иметь состав, благодаря которому они приемлемы для предполагаемого способа введения субъекту. Например, композиции, описанные в данном документе, могут быть составлены так, чтобы они подходили для парентерального введения, например, внутривенного, подкожного, внутримышечного или внутриопухолевого введения.

В определенных вариантах осуществления изобретение относится к способам селективного воздействия на неопластические клетки для лучевой терапии и лечения неопластических заболеваний или расстройств. В способах изобретения можно использовать любой из радиоактивных комплексов или радиоактивных иммуноконъюгатов и фармацевтических композиций, описанных в настоящем документе.

«Новообразование» представляет собой аномальную массу ткани, которая приводит к чрезмерному делению клеток или отсутствию их естественного отмирания. Новообразования могут быть доброкачественными (не являются раком) или злокачественными (являются раком). Новообразование также называют опухолью. Неопластическое заболевание или расстройство представляет собой заболевание или расстройство, связанное с новообразованием, такое как рак. Примеры неопластического заболевания или расстройства включают, без ограничений, диссеминированные злокачественные новообразования и солидные злокачественные опухоли.

В определенных вариантах осуществления изобретение относится к способу лечения рака предстательной железы (например, метастатического рака предстательной

железы или метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы) у нуждающегося в этом субъекта, который включает введение субъекту терапевтически эффективного количества иммуноконъюгата или радиоактивного иммуноконъюгата, описанного в настоящем документе, причем иммуноконъюгат или радиоактивный иммуноконъюгат содержит комплекс радиоактивного металла, как описано в настоящем документе, конъюгированный с H11B6.

Варианты осуществления настоящего изобретения особенно полезны для лечения пациентов, у которых диагностирован рак предстательной железы; например, пациентов, которые имеют рак предстательной железы на поздней стадии. В соответствии с одним вариантом осуществления рак представляет собой нелокализованный рак предстательной железы. Согласно еще одному варианту осуществления рак представляет собой метастатический рак предстательной железы. В соответствии с другим вариантом осуществления рак представляет собой кастрационно-резистентный рак предстательной железы (CRPC). В соответствии с другим вариантом осуществления рак представляет собой метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы (mCRPC). В соответствии с другим вариантом осуществления рак представляет собой mCRPC с аденокарциномой.

Другие примеры заболеваний, подлежащих лечению или предназначенных для лучевой терапии способами изобретения, как описано в настоящем документе, включают, без ограничений, гипертрофию, ишемическую болезнь сердца или сосудистую окклюзию, заболевание или расстройство, связанное с инфицированной клеткой, микроорганизмом или вирусом, или заболевание или расстройство, связанное с воспалительной клеткой, такое как ревматоидный артрит (РА).

В одном варианте осуществления изобретение относится к способу селективного воздействия на неопластические клетки для лучевой терапии, который включает введение нуждающемуся в этом субъекту радиоактивного иммуноконъюгата или фармацевтической композиции изобретения.

В одном варианте осуществления изобретение относится к способу лечения неопластического заболевания или расстройства, который включает введение нуждающемуся в этом субъекту радиоактивного иммуноконъюгата или фармацевтической композиции изобретения.

В одном варианте осуществления изобретение относится к способу лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, который включает введение субъекту радиоактивного иммуноконъюгата или фармацевтической композиции изобретения.

Кроме того, варианты осуществления изобретения относятся к хелатору, описанному в настоящем документе (например, к соединению формулы (I), (II) или (III) или его фармацевтически приемлемой соли), для производства лекарственного средства для лечения любого из заболеваний, расстройств или медицинских состояний, упомянутых в настоящем документе, таких как рак предстательной железы (например, CRPC или mCRPC).

Кроме того, варианты осуществления изобретения относятся к комплексу радиоактивного металла, описанному в настоящем документе (например, к соединению формулы (I-M⁺), (II-M⁺) или (III-M⁺), или его фармацевтически приемлемой соли), для производства лекарственного средства для лечения любого из заболеваний, расстройств или медицинских состояний, упомянутых в настоящем документе, таких как рак предстательной железы (например, CRPC или mCRPC).

Кроме того, варианты осуществления настоящего изобретения относятся к радиоактивному иммуноконъюгату, описанному в настоящем документе, конъюгированному с антителом (например, комплексу радиоактивного металла формулы (I-M⁺), (II-M⁺) или (III-M⁺), причем M⁺ представляет собой Ac²²⁵, и при этом комплекс радиоактивного металла конъюгирован с h11B6), для производства лекарственного средства для лечения любого из заболеваний, расстройств или медицинских состояний, упомянутых в настоящем документе, таких как рак предстательной железы (например, CRPC или mCRPC).

Кроме того, варианты осуществления изобретения относятся к радиоактивному иммуноконъюгату, описанному в настоящем документе (например, к комплексу радиоактивного металла формулы (I-M⁺), (II-M⁺) или (III-M⁺), причем M⁺ представляет собой Ac²²⁵, и при этом комплекс радиоактивного металла конъюгирован с h11B6), для применения в качестве лекарственного средства для лечения любого из заболеваний, расстройств или медицинских состояний, упомянутых в настоящем документе, таких как рак предстательной железы (например, CRPC или mCRPC).

Радиоактивные иммуноконъюгаты переносят излучение непосредственно, например, в клетки и т. д., подлежащие воздействию нацеливающего лиганда.

Предпочтительно радиоактивные иммуноконъюгаты несут ионы альфа-излучающих радиоактивных металлов, такие как ²²⁵Ac. При нацеливании альфа-частицы ионов альфа-излучающих радиоактивных металлов, например, ²²⁵Ac и его дочерних частей, доставляются к целевым клеткам и вызывают цитотоксический эффект; таким образом

они селективно воздействуют на неопластические клетки для лучевой терапии и/или лечения неопластического заболевания или расстройства.

Настоящее изобретение также включает подходы предварительного воздействия для селективного воздействия на неопластические клетки для лучевой терапии и/или
5 лечения неопластического заболевания или расстройства. В соответствии с подходом предварительного нацеливания меченное азидом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент дозируют, они связываются с клетками, несущими целевой антиген антитела, и могут быть удалены из кровотока со временем или с помощью очищающего агента. Затем вводят комплекс радиоактивного металла
10 изобретения, предпочтительно комплекс радиоактивного металла, содержащий циклооктин или производное циклооктина, например DBCO, и подвергают реакции SPAAC с меченым азидом антителом, связанным в целевом участке, тогда как оставшийся несвязанный комплекс радиоактивного металла быстро удаляется из кровотока. Эта методика предварительного нацеливания обеспечивает способ усиления
15 локализации ионов радиоактивного металла в целевом участке у субъекта.

В других вариантах осуществления модифицированный полипептид, например, меченное азидом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, а также комплекс радиоактивного металла по изобретению вводят субъекту, нуждающемуся в
нацеленной лучевой терапии или лечении неопластического заболевания или
20 расстройства, в той же композиции или в разных композициях.

Используемый в данном документе термин «терапевтически эффективное количество» относится к некоторому количеству активного ингредиента или компонента, которые индуцируют желаемый биологический или медицинский ответ у субъекта. Терапевтически эффективное количество может быть определено
25 эмпирически и обычным образом в зависимости от заявленной цели. Например, для определения диапазона оптимальной дозы могут необязательно быть использованы анализы *in vitro*. Подбор конкретной эффективной дозы может выполнить (например, путем клинических исследований) специалист в данной области с учетом нескольких факторов, включая подлежащее лечению или профилактике заболевание, симптомы,
30 массу тела пациента, состояние иммунной системы пациента и другие факторы, известные специалисту в данной области. Точная доза, предназначенная для применения в составе, также зависит от способа введения и степени тяжести заболевания и должна быть определена на основании решения медработника и

состояния каждого пациента. Эффективные дозы можно рассчитывать на кривых дозовой зависимости, полученных в тестовых системах *in vitro* или животных моделей.

В контексте данного документа термины «лечить», «лечащий» и «лечение» предназначены для обозначения улучшения или изменения по меньшей мере одного измеримого физического параметра, связанного с заболеванием, расстройством или патологическим состоянием, при котором было бы полезно введение иона радиоактивного металла, таким как неопластическое заболевание или расстройство, которые не обязательно явно выражены у субъекта, но могут быть явно выраженными у субъекта. Термины «лечить», «лечащий» и «лечение» могут также обозначать индуцирование регрессии, профилактику прогрессирования или по меньшей мере замедление прогрессирования заболевания, расстройства или состояния. В конкретном варианте осуществления «лечить», «лечащий» и «лечение» относятся к облегчению, предотвращению развития или проявления, или уменьшению продолжительности одного или более симптомов, связанных с заболеванием, расстройством или патологическим состоянием, при котором было бы полезно введение иона радиоактивного металла, таким как неопластическое заболевание или расстройство. В конкретном варианте осуществления термины «лечить», «лечащий» и «лечение» относятся к профилактике рецидива неопластического заболевания, расстройства или состояния. В конкретном варианте осуществления термины «лечить», «лечащий» и «лечение» относятся к повышению выживаемости пациента, имеющего неопластическое заболевание, расстройство или состояние. В конкретном варианте осуществления термины «лечить», «лечащий» и «лечение» относятся к устранению неопластического заболевания, расстройства или состояния у пациента.

В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество радиоактивного иммуноконъюгата или фармацевтической композиции изобретения вводят субъекту для лечения неопластического заболевания или расстройства, например, рака.

В других вариантах осуществления изобретения радиоактивные иммуноконъюгаты и фармацевтические композиции изобретения можно вводить в комбинации с другими агентами, которые эффективны для лечения неопластических заболеваний или расстройств.

В дополнительных вариантах осуществления изобретение относится к радиоактивным иммуноконъюгатам и фармацевтическим композициям, описанным в настоящем документе, для применения в селективном воздействии на неопластические

клетки для лучевой терапии и/или лечения неопластического заболевания или расстройства; и применению радиоактивного иммуноконъюгата или фармацевтических композиций, описанных в настоящем документе, в производстве лекарственного средства для селективного нацеливания на неопластические клетки для лучевой

5 терапии и/или лечения неопластического заболевания или расстройства.

Хотя в настоящем документе были проиллюстрированы и описаны определенные варианты осуществления, обычный специалист в данной области после прочтения приведенного выше описания может осуществлять изменения, замены эквивалентов и другие типы изменений в отношении соединений по настоящей

10 технологии или солей, фармацевтических композиций, производных, пролекарств, метаболитов, таутомеров или рацемических смесей, как показано в настоящем документе. Каждый аспект и вариант осуществления, описанный выше, может также иметь или включать в себя такие вариации или аспекты, описанные применительно к любому или ко всем прочим аспектам и вариантам осуществления.

ПРИМЕРЫ

Следующие примеры приведены для лучшего понимания данного изобретения, и их не следует рассматривать как ограничивающие каким-либо образом данное изобретение, определяемое приведенной ниже формулой изобретения.

В следующих примерах некоторые продукты синтеза перечислены как выделенные в виде остатка. Специалисту в данной области будет понятно, что термин «остаток» не ограничивает физическое состояние, в котором выделен продукт, и может включать, например, твердое вещество, масло, пену, смолу, сироп и т. п.

В описании, в частности на схемах и в примерах, используют следующие сокращения, перечисленные в таблице А.

Таблица А. Сокращения

АДФ	=	Аденозиндифосфат
Метка Alexa633	=	Гидразидная метка Alexa Fluor® 633 (ThermoFisher)
BSA	=	Бычий сывороточный альбумин
ACN или MeCN	=	Ацетонитрил
АТФ	=	Аденозинтрифосфат

BINAP	=	(2,2'-бис(дифенилфосфино)-1,1'-бинафтил)
Brij TM -35	=	Полиэтиленгликоля гексадециловый эфир
DBCO	=	Дибензоциклооктил
DCM	=	Дихлорметан
DIPEA или DIEA	=	Диизопропилэтиламин
DMF	=	N,N-диметилформамид
DMSO	=	Диметилсульфоксид
DPPF или dppf	=	1,1'-Бис(дифенилфосфино)ферроцен
ДТРА	=	Диэтилентриаминпентауксусная кислота
DTT	=	Дитиотриэтол
EDTA	=	Этилендиаминтетрауксусная кислота
eGFR	=	Оценочная скорость гломерулярной фильтрации
EtOH	=	Этанол
среда F12	=	Питательная среда Gibco® F12 (ThermoFisher)
FBS	=	Эмбриональная бычья сыворотка
G418	=	Сульфат Geneticin® (G418)
GFR	=	Скорость гломерулярной фильтрации
GLP-1	=	Глюкагоноподобный пептид 1
GRK2	=	Сопряженная с G-белком рецепторная киназа 2
HATU	=	1-[Бис(диметиламино)метилен-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиния 3-оксид гексафторфосфат
HBSS	=	Сбалансированный солевой раствор Хэнкса GIBCO®
HEPES	=	4-(2-Гидроксиэтил)-1-пиперизинэтансульфоная кислота
ВЭЖХ	=	Высокоэффективная жидкостная хроматография
HTRF	=	Гомогенная флуоресценция с временным разрешением
IFG	=	Нарушение уровня глюкозы натощак
IGT	=	Нарушенная переносимость глюкозы
ЖХМС или ЖХ/МС	=	Жидкостная хроматография с масс-спектрометрией

LDA	=	Диизопропиламид лития
LiHMDS	=	Бис(триметилсилил)амид лития
MeOH	=	Метанол
мезил или Ms	=	Метилсульфонил (т. е. $-\text{SO}_2-\text{CH}_3$)
мезилат или OMs	=	Метансульфонат (т. е. $-\text{O}-\text{SO}_2-\text{CH}_3$)
MOM	=	Метоксиметил
Ms или мезил	=	$-\text{SO}_2-\text{CH}_3$
MsCl	=	Мезилхлорид (т. е. $\text{CH}_3-\text{SO}_2-\text{Cl}$)
$\text{NaBH}(\text{OAc})_3$	=	Триацетоксиборгидрид натрия
NAFLD	=	Неалкогольная жировая дистрофия печени
Na_2SO_4	=	Сульфат натрия
NASH	=	Неалкогольный стеатогепатит
NBS	=	N-бромсукцинимид
$\text{NH}(\text{PMB})_3$	=	трис(4-метоксибензил)- λ^4 -азан
NMO	=	4-метилморфолин N-оксид
NMP	=	N-метил-2-пирролидон
ЯМР	=	Ядерный магнитный резонанс
OMs или мезилат	=	Метансульфонат (т. е. $-\text{O}-\text{SO}_2-\text{CH}_3$)
OTf или трифлат	=	Трифторметансульфонат
OTs или тозилат	=	p-Толуолсульфонат
Pd/C	=	Палладий на углеродном носителе
$\text{Pd}(\text{dba})_2$	=	Трис(дибензилиденацетон)дипалладий(0)
$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$	=	[1,1'-Бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорид палладий(II)
$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2 \cdot \text{CHCl}_3$	=	[1,1'-Бис(дифенилфосфино)ферроцен]хлорпалладий в комплексе с хлороформом
$(1\text{-nap})_3\text{P}$ или $\text{P}(1\text{-nap})_3$	=	Три(1-нафтил)фосфин
$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	=	Ацетат палладия (II)
$\text{Pd}(\text{OH})_2$	=	Гидроксид палладия
$\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$	=	Гидроксид палладия на угле (катализатор Перлмана)
$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$	=	Тетракис(трифенилфосфин)палладий(0)

ПЭГ	=	Полиэтиленгликоль
PMB	=	4-Метоксибензиловый простой эфир
PPh ₃	=	Трифенилфосфин
SNS	=	Симпатическая нервная система
TBAB	=	Тетра- <i>n</i> -бутиламмония бромид
TBAF	=	Тетра- <i>n</i> -бутиламмония фторид
TBAI	=	Тетра- <i>n</i> -бутиламмония иодид
TBSOTf	=	<i>Трет</i> -бутилдиметилсилилтрифторметансульфонат
TEA	=	Триэтиламин
Tf или трифил	=	Трифторметилсульфонил (т. е. -SO ₂ -CF ₃)
TFA	=	Трифторуксусная кислота
ТГФ	=	Тетрагидрофуран
THP	=	2-Тетрагидропиранил
ТСХ	=	Тонкослойная хроматография
TMS	=	Триметилсилил
TMSN ₃	=	Триметилсилилазид
Тозилат или OTs	=	<i>p</i> -Толуолсульфонат
ТОРА	=	6,6'-((1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))дипиколиновая кислота = H ₂ bp18c6
Ts или тозил	=	- <i>p</i> -Толуолсульфонилхлорид
<i>n</i> -TsCl	=	<i>n</i> -Толуолсульфонилхлорид
Tween-20®	=	Неионный детергент (Sigma Aldrich)

В контексте настоящего документа, если не указано иное, термин «выделенная форма» означает, что соединение присутствует в форме, которая отделена от любой смеси твердых веществ с иным (-ыми) соединением (-ями), системы растворителей или биологической среды. В одном варианте осуществления настоящего изобретения любое из соединений, описанных в настоящем документе, присутствует в выделенной форме.

В контексте настоящего документа, если не указано иное, термин «по существу чистая форма» означает, что мольный процент примесей в выделенном соединении составляет менее около 5 мольных процентов, предпочтительно менее около 2 мольных процентов, более предпочтительно менее около 0,5 мольного процента, наиболее

предпочтительно менее около 0,1 мольного процента. В одном варианте осуществления настоящего изобретения соединение формулы (I) присутствует по существу в чистой форме.

В контексте настоящего документа, если не указано иное, термин «по существу не содержащий соответствующую (-ие) солевую (-ые) форму (-ы)» применительно к описанию соединения формулы (I) означает, что мольный процент соответствующей (-их) солевой (-ых) формы (форм) в выделенном основании формулы (I) составляет менее около 5 мольных процентов, предпочтительно менее около 2 мольных процентов, более предпочтительно менее около 0,5 мольного процента, наиболее предпочтительно менее около 0,1 мольного процента. В одном варианте осуществления настоящего изобретения соединение формулы (I) присутствует в форме, по существу не содержащей соответствующую (-ие) солевую (-ые) форму (-ы).

Пример 1

4-((6-(Метоксикарбонил) пиридин-2-ил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дiazациклооктадекан-7-ил)метил)бензойная кислота (ТОРА-[C-7]-аенилкарбоновая кислота)

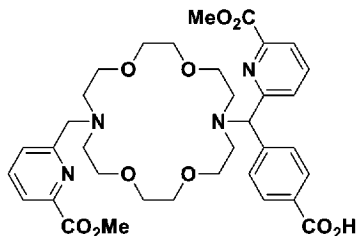
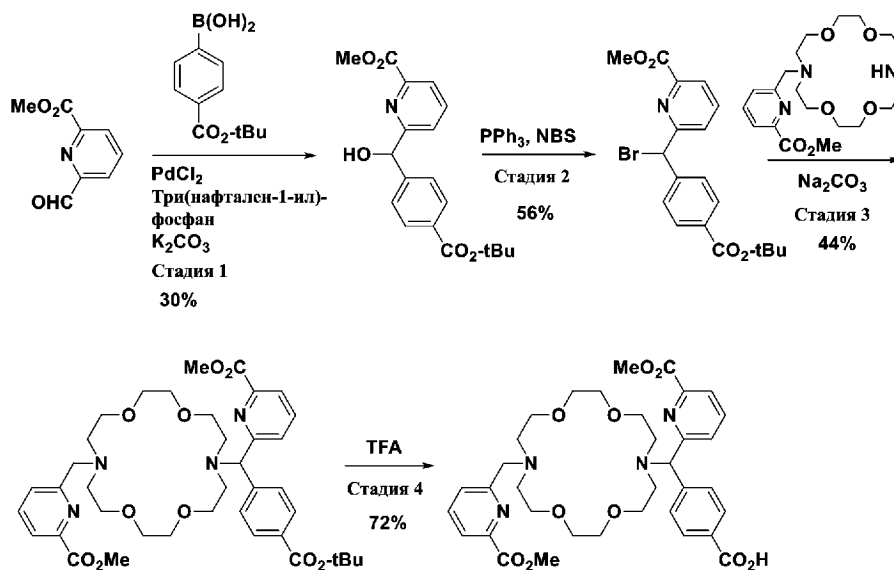


Схема 1



Стадия 1. К смеси метил-6-формилпиколината (4,00 г, 24,2 ммоль), (4-(трет-бутоксикарбонил)фенил)бороновой кислоты (10,7 г, 48,5 ммоль), PdCl₂ (0,21 г, 1,2 ммоль), три(нафтален-1-ил)фосфина (0,50 г, 1,2 ммоль) и карбоната калия (10,0 г, 72,7 ммоль) в атмосфере азота при -78 °С в трехгорлую круглодонную колбу объемом 500 мл добавляли тетрагидрофуран (100 мл) одной порцией. Смесь продували азотом и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, затем нагревали при 65 °С в течение 24 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через слой целита и фильтрат концентрировали досуха. Неочищенный продукт очищали хроматографией на силикагеле (0–50% EtOAc/петролейный эфир) с получением метил-6-((4-(трет-бутоксикарбонил)фенил)(гидрокси)метил)пиколината в виде желтого масла (2,5 г, выход 30%).

Стадия 2. Якорь магнитной мешалки, метил 6-((4-(трет-бутоксикарбонил)фенил)(гидрокси)метил)пиколинат (2,50 г, 7,30 ммоль), рPh₃ (3,43 г, 13,1 ммоль), N-бромсукцинимид (2,13 г, 12,0 ммоль) и дихлорметан (30 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 250 мл в атмосфере азота при комнатной температуре и перемешивали в течение 1 ч. Реакционный раствор загружали на колонку с силикагелем и путем хроматографии (0–30% EtOAc/петролейный эфир) получали соединение метил 6-(бром(4-(трет-бутоксикарбонил)фенил)метил)пиколинат (1,65 г, выход 56%) в виде желтого масла.

Стадия 3. Якорь магнитной мешалки, метил 6-(бром(4-(трет-бутоксикарбонил)фенил)метил)пиколинат (1,52 г, 3,69 ммоль), метил 6-((1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (1,50 г, 3,69 ммоль), Na₂CO₃ (1,17 г, 11,1 ммоль) и ацетонитрил (30 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 250 мл и полученную гетерогенную смесь нагревали при 90 °С в течение 16 ч в атмосфере азота. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через слой целита и концентрировали досуха в вакууме с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали хроматографией на силикагеле (0–10% MeOH/дихлорметан) с получением метил 6-((4-(трет-бутоксикарбонил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколината в виде коричневого масла (1,2 г, 44%).

Стадия 4. Якорь магнитной мешалки, метил 6-((4-(трет-бутоксикарбонил)фенил)(16-
 ((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-
 5 диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (1,2 г, 1,6 ммоль), TFA (0,62 мл, 8,1 ммоль)
 и DCM (20 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 100 мл при
 10 комн. темп. и перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали
 досуха и полученный неочищенный продукт подвергали препаративной ВЭЖХ
 (колонка: XBRIDGE C18 (19 X 150 мм) 5,0 мкм; подвижная фаза: 0,1% TFA в смеси
 вода/ACN; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением ТОРА-[С-7]-фенилкарбоновой
 15 кислоты (0,8 г, 72%) в виде коричневого масла. ЖХ-МС АРСІ: рассчитанное для
 $C_{35}H_{44}N_4O_{10}$ 680,31; наблюдаемое m/z $[M+H]^+$ 681,5. Чистота по ЖХ-МС: 99,87%.
 Чистота по ВЭЖХ: 97,14% (97,01% при 210 нм, 97,20% при 254 нм и 97,21% при 280
 нм; колонка: Atlantis dC18 (250 X4,6 мм), 5 мкм; подвижная фаза А: 0,1% TFA в воде,
 подвижная фаза В: ацетонитрил; скорость потока: 1,0 мл/мин %. 1H ЯМР (400 МГц,
 DMSO- d_6): δ 8,12–8,07 (м, 4H), 8,00–7,98 (м, 2H), 7,75–7,73 (м, 4H), 6,10 (с, 1H), 4,67 (с,
 15 2H), 3,96 (с, 3H), 3,91 (с, 3H), 3,82 (с, 8H), 3,56 (с, 8H), 3,52 (с, 8H).

Пример 2

6-((16-((6-Карбоксипиридин-2-ил)(4-((2-(2-(2-
 20 изотиоцианатоэтокси)этокси)этил)карбамоил)фенил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-
 диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновая кислота

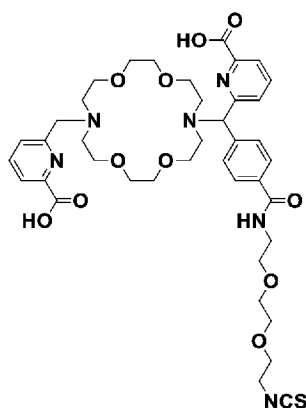
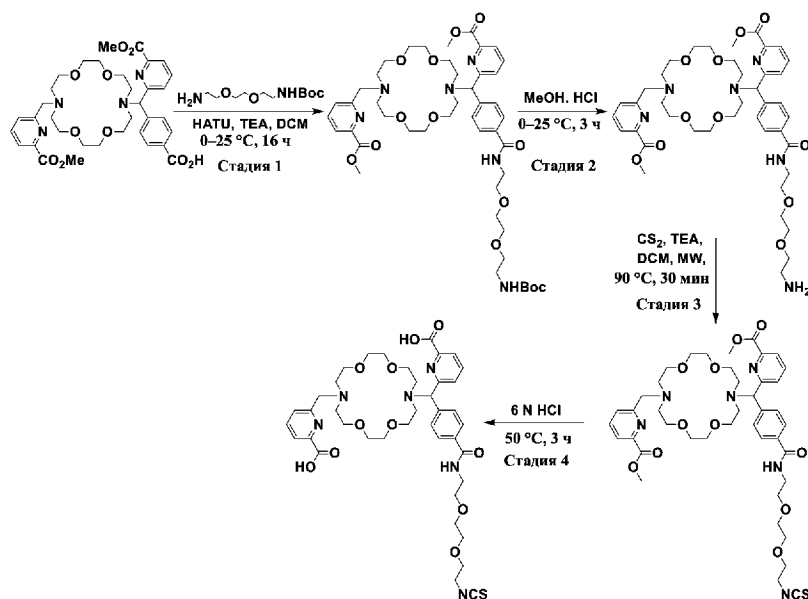


Схема 2



Стадия 1. Якорь магнитной мешалки, 4-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)бензойную кислоту (0,40 г, 0,60 ммоль), *трет*-бутил (2-(2-(2-аминоэтоксид)этоксид)этил)карбамат (0,15 г, 0,60 ммоль), триэтиламин (0,18 г, 0,76 ммоль), HATU (0,33 г, 0,90 ммоль) и DCM (4,0 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °С в атмосфере азота. Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь обрабатывали водой (10 мл) и экстрагировали дихлорметаном (10 мл × 3). Объединенные экстракты промывали 10% водным раствором NaHCO₃ (10 мл), соевым раствором (10 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением масла, которое очищали хроматографией на силикагеле (0–10% MeOH/DCM) с получением метил 6-((4-((2,2-диметил-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатридекан-13-ил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколината (0,18 г).

Стадия 2. Якорь магнитной мешалки, метил 6-((4-((2,2-диметил-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатридекан-13-ил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (0,18 г, 0,20 ммоль), MeOH (1,8 мл) и HCl в метаноле (4 М, 1,0 мл, 4,0 ммоль) добавляли в одnogорлую круглодонную колбу объемом 10 мл при 0 °С, затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Летучие вещества удаляли в вакууме с получением метил 6-((4-((2-(2-(2-

аминоэтокси)этокси)этил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколината (0,15 г), который использовали без очистки.

Стадия 3. Якорь магнитной мешалки, метил 6-((4-((2-(2-(2-

5 аминоэтокси)этокси)этил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (0,10 г, 0,12 ммоль), триэтиламин (37 мг, 0,37 ммоль), безводный DCM (2 мл) и дисульфид углерода (14 мг, 0,18 ммоль) добавляли в выдерживающий давление флакон при комнатной температуре в атмосфере азота. Флакон подвергали микроволновому
10 облучению (150 Вт) при 90 °С в течение 30 мин. Затем флакон охлаждали до комнатной температуры, реакцию смесь разбавляли дихлорметаном (10 мл), а затем последовательно промывали водой (5 мл), 1 М HCl (5 мл) и водой (5 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением метил 6-((4-
15 ((2-(2-(2-изотиоцианатоэтокси)этокси)этил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколината (100 мг), который использовали без очистки.

Стадия 4. Якорь магнитной мешалки, метил 6-((4-((2-(2-(2-изотиоцианатоэтокси)этокси)этил)карбамоил)фенил)(16-((6-

20 7-ил)метил)пиколинат (0,10 г, 0,12 ммоль) и водный раствор HCl (6 Н, 0,4 мл, 2,34 ммоль) добавляли в одногорлую круглодонную колбу объемом 10 мл и перемешивали при 50 °С в течение 3 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, концентрировали в вакууме досуха с получением масла, которое очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 19 X 150 мм, 5,0 мкм; подвижная фаза:
25 0,1% TFA в смеси вода/ацетонитрил; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением 6-
30 ((16-((6-карбоксопиридин-2-ил)(4-((2-(2-(2-изотиоцианатоэтокси)этокси)этил)карбамоил)фенил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновой кислоты (5,0 мг). ЖХ-МС АРСІ: рассчитано для C₄₀H₅₂N₆O₁₁S: 824,34; наблюдаемое m/z [M+H]⁺ 824,8. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 8,22–8,20 (м, 2H), 8,14–8,05 (м, 2H), 7,94 (д, J = 8,00 Гц, 2H), 7,79 (д, J = 8,00 Гц, 2H), 7,73–7,67 (м, 2H), 6,16 (с, 1H), 4,77 (с, 2H), 3,93–4,00 (м, 8H), 3,59–3,70 (м, 27H), 3,47–3,44 (м, 2H).

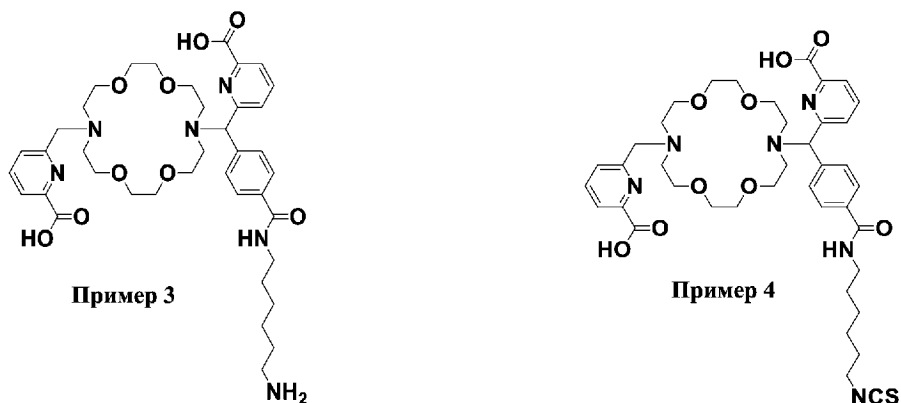
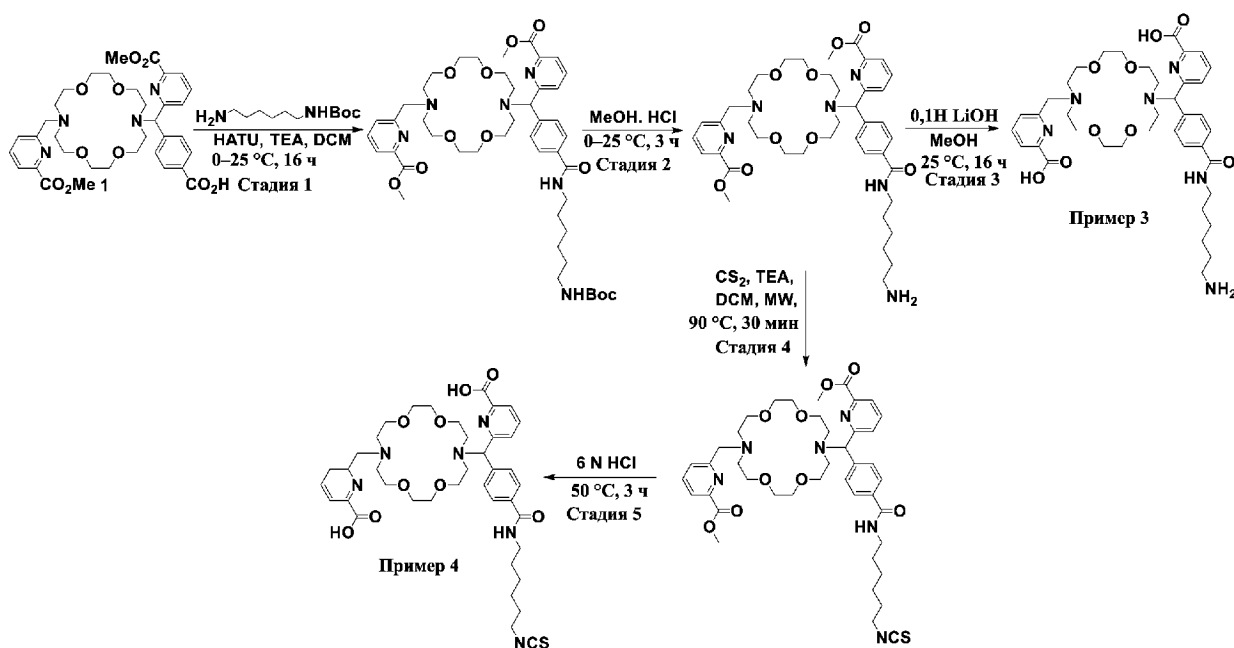
Пример 3

6-((4-((6-Аминогексил)карбамоил)фенил)(16-((6-карбоксипиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновая кислота

и

Пример 4

5 6-((16-((6-Карбоксипиридин-2-ил)(4-((6-изотиоцианатогексил)карбамоил)фенил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновая кислота

10 Схема 3

15 **Стадия 1.** Якорь магнитной мешалки, 4-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)бензойную кислоту (0,12 г, 0,18 ммоль), *трет*-бутил (6-аминогексил)карбамат (38 мг, 0,18 ммоль), триэтиламин (54 мг, 0,54 ммоль), HATU

(0,10 г, 0,27 ммоль) и DCM (4,0 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °С в атмосфере азота. Реакционную смесь доводили до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь далее обрабатывали водой (10 мл) и экстрагировали дихлорметаном (10 мл × 3). Объединенные экстракты промывали 10% водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и соевым раствором (10 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением масла. Масло очищали хроматографией на силикагеле (0–10% MeOH/DCM) с получением метил 6-((4-((6-((метил-бутоксикарбонил)амино)гексил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дизациклооктадекан-7-ил)метил)пиколината (70 мг) в виде клейкого масла.

Стадия 2. Якорь магнитной мешалки, метил 6-((4-((6-((метил-бутоксикарбонил)амино)гексил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дизациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (70 мг, 0,080 ммоль), MeOH (1,5 мл) и HCl в метаноле (4 М, 0,4 мл, 1,6 ммоль) добавляли в круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °С, которую затем доводили до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Летучие вещества удаляли в вакууме с получением 6-((4-((6-аминогексил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дизациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (30 мг), который использовали без очистки.

Стадия 3. Якорь магнитной мешалки, метил 6-((4-((6-аминогексил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дизациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (30 мг, 0,038 ммоль), водный LiOH (1,1 мл, 0,1 Н, 0,11 ммоль) и MeOH (1,0 мл) добавляли в реакционный флакон объемом 8 мл и перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Затем реакционную смесь доводили уксусной кислотой до pH ~6,5 и затем концентрировали досуха в вакууме при комнатной температуре. Полученный продукт подвергали препаративной ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 19 x 150 мм, 5,0 мкм; подвижная фаза: 10 mM ацетата аммония в смеси вода/ACN; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением **примера 3**: 6-((4-((6-аминогексил)карбамоил)фенил)(16-((6-карбоксопиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дизациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновой кислоты (10 мг). ЖХ-МС APCI: рассчитано для

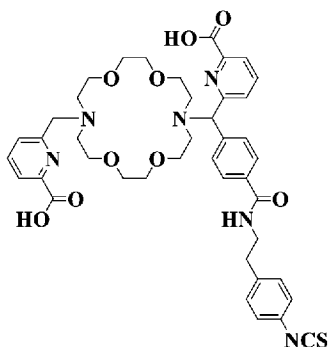
$C_{39}H_{54}N_6O_9$; 750,40; наблюдаемое m/z $[M+H]^+$ 751,3. 1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD): δ 8,22 (д, $J = 1,60$ Гц, 2H), 8,21–8,06 (м, 2H), 7,92 (д, $J = 8,40$ Гц, 2H), 7,80 (д, $J = 8,40$ Гц, 2H), 7,75–7,69 (м, 2H), 6,20 (с, 1H), 4,70 (с, 2H), 4,02–3,92 (м, 8H), 3,76–3,62 (м, 14H), 3,51–3,32 (м, 4H), 2,93 (т, $J = 8,00$ Гц, 2H), 1,67–1,64 (м, 4H), 1,46–1,45 (м, 4H).

5 **Стадия 4.** Якорь магнитной мешалки, метил 6-((4-((6-аминогексил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (0,10 г, 0,13 ммоль), триэтиламин (39 мг, 0,38 ммоль), безводный DCM (2 мл) и дисульфид углерода (15 мг, 0,19 ммоль) добавляли в выдерживающий давление флакон при 10 комнатной температуре в атмосфере азота. Флакон подвергали микроволновому облучению (150 Вт) при 90 °С в течение 30 мин. Затем флакон охлаждали до комнатной температуры и реакцию смесь разбавляли дихлорметаном (10 мл), промывали водой (5 мл), 1 М HCl (5 мл) и водой (5 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха с получением метил 6-((4-((6-15 изотиоцианатогексил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколината (0,1 г), который использовали без очистки.

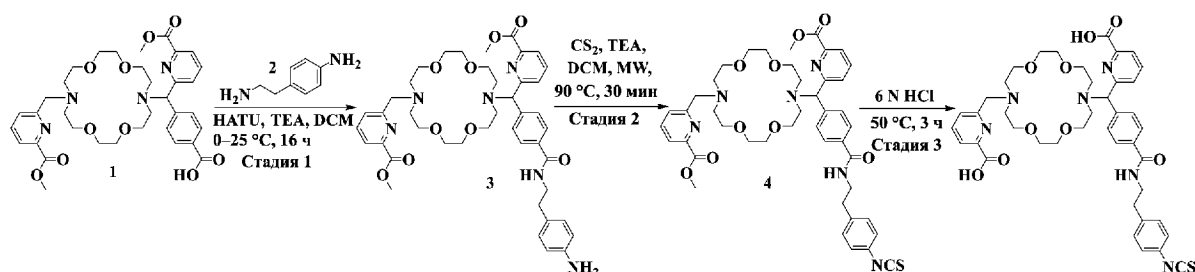
Стадия 5. Якорь магнитной мешалки, метил 6-((4-((6-изотиоцианатогексил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-20 ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (0,10 г, 0,12 ммоль) и водный раствор HCl (6 Н, 0,4 мл, 2,4 ммоль) добавляли в одностороннюю круглодонную колбу объемом 10 мл, затем перемешивали при 50 °С в течение 3 ч. Затем реакцию смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали досуха в вакууме с получением остатка, который очищали препаративной ВЭЖХ 25 (колонка: XBRIDGE C18 19 X 150 мм, 3,5 мкм; подвижная фаза: 0,1% TFA в смеси вода/ацетонитрил; скорость потока: 2,0 мл/мин) с получением **примера 4**: 6-((16-((6-карбоксопиридин-2-ил)(4-((6-изотиоцианатогексил)карбамоил)фенил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновой кислоты (15 мг). ЖХ-МС АРСІ: рассчитано для $C_{40}H_{52}N_6O_9S$: 792,35; наблюдаемое m/z $[M+H]^+$ 792,8. 1H 30 ЯМР (400 МГц, CD_3OD): δ 8,23–8,20 (м, 2H), 8,15–8,06 (м, 2H), 7,92 (д, $J = 8,40$ Гц, 2H), 7,79 (д, $J = 8,40$ Гц, 2H), 7,74–7,68 (м, 2H), 6,17 (с, 1H), 4,77 (с, 2H), 4,01–3,93 (м, 8H), 3,75–3,56 (м, 16H), 3,42–3,33 (м, 5H), 1,74–1,64 (м, 4H), 1,50–1,44 (м, 4H).

Пример 5

6-((16-((6-Карбоксипиридин-2-ил)(4-((4-изотиоцианатофенэтил)карбамоил)фенил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновая кислота



5

Схема 4

Стадия 1. Якорь магнитной мешалки, 4-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)бензойную кислоту (0,25 г, 0,37 ммоль), 4-(2-аминоэтил)анилин (60 мг, 0,37 ммоль), TEA (0,11 г, 0,15 мл, 1,1 ммоль), HATU (0,21 г, 0,55 ммоль), и DCM (5 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °С в атмосфере азота. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и затем обрабатывали водой (10 мл) и экстрагировали дихлорметаном (10 мл x3).

Объединенные экстракты промывали 10% водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и соевым раствором (10 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением продукта, который очищали хроматографией на силикагеле (0–10% MeOH/DCM) с получением метил 6-((4-((4-аминофенэтил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколината (0,12 г).

Стадия 2. Якорь магнитной мешалки, метил 6-((4-((4-аминофенэтил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (0,12 г,

0,15 ммоль), TEA (45 мг, 65 мкл, 0,45 ммоль), DCM (3 мл) и CS₂(17 мг, 0,23 ммоль) добавляли в выдерживающий давление флакон для микроволновой обработки объемом 10 мл при комнатной температуре в атмосфере азота. Реакционную подвергали микроволновому облучению (150 Вт) при 90 °С в течение 30 мин. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли дихлорметаном (10 мл), промывали последовательно водой (5 мл), 1 М HCl (5 мл) и водой (5 мл), сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали досуха с получением метил 6-((4-((4-изотиоцианатофенэтил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколината (0,12 г), который использовали без очистки.

Стадия 3. Якорь магнитной мешалки, метил 6-((4-((4-изотиоцианатофенэтил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (0,12 г, 0,14 ммоль), и водную HCl (0,50 мл, 6 Н, 2,8 ммоль) добавляли в одnogорлую круглодонную колбу объемом 10 мл и перемешивали при 50 °С в течение 3 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, концентрировали досуха в вакууме и неочищенный продукт подвергали препаративной ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 19 X 150 мм, 5,0 мкм; подвижная фаза: 0,1% TFA в смеси вода/ацетонитрил; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением 6-((16-((6-карбоксопиридин-2-ил)(4-((4-изотиоцианатофенэтил)карбамоил)фенил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновой кислоты (30 мг). ЖХ-МС АРСІ: рассчитано для C₄₂H₄₈N₅O₁₀S; 812,32; наблюдаемое m/z [M+H]⁺ 812,9. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 8,22 (д, J = 0,80 Гц, 2H), 8,06–8,21 (м, 2H), 7,85 (д, J = 8,40 Гц, 2H), 7,68–7,78 (м, 4H), 7,31 (д, J = 8,40 Гц, 2H), 7,21 (д, J = 2,00 Гц, 2H), 6,18 (с, 1H), 4,77 (с, 2H), 3,70–4,00 (м, 7H), 3,60–3,67 (м, 16H), 3,44–3,49 (м, 2H), 2,90–3,10 (м, 3H).

Пример 6

(S)-6,6'-(((2-Изоцианатоэтил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен)дипиколиновая кислота

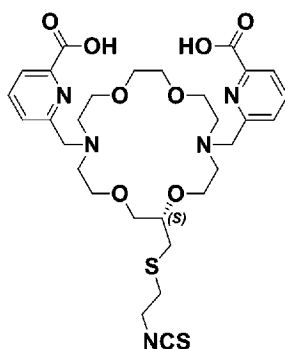
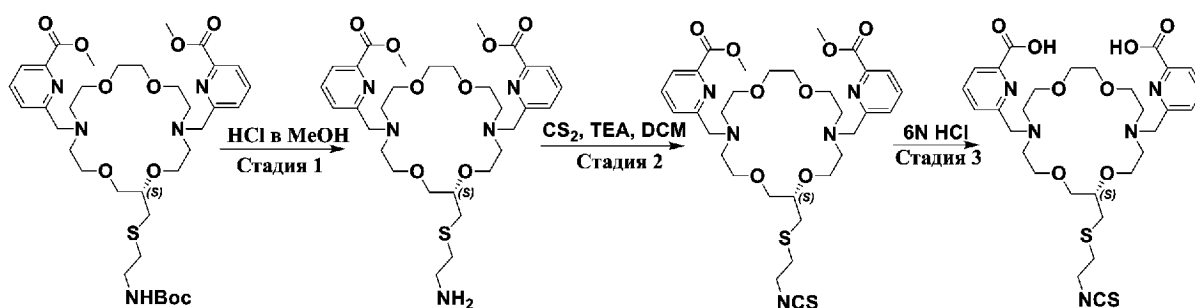


Схема 5



5

Стадия 1. Якорь магнитной мешалки, соединение **1** (метил 6-((4-((трет-бутоксикарбонил)амино)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат) (0,10 г, 0,15 ммоль), MeOH (0,5 мл) и HCl в метаноле (4 М, 0,6 мл, 4,0 ммоль) добавляли в 10
одногогорлую круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °С, а затем довели до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Летучие вещества удаляли в вакууме с получением диметил 6,6'-((2-(((2-аминоэтил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метиле))(*S*)-дипиколинат (55 мг), который 15
использовали на следующей стадии без очистки.

Стадия 2. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((2-(((2-аминоэтил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метиле))(*S*)-дипиколинат (50 мг, 0,10 ммоль), триэтиламин (24 мг, 0,24 ммоль), DCM (2 мл) и дисульфид углерода (12 мг, 0,16 ммоль) добавляли в сосуд для микроволновой обработки при 20
комнатной температуре в атмосфере азота. Флакон подвергали микроволновому облучению (мощность 150 Вт) при 90 °С в течение 30 мин. Затем флакон охлаждали до комнатной температуры и реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (10 мл), последовательно промывали водой (5 мл), 1 М HCl (5 мл), водой (5 мл), сушили над

безводным Na_2SO_4 , концентрировали досуха и подвергали хроматографии на силикагеле (0–10% MeOH/DCM) с получением диметил 6,6'-((2-(((2-изотиоцианатоэтил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколината в виде желтого твердого вещества (20 мг).

- 5 **Стадия 3.** Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((2-(((2-изотиоцианатоэтил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (20 мг, 0,030 ммоль) и водный раствор HCl (6 Н, 0,1 мл, 0,6 ммоль) добавляли в одnogорлую круглодонную колбу объемом 10 мл и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь
- 10 концентрировали досуха в вакууме и полученный остаток подвергали препаративной ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 (19 X 150 мм) 5,0 мкм; подвижная фаза: 0,1% TFA в смеси вода/ацетонитрил; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением (S)-6,6'-((2-(((2-изотиоцианатоэтил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))дипиколиновой кислоты (6 мг). ЖХ-МС APCI: рассчитано для
- 15 $\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}_2$: 663,24; наблюдаемое m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 664,2. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9,78 (с, 1H), 8,10 (с, 4H), 7,78 (д, $J = 6,00$ Гц, 2H), 4,69 (с, 4H), 3,96–3,52 (м, 23H), 2,85 (т, $J = 6,40$ Гц, 2H), 2,70 (т, $J = 8,00$ Гц, 2H).

Пример 7

- 20 (S)-6,6'-((2-(((5-Изотиоцианатопентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))дипиколиновая кислота

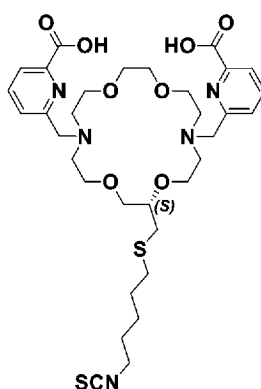
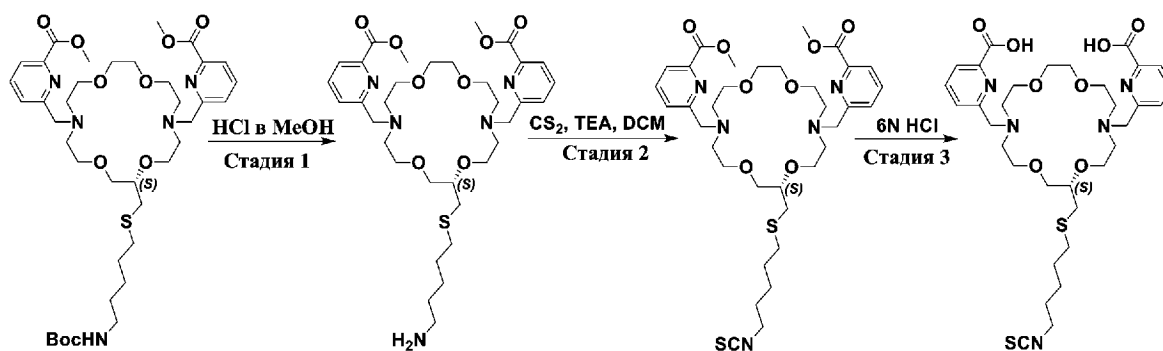


Схема 6



Стадия 1. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((2-(((5-((трет-
 5 бутоксикарбонил)амино)пентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-
 диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (0,12 г, 0,15 ммоль),
 MeOH (0,5 мл) и HCl в метаноле (4 М, 0,6 мл, 4,0 ммоль) добавляли в одnogорлую
 круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °С, а затем доводили до комнатной
 температуры и перемешивали в течение 2 ч. Летучие вещества затем удаляли в вакууме
 с получением диметил 6,6'-((2-(((5-аминопентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-
 10 диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (70 мг), который
 использовали без очистки.

Стадия 2. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((2-(((5-аминопентил)тио)метил)-
 1,4,10,13-тетраокса-7,16-дiazациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат
 (70 мг, 0,10 ммоль), триэтиламин (20 мг, 0,20 ммоль), безводный DCM (2 мл) и
 15 дисульфид углерода (15 мг, 0,20 ммоль) добавляли в сосуд для микроволновой
 обработки при комнатной температуре в атмосфере азота. Реакционную смесь
 подвергали микроволновому облучению (мощность 150 Вт) при 90 °С в течение
 30 мин. Флакон доводили до комнатной температуры и реакцию смесь разбавляли
 дихлорметаном (10 мл), последовательно промывали водой (5 мл), 1 М HCl (5 мл) и
 20 водой (5 мл), сушили над безводным сульфатом натрия (Na₂SO₄), фильтровали и
 концентрировали досуха с получением остатка. Остаток подвергали хроматографии на
 силикагеле (0–10% MeOH/DCM) с получением диметил 6,6'-((2-(((5-
 изотиоцианатопентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дiazациклооктадекан-7,16-
 диил)бис(метилен))(S)-дипиколината в виде желтого твердого вещества (30 мг).

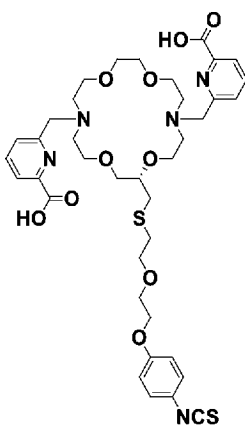
Стадия 3. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((2-(((5-
 25 изотиоцианатопентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дiazациклооктадекан-7,16-
 диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (30 мг, 0,040 ммоль) и водный раствор HCl (6 Н,
 0,2 мл, 0,8 ммоль) добавляли в одnogорлую круглодонную колбу объемом 10 мл и

перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали досуха в вакууме и концентрат очищали с помощью ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 19 X 150 мм, 5,0 мкм; подвижная фаза: 0,1% TFA в смеси вода/ацетонитрил; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением (*S*)-6,6'-((2-(((5-изотиоцианатопентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дiazациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))дипиколиновой кислоты (12 мг). ЖХ-МС АРСІ: рассчитано для $C_{33}H_{47}N_5O_8S_2$: 705,29; наблюдаемое m/z $[M+H]^+$ 706,2. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6): δ 13,40 (с, 1H), 9,90 (с, 1H), 8,17–8,09 (м, 4H), 7,78 (д, $J = 6,80$ Гц, 2H), 4,70 (с, 4H), 3,93–3,17 (м, 27H), 2,68–2,67 (м, 2H), 1,64–1,60 (м, 2H), 1,53–1,49 (м, 2H), 1,40–1,38 (м, 2H).

10

Пример 8

(*S*)-6,6'-((2-(((2-(2-(4-Изоотиоцианатофенокси)этокси)этил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дiazациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))дипиколиновая кислота

15 Схема 7

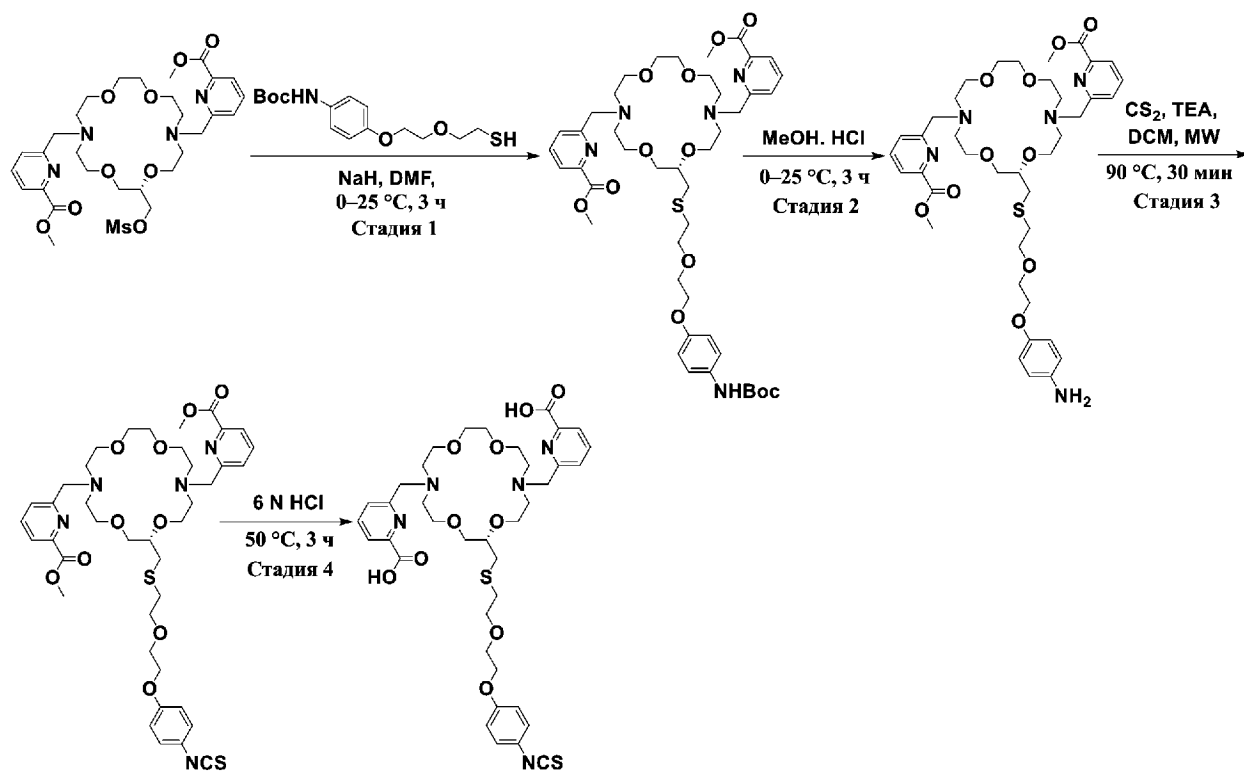
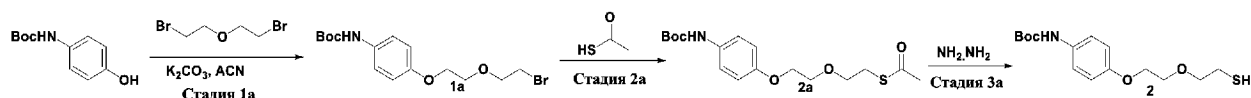


Схема 7а



5

Схема 7а, стадия 1а. Якорь магнитной мешалки, *трет*-бутил (4-гидроксифенил)карбамат (4,5 г, 22 ммоль), 1-бром-2-(2-бромэтокси)этан (5,0 г, 22 ммоль), K_2CO_3 (4,6 г, 43 ммоль) и ACN (45 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 250 мл в атмосфере азота и полученную реакционную смесь нагревали при $80\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 16 ч в атмосфере азота. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через Celite® и концентрировали досуха в вакууме с получением концентрата, который очищали хроматографией на силикагеле (0–20% EtOAc/петролейный эфир) с получением продукта *трет*-бутил (4-(2-(2-бромэтокси)этокси)фенил)карбамата (2,0 г).

15 **Стадия 2а.** Якорь магнитной мешалки, *трет*-бутил (4-(2-(2-бромэтокси)этокси)фенил)карбамат (2,0 г, 5,6 ммоль), этанэтиовую S-кислоту (0,42 г, 5,6 ммоль), K_2CO_3 (1,5 г, 11 ммоль) и ACN (50 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 250 мл в атмосфере азота. Реакционную смесь перемешивали при $80\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 2 ч и затем охлаждали до комнатной температуры,

фильтровали через Celite® и концентрировали досуха в вакууме. Концентрат очищали с использованием хроматографии на нейтральном оксиде алюминия (0–50% EtOAc/петролейный эфир) с получением (*S*)-(2-(2-(4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)фенокси)этокси)этил)этантоата (1,8 г).

5 **Стадия 3а.** Якорь магнитной мешалки, *S*-(2-(2-(4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)фенокси)этокси)этил)этантоат (1,8 г, 5,1 ммоль), этанол (20 мл) и гидразина моногидрат (0,24 г, 0,24 мл, 7,6 ммоль) добавляли в одnogорлую круглодонную колбу объемом 250 мл в атмосфере азота и перемешивали при 80 °C в течение 1 ч. Реакционную смесь затем охлаждали до комнатной температуры и
10 концентрировали досуха в вакууме с получением концентрата, который очищали с помощью хроматографии на силикагеле (5–10% EtOAc/петролейный эфир) с получением *трет*-бутил (4-(2-(2-меркаптоэтокси)этокси)фенил)карбамата (0,5 г) в виде бесцветного масла.

Схема 7, стадия 1. Раствор, состоящий из *трет*-бутил (4-(2-(2-
15 меркаптоэтокси)этокси)фенил)карбамата (0,40 г, 1,0 ммоль) и DMF (3,0 мл), добавляли по каплям в течение 5 минут в трехгорлую круглодонную колбу объемом 50 мл, содержащую суспензию гидрида натрия (0,060 г, 60% в минеральном масле, 1,5 ммоль) в DMF (3,0 мл) при 0 °C и в атмосфере азота. После завершения добавления
реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали 15 минут.
20 Смесь повторно охлаждали до 0 °C и добавляли по каплям раствор, содержащий диметил 6,6'-((2-(((метилсульфонил)окси)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (0,5 г, 0,7 ммоль) и DMF (3,0 мл). После завершения добавления реакционную смесь медленно нагревали
до комнатной температуры и перемешивали в течение 1,5 ч. Реакционную смесь
25 медленно обрабатывали насыщ. NH₄Cl (0,2 мл), а затем концентрировали досуха с получением масла. Масло очищали посредством препаративной ВЭЖХ (колонок: XBRIDGE C18 19 X 150 мм 5,0 мкм; подвижная фаза: 0,1% TFA в смеси вода/ацетонитрил; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением диметил 6,6'-((2-(((2-(2-
(4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)фенокси)этокси)этил)тио)метил)-1,4,10,13-
30 тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколината (0,15 г) в виде коричневого масла.

Стадия 2. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((2-(((2-(2-(4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)фенокси)этокси)этил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (0,15 г, 0,16 ммоль),

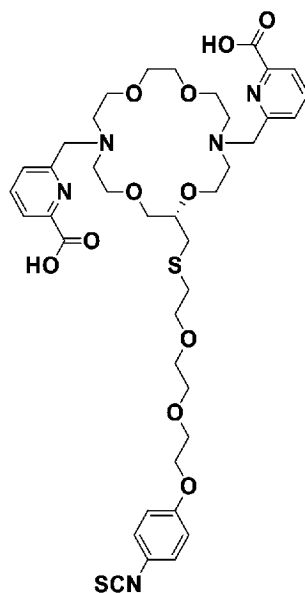
MeOH (1,0 мл) и HCl в метаноле (4 М, 0,80 мл, 3,2 ммоль) добавляли в одnogорлую круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °С, затем доводили до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч. Летучие вещества удаляли в вакууме с получением диметил 6,6'-((2-(((2-(2-(4-аминофенокс)этил)тио)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколината (0,12 г), который использовали без очистки.

Стадия 3. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((2-(((2-(2-(4-аминофенокс)этокс)этил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (0,12 г, 0,15 ммоль), триэтиламин (46 мг, 0,46 ммоль), безводный DCM (3 мл) и дисульфид углерода (17 мг, 0,22 ммоль) добавляли в выдерживающий давление флакон при комнатной температуре в атмосфере азота. Реакционную смесь подвергали микроволновому облучению (мощность 150 Вт) при 90 °С в течение 30 мин. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли дихлорметаном (10 мл), последовательно промывали водой (5 мл), 1 М HCl (5 мл) и водой (5 мл), сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали досуха с получением диметил 6,6'-((2-(((2-(2-(4-изотиоцианатофенокс)этокс)этил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (0,12 г), который использовали без очистки.

Стадия 4. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((2-(((2-(2-(4-изотиоцианатофенокс)этокс)этил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (0,12 г, 0,15 ммоль) и водный раствор HCl (6 Н, 0,51 мл, 3,1 ммоль) добавляли в одnogорлую круглодонную колбу объемом 10 мл и перемешивали при 50 °С в течение 3 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, концентрировали досуха в вакууме и концентрат очищали посредством препаративной ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 19 X 150 мм 5,0 мкм; подвижная фаза: 0,1% TFA в смеси вода/ацетонитрил; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением (S)-6,6'-((2-(((2-(2-(4-изотиоцианатофенокс)этокс)этил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))дипиколиновой кислоты (40 мг, 37%).
ЖХ-МС АРСІ: рассчитано для C₃₈H₄₉N₅O₁₀S₂: 799,29; наблюдаемое *m/z* [M+H]⁺ 799,9.
¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 8,23–8,20 (м, 2H), 8,15–8,09 (м, 2H), 7,74–7,71 (м, 2H), 7,19 (д, *J* = 8,80 Гц, 2H), 6,92 (д, *J* = 9,20 Гц, 2H), 4,81 (с, 2H), 4,77 (с, 2H), 4,09–4,11 (м, 4H), 3,92–3,95 (м, 6H), 3,79 (т, *J* = 4,00 Гц, 3H), 3,66–3,71 (м, 16H), 2,70–2,76 (м, 4H).

Пример 9

(S)-6,6'-((2-(((2-(2-(2-(4-Изоотиоцианатофенокси)этокси)этокси)этил)тио)метил)-
5 1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))дипиколиновая
кислота



10

Схема 8

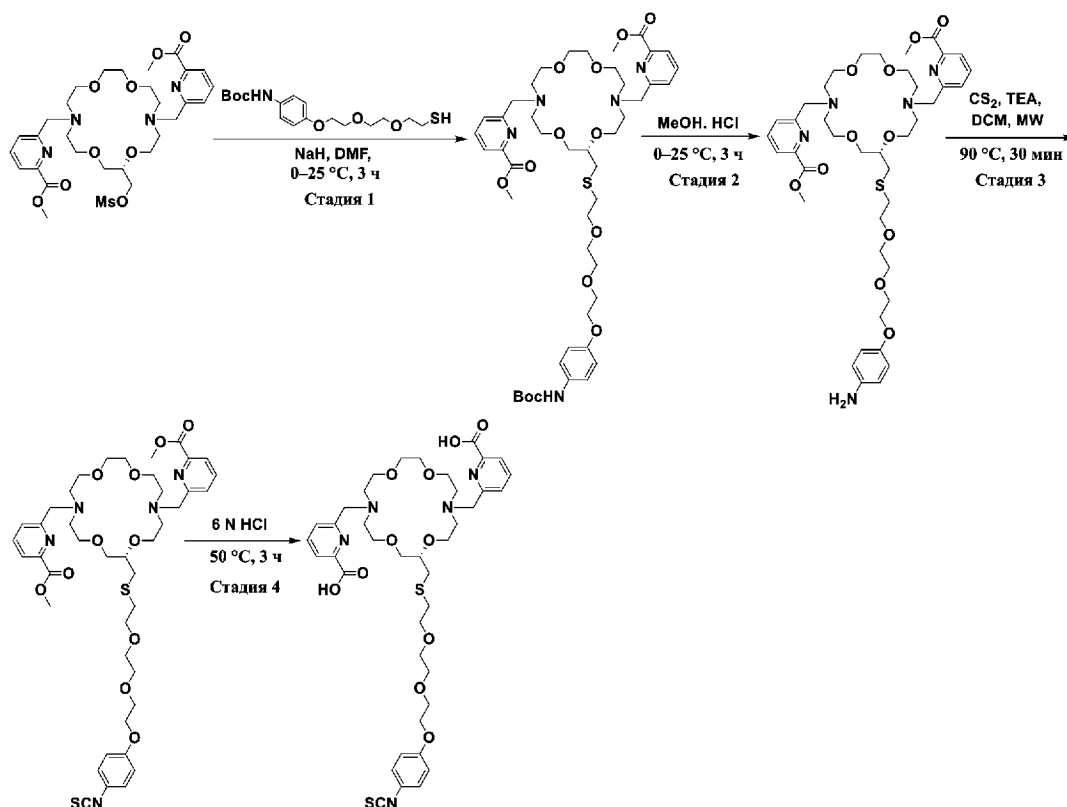


Схема 8а



- 5 **Схема 8а, стадия 1а.** Якорь магнитной мешалки, трет-бутил (4-гидроксифенил)карбамат (3,5 г, 17 ммоль), 1,2-бис(2-бромэтокси)этан (4,6 г, 17 ммоль), K_2CO_3 (4,6 г, 33 ммоль) и ACN (40 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 250 мл и затем перемешивали при 80°C в течение 48 ч в атмосфере азота. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через Celite®
- 10 и концентрировали досуха в вакууме с получением концентрата, который очищали хроматографией на силикагеле (0–10% MeOH/DCM) с получением *tert*-бутил (4-(2-(2-(2-бромэтокси)этокси)этокси)фенил)карбамат (4,0 г) в виде коричневого масла.
- Стадия 2а.** Якорь магнитной мешалки, *tert*-бутил (4-(2-(2-(2-бромэтокси)этокси)этокси)фенил)карбамат (4,0 г, 9,9 ммоль), этантиоевую S-кислоту
- 15 (0,75 г, 9,9 ммоль), K_2CO_3 (2,7 г, 20 ммоль) и ACN (50 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 250 мл в атмосфере азота и реакционную смесь нагревали при 60°C в течение 2 ч в атмосфере азота. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через Celite®, концентрировали досуха в

вакууме и концентрат очищали с помощью алюмооксидной хроматографии (0–50% EtOAc/петролейный эфир) с получением *S*-(2-(2-(2-(4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)фенокси)этоксид)этоксид)этил)этантоата (3,0 г) в виде коричневого масла.

5 **Стадия 3а.** Якорь магнитной мешалки, *S*-(2-(2-(2-(4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)фенокси)этоксид)этоксид)этил)этантоат (3,0 г, 7,5 ммоль), этанол (50 мл) и гидразин моногидрат (0,36 г, 0,36 мл, 11 ммоль) добавляли в
10 одnogорлую круглодонную колбу объемом 250 мл в атмосфере азота и перемешивали при 80 °С в течение 1 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, концентрировали досуха в вакууме и концентрат очищали хроматографией на
15 силикагеле (5–10% EtOAc/петролейный эфир) с получением *трет*-бутил (4-(2-(2-(2-меркаптоэтоксид)этоксид)этоксид)фенил)карбамата (1,0 г) в виде бесцветного масла.

Схема 7, стадия 1. Раствор, состоящий из *трет*-бутил (4-(2-(2-(2-меркаптоэтоксид)этоксид)этоксид)фенил)карбамата (0,40 г, 1,0 ммоль) и DMF (3,0 мл),
15 добавляли по каплям в течение 5 минут в трехгорлую круглодонную колбу объемом 50 мл, содержащую суспензию гидроксида натрия (0,060 г, 60% в минеральном масле, 1,5 ммоль) в DMF (3,0 мл), при 0 °С в атмосфере азота. После завершения добавления
20 реакционную смесь доводили до комнатной температуры и перемешивали непрерывно 15 минут. Смесь повторно охлаждали до 0 °С и добавляли по каплям раствор, состоящий из диметил 6,6'-((2-(((метилсульфонил)окси)метил)-1,4,10,13-тетраокса-
7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколината (0,5 г, 0,7 ммоль) и DMF (3,0 мл) в течение 10 минут. После завершения добавления реакционную смесь
медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1,5 ч. Затем
25 реакционную смесь медленно обрабатывали насыщ. водным раствором NH₄Cl (0,2 мл) и концентрировали досуха с получением масла. Масло очищали посредством
препаративной ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 (19 X 150 мм) 5,0 мкм; подвижная фаза: 0,1% TFA в смеси вода/ацетонитрил; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением
30 диметил 6,6'-((2-(((2-(2-(2-(4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)феноксид)этоксид)этоксид)этил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколината (0,15 г, 21%) в виде коричневого масла.

Стадия 2. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((2-(((2-(2-(2-(4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)феноксид)этоксид)этоксид)этил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (0,15 мг,

0,16 ммоль), MeOH (1,0 мл) и HCl в метаноле (4 М, 0,80 мл, 3,2 ммоль) добавляли в
одногоорную круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °С. Реакционной смеси давали
нагреться до комнатной температуры

и перемешивали в течение 3 ч. Летучие вещества удаляли в вакууме с получением
5 диметил 6,6'-((2-(((2-(2-(2-(4-аминофенокси)этокс)этокс)этил)тио)метил)-1,4,10,13-
тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколината (0,12 г),
который использовали на следующей стадии без очистки.

Стадия 3. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((2-(((2-(2-(2-(4-
аминофенокс)этокс)этокс)этил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-
10 диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (0,12 г, 0,14 ммоль),
триэтиламин (44 мг, 0,43 ммоль), безводный DCM (5 мл) и дисульфид углерода (17 мг,
0,22 ммоль) добавляли во флакон для микроволновой обработки при комнатной
температуре в атмосфере азота. Реакционную смесь подвергали микроволновому
облучению (мощность 150 Вт) при 90 °С в течение 30 мин. Затем реакционную смесь
15 охлаждали до комнатной температуры, разбавляли дихлорметаном (10 мл),
последовательно промывали водой (5 мл), 1 М HCl (5 мл) и водой (5 мл), сушили над
безводным Na₂SO₄ и концентрировали досуха с получением диметил 6,6'-((2-(((2-(2-(2-
(4-изотиоцианатофенокс)этокс)этокс)этил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-
диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (0,12 г), который
20 использовали на следующей стадии без очистки.

Стадия 4. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((2-(((2-(2-(2-(4-
изотиоцианатофенокс)этокс)этокс)этил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-
диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (0,12 мг, 0,14 ммоль) и
водную HCl (6 Н, 0,50 мл, 2,8 ммоль) добавляли в одногоорную круглодонную колбу
25 объемом 10 мл и перемешивали при 50 °С в течение 3 ч. Реакционную смесь охлаждали
до комнатной температуры, концентрировали досуха в вакууме с получением остатка,
который очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 19 X 150 мм 5,0 мкм;
подвижная фаза: 0,1% TFA в смеси вода/ацетонитрил; скорость потока: 15,0 мл/мин) с
получением (S)-6,6'-((2-(((2-(2-(2-(4-
30 изотиоцианатофенокс)этокс)этокс)этил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-
диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))дипиколиновой кислоты (50 мг). ЖХ-МС
APCI: рассчитано для C₄₀H₅₃N₅O₁₁S₂: 843,32; наблюдаемое *m/z* [M+H]⁺ 843,9. ¹H ЯМР
(400 МГц, CD₃OD) δ 8,24–8,21 (м, 2H), 8,21–8,11 (м, 2H), 7,74 (д, *J* = 7,60 Гц, 2H), 7,23–

7,20 (м, 2H), 6,97–6,95 (м, 2H), 4,84–4,79 (м, 5H), 4,14–4,12 (м, 4H), 3,97–3,94 (м, 6H), 3,83–3,59 (м, 23H), 2,75–2,67 (м, 4H).

Пример 10

- 5 6-(((4-(((2-(2-(2-Аминоэтокси)этокси)этил)карбамоил)фенил)(16-((6-карбоксопиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дизациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновая
- кислота

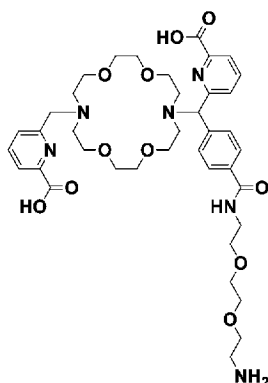
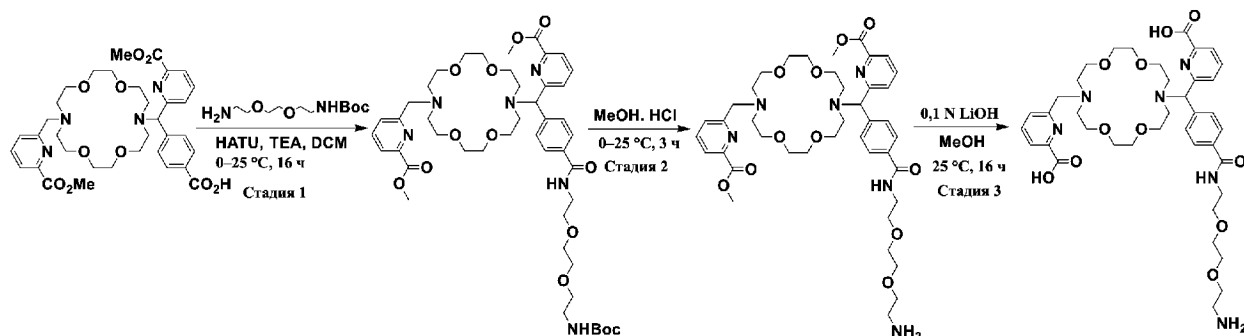


Схема 9



10

Стадия 1. Якорь магнитной мешалки, 4-(((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дизациклооктадекан-7-ил)метил)бензойную кислоту (0,40 г, 0,60 ммоль), *трет*-бутил-(2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этил)карбамат (0,15 г, 0,60 ммоль), триэтиламин (0,18 г, 0,76 ммоль), HATU (0,33 г, 0,90 ммоль) и DCM (4,0 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °С в атмосфере азота. Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали дихлорметаном (10 мл x 3). Объединенные экстракты промывали 10% водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и соевым раствором (10 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением концентрата, который очищали посредством хроматографии на силикагеле (0–10% MeOH/DCM) с получением метил-6-(((4-(((2,2-диметил-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатридекан-13-

15

20

ил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколината (0,18 г).

Стадия 2. Якорь магнитной мешалки, метил-6-((4-((2,2-диметил-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатридекан-13-ил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (0,18 г, 0,20 ммоль), MeOH (1,8 мл) и HCl в метаноле (4 M, 1,0 мл, 4,0 ммоль) добавляли в одностороннюю круглодонную колбу объемом 10 мл при 0 °C, впоследствии доводили до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Летучие вещества удаляли в вакууме с получением метил-6-((4-((2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколината (0,15 г), который использовали без очистки.

Стадия 3. Якорь магнитной мешалки, метил-6-((4-((2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этил)карбамоил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (0,1 г, 0,1 ммоль), водный LiOH (3 мл, 0,1 M, 0,3 ммоль) и MeOH (1,0 мл) добавляли в реакционную вialу объемом 8 мл при комнатной температуре и перемешивали в течение ночи. pH реакционной смеси доводили до ~ 6,5 посредством уксусной кислоты и впоследствии концентрировали досуха в вакууме при комнатной температуре с получением концентрата, который очищали посредством препаративной ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 19 X 150 мм, 5,0 мкм; подвижная фаза: 0,1% TFA в смеси вода/ACN; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением 6-((4-((2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этил)карбамоил)фенил)(16-((6-карбоксопиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновой кислоты (40 мг). ЖХ-МС APCII: рассчитано для C₃₉H₅₄N₆O₁₁; 782,39; наблюдаемое m/z [M+H]⁺ 783,0.

Пример 11

6,6'-((18-(((2-(2-Аминоэтокси)этил)тио)метил)тетрадекагидро-4*H*,13*H*,17*H*-циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]дизациклооктадецин-4,13-диил)бис(метилен))дипиколиновая кислота

Пример 12

N-ацил-DBCO-меченная 6,6'-(((18-(((2-(2-аминоэтокси)этил)тио)метил)тетрадекагидро-4*H*,13*H*,17*H*-циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]дизациклооктадецин-4,13-

5 диил)бис(метилен))дипиколиновая кислота

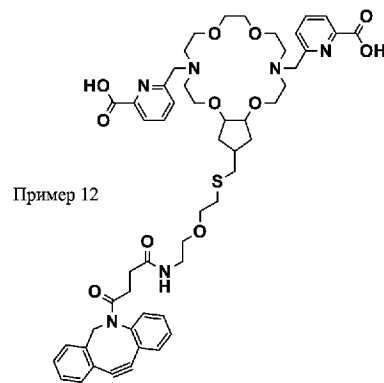
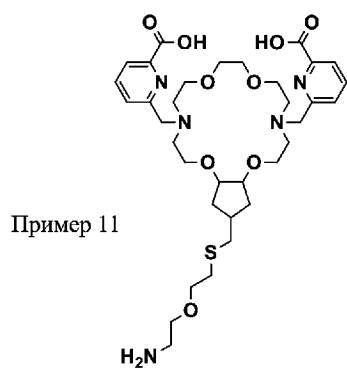
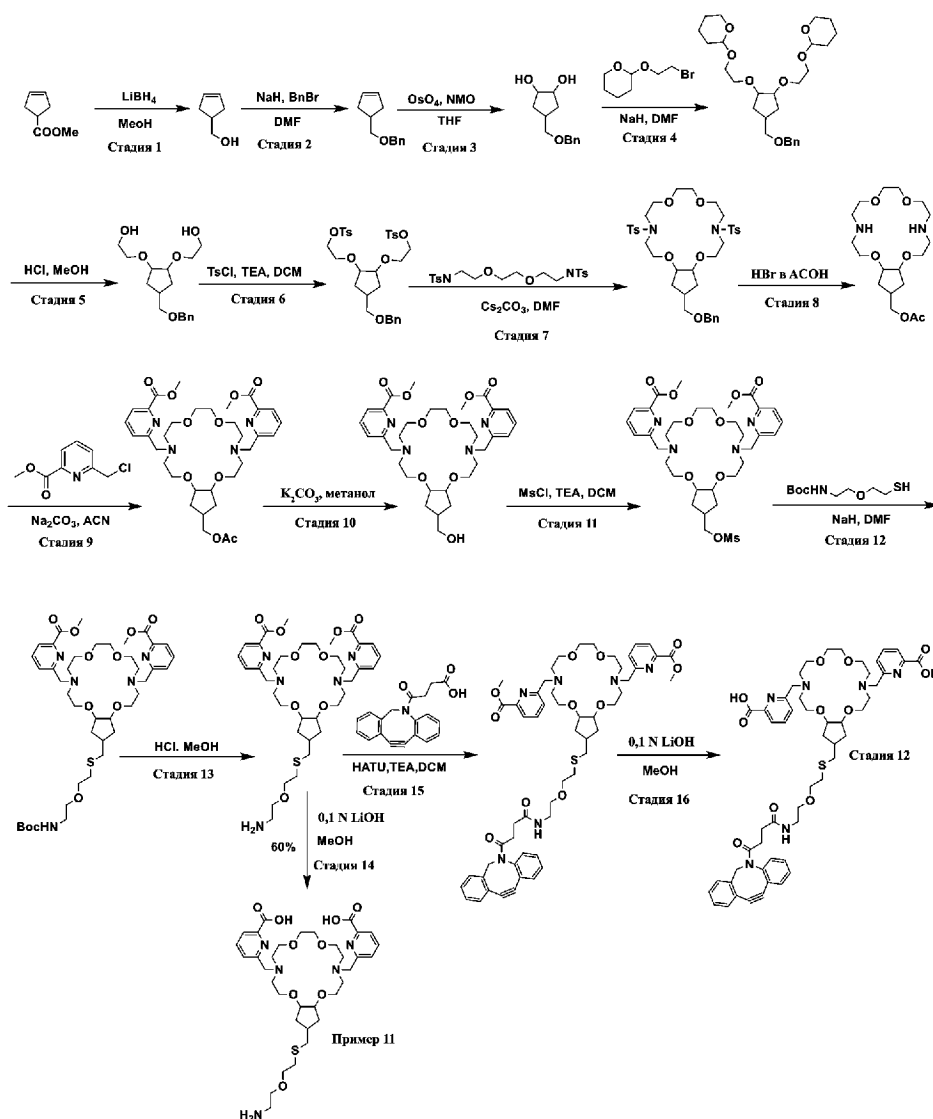


Схема 10



Стадия 1. Якорь магнитной мешалки, метилциклопент-3-ен-1-карбоксилат (25,0 г, 198 ммоль), ТГФ (600 мл), метанол (12,6 г, 16,0 мл, 397 ммоль) и боргидрид лития (198 мл, 2,0 М в ТГФ, 397 ммоль) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 3000 мл при 0 °С. После завершения добавления реакцию смесь перемешивали при 70 °С в течение 6 ч. Впоследствии реакцию смесь охлаждали до комнатной температуры, медленно обрабатывали ледяной водой (250 мл), охлаждали дополнительно до 0 °С, доводили до pH ~2 посредством 1,5 Н HCl (pH ~2) и впоследствии экстрагировали DCM (1000 мл x 3). Объединенные экстракты промывали водой (500 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха с получением концентрата, который очищали посредством хроматографии на силикагеле (50–80% EtOAc/петролейный эфир) с получением циклопент-3-ен-1-илметанола (13,8 г).

Стадия 2. Раствор, состоящий из циклопент-3-ен-1-илметанола (13,7 г, 139 ммоль) и DMF (50 мл), по каплям добавляли в течение 30 мин в трехгорлую круглодонную колбу объемом 1000 мл, содержащую суспензию гидрида натрия (6,69 г, 60% в минеральном масле, 167 ммоль) в DMF (50 мл) при 0 °С в атмосфере азота. После завершения добавления реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и продолжали перемешивание в течение 30 мин. Смесь впоследствии повторно охлаждали до 0 °С и по каплям обрабатывали в течение 15 мин раствором, состоящим из бензилбромида (19,8 г, 167 ммоль) и DMF (50 мл). После завершения добавления реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и впоследствии перемешивали в течение 16 ч. Реакционную смесь медленно обрабатывали насыщ. водным раствором NH₄Cl (50 мл) и впоследствии экстрагировали этилацетатом (1000 мл x 3). Объединенные экстракты промывали водой (500 мл x 3), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением концентрата. Концентрат очищали посредством хроматографии на силикагеле (0–20% EtOAc/петролейный эфир) с получением ((циклопент-3-ен-1-илметокси)метил)бензола (21,0 г).

Стадия 3. Якорь магнитной мешалки, NMO (38,0 г, 50% масс. в H₂O, 158 ммоль), ТГФ (180 мл) и тетроксид осмия (16,2 г, 3,21 мл, 2,5% масс. в *трет*-бутаноле, 0,158 ммоль) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 1000 мл при 0 °С. Реакционную смесь доводили до комнатной температуры, смесь перемешивали в течение 10 мин и повторно охлаждали до 0 °С. После охлаждения смесь по каплям обрабатывали в течение 15 мин раствором ((циклопент-3-ен-1-илметокси)метил)бензола (20,0 г, 158 ммоль) и ТГФ (180 мл). Реакционную смесь доводили до комнатной температуры и смесь перемешивали в течение 16 ч, после чего ее медленно обрабатывали насыщ. водным раствором NaHCO₃ (100 мл) и экстрагировали DCM (1000 мл x 3). Объединенные экстракты промывали водой (500 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением концентрата, который очищали посредством хроматографии на силикагеле (0–20% EtOAc/петролейный эфир) с получением смеси изомеров 4-((бензилокси)метил)циклопентан-1,2-диола в виде бесцветного масла. Изомеры разделяли посредством СЖХ (прибор: PIC 100; колонка: Chiralpak OXH (250 x 30) мм, 5 мкм; подвижная фаза: CO₂: 0,5% изопропиламин в IPA (60:40); общий расход: 70 г/мин; противодавление: 100 бар; длина волны: 220 нм; время цикла: 8,0 мин) с получением обоих *цис*-1,2-изомеров 4-

((бензилокси)метил)циклопентан-1,2-диола: первый элюируемый изомер (10 г) и второй элюируемый изомер (5 г).

Стадия 4. Раствор, состоящий из первого элюируемого изомера 4-

((бензилокси)метил)циклопентан-1,2-диола (10,0 г, 45,0 ммоль) и DMF (60 мл),

5 добавляли по каплям в течение 1 ч в трехгорлую круглодонную колбу объемом 250 мл, содержащую суспензию гидрида натрия (8,62 г, 60% в минеральном масле, 225 ммоль) в DMF (60 мл) при 0 °С в атмосфере азота. После завершения добавления реакционную смесь доводили до комнатной температуры и смесь перемешивали в течение 30 мин.

Впоследствии смесь повторно охлаждали до 0 °С и по каплям в течение 15 мин

10 обрабатывали раствором, состоящим из 2-(2-бромэтокси)тетрагидро-2*H*-пирана (47,0 г, 225 ммоль) и DMF (60 мл). После завершения добавления реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч.

Впоследствии смесь медленно обрабатывали насыщ. водным раствором NH₄Cl (50 мл)

и впоследствии экстрагировали этилацетатом (500 мл x 3). Объединенные экстракты

15 промывали водой (500 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и

концентрировали досуха с получением масла, которое очищали посредством

хроматографии на силикагеле (0–30% EtOAc/петролейный эфир) с получением 2,2'-

(((4-((бензилокси)метил)циклопентан-1,2-диил)бис(окси))бис(этан-2,1-

диил))бис(окси))бис(тетрагидро-2*H*-пирана) (21,0 г).

20 **Стадия 5.** Якорь магнитной мешалки, 2,2'-(((4-((бензилокси)метил)циклопентан-1,2-

диил)бис(окси))бис(этан-2,1-диил))бис(окси))бис(тетрагидро-2*H*-пиран) (29,0 г,

61,0 ммоль), MeOH (200 мл) и HCl в 1,4-диоксане (4 М, 3,0 мл, 12,0 ммоль) добавляли в

тригорлую круглодонную колбу объемом 1000 мл и впоследствии нагревали с

обратным холодильником в течение 1 ч. Впоследствии колбу охлаждали до комнатной

25 температуры и удаляли летучие вещества в вакууме с получением 2,2'-((4-

((бензилокси)метил)циклопентан-1,2-диил)бис(окси))бис(этан-1-ола) (20,0 г) в виде

остатка, который использовали без очистки.

Стадия 6. Якорь магнитной мешалки, 2,2'-((4-((бензилокси)метил)циклопентан-1,2-

диил)бис(окси))бис(этан-1-ол) (20,0 г) (20,0 г, 64,4 ммоль), DCM (200 мл) и

30 триэтиламин (32,6 мл, 322 ммоль) добавляли в круглодонную колбу объемом 1000 мл в

атмосфере азота и полученную смесь охлаждали до 10 °С. Впоследствии смесь

обрабатывали pTsCl (36,9 г, 193 ммоль), который добавляли порциями, а затем

доводили до комнатной температуры. После завершения добавления реакционную

смесь перемешивали в течение 16 ч, и за это время образовывался осадок.

Впоследствии смесь разбавляли DCM (500 мл), промывали холодным водным раствором HCl (1 M, 500 мл x 3) и ледяной водой (500 мл x 2), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением остатка, который очищали посредством хроматографии на силикагеле (0–30% EtOAc/петролейный эфир) с получением ((4-((бензилокси)метил)циклопентан-1,2-диил)бис(окси))бис(этан-2,1-диил)-бис(4-метилбензолсульфоната) (26,0 г).

Стадия 7. Якорь магнитной мешалки, *N,N'*-((этан-1,2-диилбис(окси))бис(этан-2,1-диил))бис(4-метилбензолсульфонамид) (21,0 г, 42,0 ммоль), Cs₂CO₃ (41,3 г, 126 ммоль) и сухой DMF (250 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 2000 мл в атмосфере азота и полученную гетерогенную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Впоследствии смесь по каплям обрабатывали раствором, состоящим из ((4-((бензилокси)метил)циклопентан-1,2-диил)бис(окси))бис(этан-2,1-диил)-бис(4-метилбензолсульфоната) (26,0 г, 42,0 ммоль) и DMF (250 мл), в течение периода 2 ч. Перемешивание продолжали в течение 20 ч, после чего смесь концентрировали досуха в вакууме с получением пастообразного твердого вещества. Пасту суспендировали в DCM (1000 мл), перемешивали в течение 30 мин и фильтровали посредством вакуумного фильтрования. Фильтрат концентрировали досуха в вакууме с получением концентрата, который очищали посредством хроматографии на силикагеле (0–40% EtOAc/петролейный эфир) с получением 18-((бензилокси)метил)-4,13-дитозилтетрадекагидро-2*H*,11*H*,17*H*-циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]дизациклооктадецина (24 г).

Стадия 8. Раствор HBr (50%, 112 мл, 695 ммоль) в HOAc добавляли в круглодонную колбу объемом 500 мл, содержащую якорь магнитной мешалки и 18-((бензилокси)метил)-4,13-дитозилтетрадекагидро-2*H*,11*H*,17*H*-циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]дизациклооктадецина (24,0 г, 32,8 ммоль) в атмосфере азота. Смесь перемешивали при комнатной температуре до гомогенного состояния и впоследствии обрабатывали фенолом (16,3 г, 174 ммоль). Впоследствии реакцию смесь нагревали при 60 °C в течение 6 ч, после чего ее охлаждали до комнатной температуры и концентрировали досуха в вакууме с получением концентрата. Концентрат очищали посредством обращенно-фазной колоночной хроматографии (колонка: Revelries C18-330 g; подвижная фаза A: 0,1% TFA в воде, подвижная фаза B: ацетонитрил; скорость потока: 60 мл/мин) с получением (тетрадекагидро-2*H*,11*H*,17*H*-

циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазаацетилпиперазин-18-ил)метилацетата (8,0 г).

Стадия 9. Якорь магнитной мешалки, (тетрадекагидро-2*H*,11*H*,17*H*-

циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазаацетилпиперазин-18-ил)метилацетат (8,0 г,
 5 21 ммоль), метил-6-(хлорметил)пиколинат (12,2 г, 53,2 ммоль), Na₂CO₃ (11,1 г,
 106 ммоль) и ацетонитрил (100 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу
 объемом 500 мл в атмосфере азота и полученную гетерогенную смесь нагревали при
 90 °С в течение 16 ч в атмосфере азота. Впоследствии полученную смесь охлаждали до
 комнатной температуры, фильтровали через слой Celite® и фильтрат концентрировали
 10 досуха в вакууме с получением концентрата. Концентрат подвергали хроматографии на
 силикагеле (0–10% MeOH/DCM) с получением диметил-6,6'-((18-
 (ацетоксиметил)тетрадекагидро-4*H*,13*H*,17*H*-
 циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазаацетилпиперазин-4,13-
 диил)бис(метилен))дипиколината (5,0 г).

15 **Стадия 10.** Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((18-

(ацетоксиметил)тетрадекагидро-4*H*,13*H*,17*H*-
 циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазаацетилпиперазин-4,13-
 диил)бис(метилен))дипиколинат (5,0 г, 7,4 ммоль), K₂CO₃ (0,10 г, 0,74 ммоль) и
 метанол (50 мл) добавляли в круглодонную колбу объемом 250 мл в атмосфере азота и
 20 полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Затем
 смесь концентрировали досуха в вакууме, а полученный остаток очищали
 хроматографией на силикагеле (0–10% MeOH/DCM) с получением 6,6'-((18-
 (гидроксиметил)тетрадекагидро-4*H*,13*H*,17*H*-
 циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазаацетилпиперазин-4,13-
 25 диил)бис(метилен))дипиколината (3,0 г).

Стадия 11. Якорь магнитной мешалки, 6,6'-((18-(гидроксиметил)тетрадекагидро-

4*H*,13*H*,17*H*-циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазаацетилпиперазин-4,13-
 диил)бис(метилен))дипиколинат (2,0 г, 3,1 ммоль), DCM (20 мл) и триэтиламин (1,2 г,
 9,5 ммоль) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 100 мл в атмосфере
 30 азота и полученную смесь охлаждали до 10 °С. Смесь обрабатывали MsCl (0,48 г,
 6,3 ммоль) и после завершения добавления реакционный сосуд доводили до комнатной
 температуры и перемешивали в течение 30 минут, в течение которых образовывался
 осадок. Гетерогенную смесь затем разбавляли DCM (50 мл) и промывали холодным
 водн. HCl (1 M, 50 мл x3) и ледяной водой (50 мл x2), сушили над безводным Na₂SO₄,

фильтровали и концентрировали досуха с получением клейкого твердого вещества. Клейкое твердое вещество очищали с помощью колоночной хроматографии на нейтральном оксиде алюминия (0–10% MeOH/DCM) с получением диметил 6,6'-((18-

5 циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазациклооктадецин-4,13-диил)бис(метилен))дипиколината (1,5 г).

Стадия 12. Раствор, состоящий из диметил 6,6'-((18-

10 (((метилсульфонил)окси)метил)тетрадекагидро-4*H*,13*H*,17*H*-циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазациклооктадецин-4,13-

диил)бис(метилен))дипиколината (0,69 г, 3,2 ммоль) и DMF (5 мл), добавляли по каплям в течение 5 минут в трехгорлую круглодонную колбу объемом 25 мл, содержащую суспензию гидрида натрия (162 мг, 60% в минеральном масле, 4,22 ммоль) в DMF (0,5 мл) при 0 °С в атмосфере азота. После завершения добавления реакционную смесь доводили до комнатной температуры и перемешивали 15 минут.

15 Реакционную смесь затем повторно охлаждали до 0 °С и обрабатывали по каплям в течение 5 минут раствором, содержащим *трет*-бутил (2-(2-меркаптоэтокси)этил)карбамат (1,50 г, 2,11 ммоль) и DMF (3 мл). После завершения добавления реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и затем перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь далее медленно обрабатывали насыщ.

20 NH₄Cl и затем экстрагировали этилацетатом (10 мл x 3). Объединенные экстракты промывали водой (10 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением масла. Остаток очищали посредством препаративной ВЭЖХ (колонок: XBRIDGE C18 19 X 150 мм 5,0 мкм; подвижная фаза: 0,1% TFA в смеси вода/ацетонитрил; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением

25 циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазациклооктадецин-4,13-диил)бис(метилен))дипиколината (0,2 г).

Стадия 13. Якорь магнитной мешалки,

циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазациклооктадецин-4,13-

30 диил)бис(метилен))дипиколинат (0,20 г, 0,24 ммоль), MeOH (1,0 мл) и HCl в метаноле (4 М, 1,2 мл, 4,8 ммоль) добавляли в одnogорлую круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °С и полученную смесь доводили до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Летучие вещества удаляли в вакууме с получением диметил 6,6'-((18-(((2-(2-аминоэтокси)этил)тио)метил)тетрадекагидро -4*H*,13*H*,17*H*-

циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазациклооктадецин-4,13-
диил)бис(метилен))дипиколината (150 мг), который использовали без очистки.

Стадия 14. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((18-(((2-(2-
аминоэтокси)этил)тио)метил)тетрадекагидро-4Н,13Н,17Н-

5 циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазациклооктадецин-4,13-
диил)бис(метилен))дипиколинат (40 мг, 0,054 ммоль), водный раствор LiOH (1,6 мл, 0,1
Н, 0,16 ммоль) и MeOH (0,5 мл) добавляли в реакционную пробирку объемом 8 мл при
комнатной температуре и полученную смесь перемешивали в течение ночи. Значение
рН реакционной смеси доводили уксусной кислотой до рН ~6,5 и затем
10 концентрировали досуха в вакууме при комнатной температуре и полученный
концентрат очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 19 X 150 мм 5,0
мкм; подвижная фаза: 10 mM ацетата аммония в смеси вода/ACN; скорость потока:
15,0 мл/мин) с получением **примера 11**: 6,6'-((18-(((2-(2-
аминоэтокси)этил)тио)метил)тетрадекагидро-4Н,13Н,17Н-

15 циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазациклооктадецин-4,13-
диил)бис(метилен))дипиколиновой кислоты (23 мг). ЖХ-МС АРСІ: рассчитано для
C₃₄H₅₁N₅O₉S; 705,34; наблюдаемое m/z [M+H]⁺ 706,4.

Стадия 15. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((18-(((2-(2-
аминоэтокси)этил)тио)метил)тетрадекагидро-4Н,13Н,17Н-

20 циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазациклооктадецин-4,13-
диил)бис(метилен))дипиколинат (70 мг, 0,95 ммоль), 11,12-дидегидро-γ-
оксодибенз[*b,f*]азоцин-5(6Н)-бутановую кислоту (29 мг, 0,95 ммоль), триэтиламин
(29 мг, 0,76 ммоль), NATU (54 мг, 0,14 ммоль) и DCM (0,5 мл) добавляли в трехгорлую
круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °С в атмосфере азота. Полученную смесь
25 доводили до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную
смесь разводили водой (10 мл) и экстрагировали с помощью дихлорметана (10 мл x 3).
Объединенные экстракты промывали 10% водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и
солевым раствором (10 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и
концентрировали досуха с получением масла. Масло очищали хроматографией на
30 силикагеле (0–10% MeOH/DCM) с получением *N*-ацил-DBCO-меченого диметил 6,6'-
((18-(((2-(2-аминоэтокси)этил)тио)метил)тетрадекагидро-4Н,13Н,17Н-
циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазациклооктадецин-4,13-
диил)бис(метилен))дипиколината (10 мг).

Стадия 16. Якорь магнитной мешалки, *N*-ацил-DBCO-меченный диметил 6,6'-(((18-(((2-

(2-аминоэтокси)этил)тио)метил)тетрадекагидро-4Н,13Н,17Н-

циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазациклооктадецин-4,13-

5 диил)бис(метилен))дипиколинат (10 мг, 0,01 ммоль), водный LiOH (0,3 мл, 0,1 Н, 0,03 ммоль) и метанол (0,25 мл) добавляли в реакционную пробирку объемом 8 мл при комнатной температуре и полученную смесь перемешивали в течение ночи.

Реакционную смесь доводили уксусной кислотой до рН ~6,5 и затем концентрировали

досуха в вакууме при комнатной температуре и полученный концентрат очищали

10 препаративной ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 (19 X 150 мм) 5,0 мкм; подвижная фаза: 10 мМ ацетата аммония в смеси вода/ACN; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением

примера 12: *N*-ацил-DBCO-меченной 6,6'-(((18-(((2-

аминоэтокси)этил)тио)метил)тетрадекагидро -4Н,13Н,17Н-

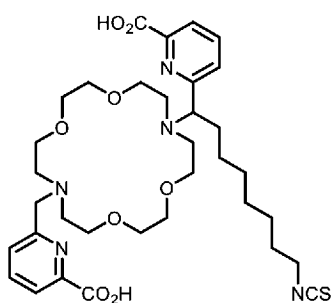
циклопента[*b*][1,4,10,13]тетраокса[7,16]диазациклооктадецин-4,13-

15 диил)бис(метилен))дипиколиновой кислоты (3 мг). ЖХ-МС АРСІ: рассчитано для C₅₃H₆₄N₆O₁₁S; 992,44; наблюдаемое *m/z* [M-H]⁻: 991,4.

Пример 13

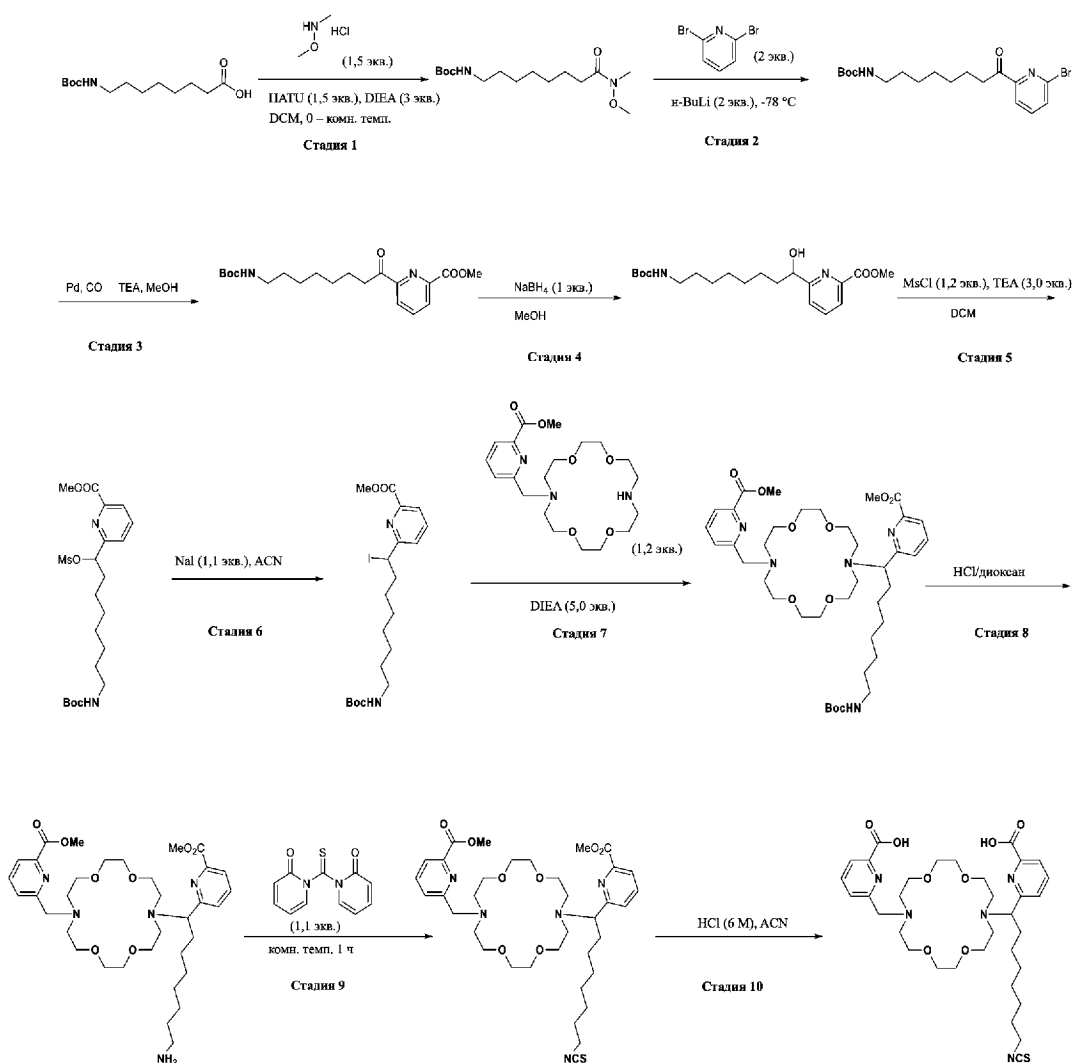
6-(((16-(1-(6-Карбоксипиридин-2-ил)-8-изотиоцианатооктил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-

диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновая кислота



20

Схема 11



Стадия 1. В трехгорлую круглодонную колбу объемом 500 мл, продутую и поддерживаемую в инертной атмосфере азота, помещали раствор 8-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)октановой кислоты (20,0 г, 77,1 ммоль) в дихлорметане (200 мл), N,O-диметилгидроксиламин (7,0 г, 115 ммоль), диизопропилэтиламин (29,90 г, 231 ммоль). После этого добавляли HATU (43,9 г, 115 ммоль) при перемешивании при 0 °С. Полученный раствор перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем реакцию гасили путем добавления 200 мл воды. Полученный раствор экстрагировали дихлорметаном (100 мл x 2). Объединенные органические слои последовательно промывали HCl (1M) (300 мл X2), водным раствором NH₄CO₃ (400 мл X3) и соевым раствором (400 мл). После высушивания над безводным Na₂SO₄ концентрировали с получением *трет*-бутил (8-(метокси(метил)амино)-8-оксооктил)карбамата (15,4 г, выход 66%) в виде светло-желтого масла.

Стадия 2. В трехгорлую круглодонную колбу объемом 500 мл, которая была продута и

в которой поддерживалась инертная атмосфера азота, помещали раствор 2,6-дибромпиридина (23,0 г, 927 ммоль) в ТГФ (400 мл). Раствор охлаждали до $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ и быстро добавляли по каплям $n\text{-BuLi}$ (60,4 мл, 927 ммоль). После перемешивания в течение 10 мин по каплям добавляли трет-бутил (8-(метокси(метил)амино)-8-оксооктил)карбамат (14,0 г, 463,5 ммоль) в ТГФ (40 мл) при перемешивании при $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$.
5 Полученный раствор перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. Реакционную смесь гасили путем добавления 500 мл воды. Полученный раствор экстрагировали этилацетатом (200 мл \times 2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (400 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и
10 концентрировали с получением неочищенного продукта. Хроматография на силикагеле (0–10% этилацетат в петролейном эфире) позволила получить *трет*-бутил (8-(6-бромпиридин-2-ил)-8-оксооктил)карбамат (11,8 г, выход 50%) в виде светло-желтого твердого вещества.

Стадия 3. В реактор высокого давления объемом 1 л, поддерживаемый в инертной атмосфере азота, поместили раствор *трет*-бутил (8-(6-бромпиридин-2-ил)-8-оксооктил)карбамата (11,5 г, 28,8 ммоль, 1,0 экв.) в MeOH (500 мл), затем $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (2,1 г, 2,88 ммоль), TEA (8,7 г, 86,4 ммоль). Затем ввели CO (20 атм). Полученный раствор перемешивали в течение 16 ч при $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ Реакционный раствор фильтровали и
15 напрямую использовали на следующей стадии.

Стадия 4. Раствор в MeOH, полученный выше, охлаждали до $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ и добавляли NaBH_4 (1,08 г, 28,8 ммоль). Полученный раствор перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Реакцию гасили добавлением 500 мл водного раствора NH_4CO_3 и экстрагировали этилацетатом (300 мл \times 2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (600 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 и
20 концентрировали с получением метил 6-(8-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-1-гидроксиоктил)пиколината (10 г) в виде коричневого масла.

Стадия 5. В трехгорлую круглодонную колбу объемом 250 мл, которая была продута и в которой поддерживали инертную атмосферу азота, помещали раствор метил 6-(8-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-1-гидроксиоктил)пиколината (10 г) в DCM (100 мл).
30 После охлаждения до $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ добавляли TEA (7,9 г, 78,9 ммоль) и мезилхлорид (3,6 г, 31,5 ммоль). Полученный раствор перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Смесь концентрировали под вакуумом. Добавляли MeCN (100 мл) и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт метил 6-(8-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-1-((метилсульфонил)окси)октил)пиколинат
напрямую

использовали на следующей стадии.

Стадия 6. К раствору вышеуказанного неочищенного продукта метил 6-(8-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-1-((метилсульфонил)окси)октил)пиколината в ACN (100 мл) добавляли NaI (4,3 г, 28,9 ммоль). Полученный раствор перемешивали в течение 1 ч при 80 °С. Смесь фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной флэш-ВЭЖХ: колонка C18; подвижная фаза от H₂O/ACN = 50/50% до H₂O/ACN = 20/80% за 30 мин; с получением 4 г метил 6-(8-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-1-иодоктил)пиколината в виде коричневого масла.

Стадия 7. К раствору метил 6-(8-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-1-иодоктил)пиколината (3,0 г, 6,12 ммоль) в DCM (200 мл) добавляли метил 6-((1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (3,0 г, 7,34 ммоль), диизопропилэтиламин (3,9 г, 30,61 ммоль). Полученный раствор перемешивали в течение 16 ч при 80 °С. Реакцию концентрировали. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной флэш-ВЭЖХ: колонка C18; подвижная фаза, А: H₂O (0,05% TFA), В: CAN; от 20% В до 40% В в течение 20 мин, получили 1,9 г метил 6-(8-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-1-(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)октил)пиколината в виде коричневого масла.

Стадия 8. В перемешиваемый раствор метил 6-(8-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-1-(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)октил)пиколината (1,7 г, 2,19 ммоль, 77% по ЖХМС) в DCM (8,5 мл) при 0 °С добавляли по каплям HCl/диоксан. Полученный раствор перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Реакцию гасили по частям добавлением водного раствора NH₄CO₃ (20 мл X3). Полученный раствор экстрагировали дихлорметаном (100 мл x 2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (400 мл), сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали с получением 1,3 г метил 6-(8-амино-1-(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)октил)пиколината в виде коричневого масла.

Стадия 9. К раствору метил 6-(8-амино-1-(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)октил)пиколината (1,0 г, 1,48 ммоль) в DCM (17 мл) в атмосфере N₂ добавляли 1,1'-тиокарбонилбис(пиридин-2(1H)-он) (0,38 г, 1,63 ммоль). Полученный раствор перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Раствор концентрировали с получением 1,6 г метил 6-((16-(1-

(6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)-8-тиоцианатооктил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколината в виде коричневого масла.

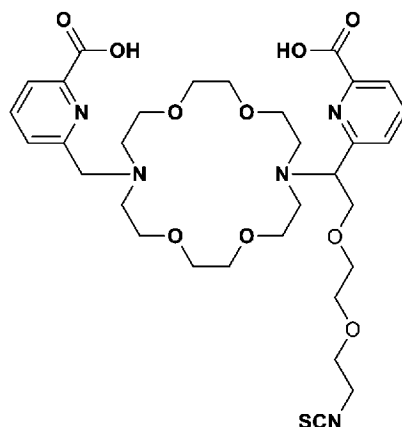
Стадия 10. К раствору метил-6-((16-(1-(6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)-8-тиоцианатооктил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-

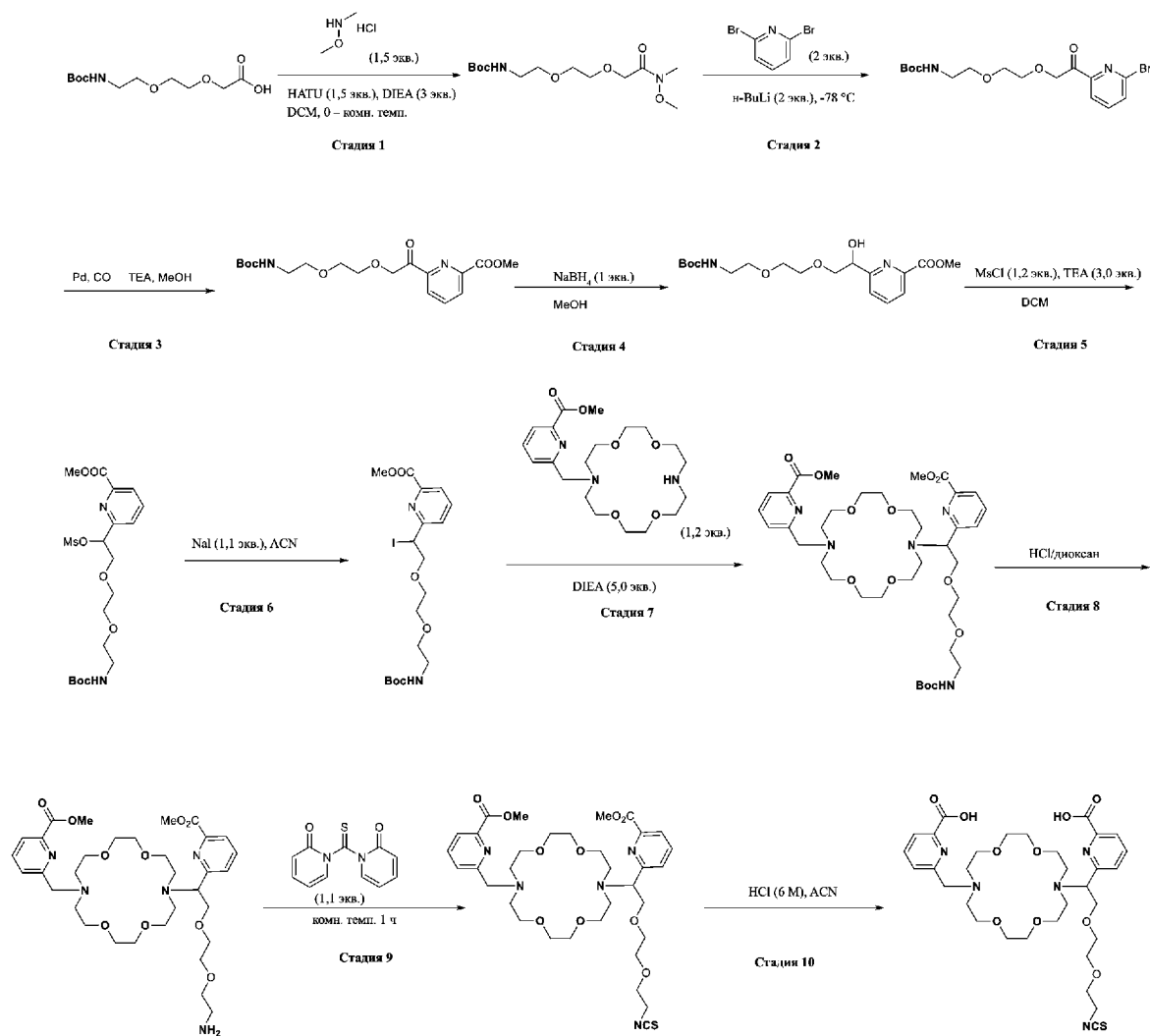
5 ил)метил)пиколината (1,40 г, 1,42 ммоль) в ACN (4 мл) добавляли HCl (6 M) (7 мл). Полученный раствор перемешивали в течение 5 ч при 50 °C на масляной бане. Раствор разбавляли 10 мл H₂O. Неочищенный продукт очищали посредством препаративной флэш-ВЭЖХ: колонка, C18; подвижная фаза, А: H₂O (0,05% TFA), В: ACN, от 20% В до 36% В в течение 20 мин; детектор УФ 210 нм. Фракции продукта концентрировали для удаления ACN. Водный слой доводили до pH7 ~8 с помощью водного раствора NaHCO₃. Раствор снова очищали препаративной флэш-ВЭЖХ: колонка, C18; подвижная фаза, А: H₂O, В: ACN, от 95% В до 100% В в течение 20 мин. Раствор продукта концентрировали для удаления CAN, а затем лиофилизировали. Получили 190 мг 6-((16-(1-(6-карбоксопиридин-2-ил)-8-тиоцианатооктил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновой кислоты в виде коричневого твердого вещества. ¹H ЯМР (300 МГц, D₂O) δ 7,91 (с, 4H), 7,54 (с, 2H), 4,52 (д, J = 17,9 Гц, 3H), 3,77 (д, J = 9,3 Гц, 8H), 3,56–3,41 (м, 18H), 2,11 (с, 2H), 1,51 (с, 2H), 1,17 (с, 7H), 0,97 (с, 1H). МС (ЭР, m/z): 688,3 (M + H⁺).

20

Пример 14

6-((16-(1-(6-Карбоксопиридин-2-ил)-2-(2-(2-изотиоцианатоэтокси)этокси)этил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновая кислота

25 Схема 12



Стадия 1. К перемешиваемому раствору 2,2-диметил-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатридекан-13-овой кислоты (10,00 г, 37,98 ммоль) и диизопропилэтиламина (14,73 г, 113,94 ммоль) в дихлорметане (100 мл) при 0 °C в атмосфере азота по каплям добавляли [бис(диметиламино)метилен]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиния 3-оксид гексафторфосфат (15,16 г, 39,88 ммоль), *H,O*-диметилгидроксиламин (5,55 г, 56,97 ммоль). После перемешивания полученной смеси в течение 1 ч при комнатной температуре ее выливали в насыщенный раствор NH_4Cl (водн.). Полученную смесь экстрагировали дихлорметаном (100 мл x 2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4 . После фильтрации полученный фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством хроматографии: колонка, C18; подвижная фаза А: H_2O с 0,05% TFA, В: ACN; градиент от 20% до 40% В за 20 мин; детектор: УФ 210 нм. Получили *трет*-бутил (3-метил-4-оксо-2,6,9-триокса-3-азаундекан-11-ил)карбамат (9,90 г выход 85%) в виде светло-желтого масла.

Стадия 2. К раствору 2,6-дибромпиридина (13,3 г, 56,1 ммоль) в ТГФ (260 мл) в 3-горлую круглодонную колбу объемом 500 мл при -78 °С в атмосфере азота добавляли по каплям *n*-BuLi (28,0 мл, 56,1 ммоль). Раствор перемешивали при -78 °С в течение 10 мин. К реакционному раствору по каплям при -78 °С добавляли трет-бутил (3-метил-4-оксо-2,6,9-триокса-3-азаундекан-11-ил)карбамат (7,0 г, 28,0 ммоль) в ТГФ (30 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь гасили добавлением воды/льда (200 мл) при 0 °С. Водный слой экстрагировали этилацетатом (100 мл x 3). Объединенные экстракты сушили над Na₂SO₄ и концентрировали в вакууме. Остаток очищали посредством хроматографии: колонка, С18; подвижная фаза, подвижная фаза А: Н₂О с 0,05% ТФА, В: АСN; градиент от 38% до 58% В за 20 мин; детектор: УФ 210 нм. Получили *трет*-бутил (2-(2-(2-(6-бромпиридин-2-ил)-2-оксоэтокси)этокси)этил)карбамат (4,6 г, выход 50%) в виде желтого твердого вещества. МС (ЭР, *m/z*): 425, 427 (М + Na⁺).

Стадия 3. В реактор высокого давления объемом 250 мл добавляли *трет*-бутил (2-(2-(2-(6-бромпиридин-2-ил)-2-оксоэтокси)этокси)этил)карбамат (4,0 г, 18,1 ммоль), триэтиламин (5,5 г, 54,3 ммоль), Pd(dppf)Cl₂ (1,3 г, 1,8 ммоль) и MeOH (40 мл). Реакционный сосуд вакуумировали и снова заполняли N₂. Затем вводили СО (10 атм). Полученный раствор перемешивали при 100 °С в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали и полученный фильтрат концентрировали досуха. Остаток очищали посредством хроматографии: колонка, С18; подвижная фаза А: Н₂О с 0,05% ТФА, В: АСN; градиент от 38% до 58% В за 20 мин; детектор: УФ 210 нм. Получили метил 6-(2,2-диметил-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатридекан-13-оил)пиколинат (2,4 г, выход 63%) в виде коричневого масла. МС (ЭР, *m/z*): 405 (М + Na⁺).

Стадия 4. К раствору метил 6-(2,2-диметил-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатридекан-13-оил)пиколината (2,30 г, 6,01 ммоль) в MeOH (46 мл) в атмосфере N₂ при 0 °С добавляли NaBH₄ (0,23 г, 6,01 ммоль). Полученный раствор перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре, а затем гасили добавлением 50 мл насыщенного NH₄HCO₃ (водн.). Полученный раствор экстрагировали этилацетатом (30 мл x 2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (60 мл), сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Получили 2,2 г неочищенного продукта метил 6-(13-гидрокси-2,2-диметил-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатридекан-13-ил)пиколината в виде коричневого масла.

Стадия 5. К раствору метил 6-(13-гидрокси-2,2-диметил-4-оксо-3,8,11-триокса-5-

азатридекан-13-ил)пиколината (2,2 г, 5,72 ммоль) в дихлорметане (22 мл) при 0 °С в атмосфере N₂ добавляли триэтиламин (1,74 г, 17,16 ммоль) и MsCl (0,79 г, 6,86 ммоль). Полученный раствор перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре, затем гасили H₂O (22 мл). Полученную смесь экстрагировали с использованием
5 дихлорметана (20 мл x 2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (40 мл), сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Получили 2,2 г неочищенного продукта метил 6-(2,2-диметил-13-((метилсульфонил)окси)-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатридекан-13-ил)пиколината в виде коричневого масла.

Стадия 6. К раствору метил 6-(2,2-диметил-13-((метилсульфонил)окси)-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатридекан-13-ил)пиколината (2,2 г, 4,75 ммоль) в ACN (22 мл) в атмосфере
10 N₂ добавляли NaI (0,78 г, 5,23 ммоль). Полученный раствор перемешивали в течение 1 ч при 80 °С. Смесь фильтровали и концентрировали. Сырой продукт очищали с помощью хроматографии: колонка, C18; подвижная фаза А: H₂O, В: ACN; градиент от 50% до 80% В за 30 мин; детектор: УФ 210 нм. Получили метил 6-(13-иод-2,2-диметил-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатридекан-13-ил)пиколинат (1,2 г) в виде коричневого масла.
15 МС (ЭР, m/z): 517 (M + Na⁺), 495 (M + H⁺).

Стадия 7. Раствор метил 6-(13-иод-2,2-диметил-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатридекан-13-ил)пиколината (840 мг, 1,69 ммоль) и метил 6-((1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколината (839 мг, 2,03 ммоль) в ACN (16,8 мл)
20 перемешивали в течение ночи при 80 °С в атмосфере азота. Охлажденную реакцию смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Сырой продукт очищали с помощью хроматографии: колонка, C18; подвижная фаза А: H₂O, В: ACN; градиент от 40% до 60% В за 20 мин; детектор: УФ 210 нм. Получили метил 6-((16-(13-(6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)-2,2-диметил-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатридекан-13-ил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (450 мг) в виде коричневого масла. МС (ЭР, m/z): 700 (M + Na⁺), 678 (M + H⁺).

Стадия 8. К раствору метил 6-((16-(13-(6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)-2,2-диметил-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатридекан-13-ил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколината (450 мг, 579 ммоль) в дихлорметане (2,5 мл) при 0 °С добавляли HCl/диоксан (2,5 мл, 4 М). Полученный раствор перемешивали в течение 20 мин при комнатной температуре. Реакцию гасили добавлением насыщенного Na₂CO₃ (водн.). Водный слой экстрагировали с помощью
30

DCM: IPA (5: 1) (30 мл X2). Объединенные органические слои сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта метил 6-(2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)-1-(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)этил)пиколината (330 мг). Неочищенный продукт использовали напрямую в следующей стадии.

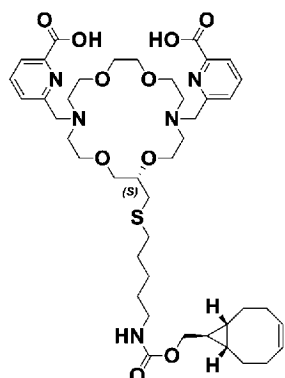
Стадия 9. Раствор метил 6-(2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)-1-(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)этил)пиколината (300 мг, 0,44 ммоль) и 1-(2-оксопиридин-1-карботиоил)пиридин-2-она (113,08 мг, 0,48 ммоль) в дихлорметане (3 мл) перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре в атмосфере азота. Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта метил 6-(2-(2-(2-изотиоцианатоэтокси)этокси)-1-(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)этил)пиколината (380 мг).

Неочищенный продукт использовали напрямую в следующей стадии.

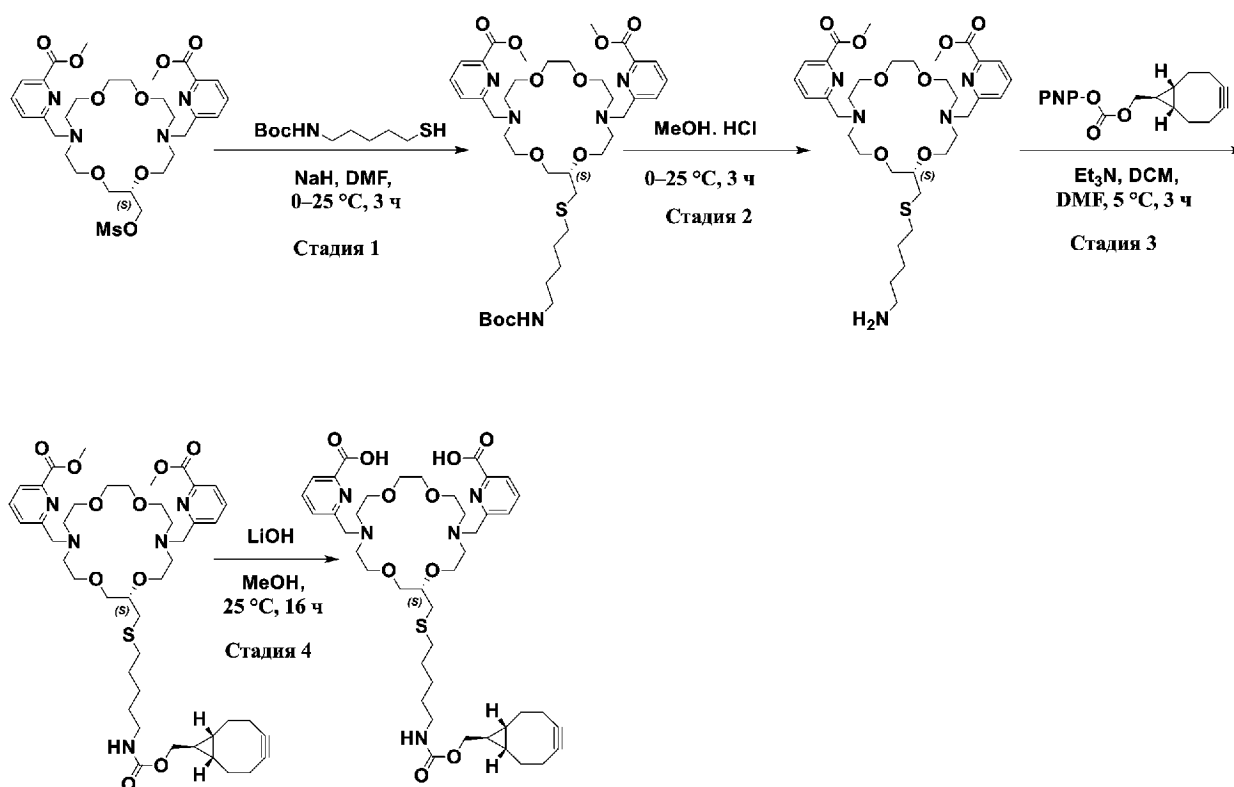
Стадия 10. Раствор метил 6-(2-(2-(2-изотиоцианатоэтокси)этокси)-1-(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)этил)пиколината (380 мг, 0,52 ммоль) и HCl (1,9 мл, 6 М) в дихлорметане (1,9 мл) перемешивали в течение 3 ч при 50 °С в атмосфере азота. Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении и подщелачивали до pH 6–7 насыщенным раствором NaHCO_3 (водн.). Остаток очищали посредством хроматографии: колонка, C18; подвижная фаза А: H_2O с 0,05% TFA, В: ACN, градиент от 20% до 36% В за 20 мин; детектор: УФ 210 нм. Затем фракции продукта концентрировали в вакууме для удаления MeCN. Раствор снова очищали хроматографией: колонка, C18; подвижная фаза А: H_2O , В: ACN, градиент от 95% В до 100% В в течение 20 мин. Раствор концентрировали для удаления большей части MeCN и водный раствор лиофилизировали с получением 6-((16-(1-(6-карбоксопиридин-2-ил)-2-(2-(2-изотиоцианатоэтокси)этокси)этил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновой кислоты (130 мг) в виде коричневого твердого вещества. ^1H ЯМР (300 МГц, D_2O) 8,03–7,84 (м, 2H), 7,57 (дд, $J = 22,3, 7,4$ Гц, 1H), 5,00 (с, 0H), 4,59 (с, 1H), 4,20 (дд, $J = 23,4, 9,5$ Гц, 1H), 3,82 (д, $J = 15,4$ Гц, 4H), 3,70–3,58 (м, 6H), 3,58–3,49 (м, 6H). MS (ЭР, m/z): 692,3 ($M + H^+$).

Пример 15

6,6'-(((*S*)-2-(((5-((((1*R*,8*S*,9*r*)-Бицикло[6,1,0]нон-4-ин-9-ил)метокси)карбонил)амино)пентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))дипиколиновая кислота



5 Схема 13



Стадия 1. Раствор, состоящий из *трет*-бутил (5-меркаптопентил)карбамата (0,30 г, 1,0 ммоль) и DMF (3,0 мл), добавляли по каплям в течение 5 минут в трехгорлую круглодонную колбу объемом 50 мл, содержащую суспензию гидрида натрия (0,07 г, 60% в минеральном масле, 2 ммоль) в DMF (3,0 мл) при 0 °С и в атмосфере азота. После завершения добавления реакционную смесь доводили до комнатной температуры и перемешивание продолжали 15 минут. Затем реакционную смесь повторно охлаждали до 0 °С и добавляли к ней по каплям в течение 10 минут раствор,

состоящий из диметил 6,6'-((2-(((метилсульфонил)окси)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (0,6 г, 0,9 ммоль) и DMF (3,0 мл). После завершения добавления реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и продолжали перемешивание в течение 1,5 ч. Затем реакционную смесь осторожно обрабатывали насыщ. водн. раствором NH₄Cl (1,0 мл) и концентрировали досуха с получением масла. Масло подвергали препаративной ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 19 X 150 мм, 5,0 мкм; подвижная фаза: 0,1% TFA в смеси вода/ацетонитрил; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением диметил 6,6'-((2-(((5-((трет-бутоксикарбонил)амино)пентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколината (0,25 г).

Стадия 2. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((2-(((5-((трет-бутоксикарбонил)амино)пентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (0,25 г, 0,32 ммоль), MeOH (1,0 мл) и HCl в метаноле (4 M, 1,5 мл, 6,3 ммоль) добавляли в круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °C, которую далее доводили до комнатной температуры и смесь перемешивали в течение 3 ч. Летучие вещества затем удаляли в вакууме с получением диметил 6,6'-((2-(((5-аминопентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (0,21 г), который использовали без очистки.

Стадия 3. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((2-(((5-аминопентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (0,15 г, 0,22 ммоль), ((1R,8S,9r)-бицикло[6,1,0]нон-4-ин-9-ил)метил 4-нитрофенилкарбонат (68 мг, 0,22 ммоль), триэтиламин (66 мг, 0,65 ммоль) и смесь DCM (2 мл) и DMF (0,1 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °C в атмосфере азота. Полученную смесь постепенно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Затем смесь концентрировали досуха с получением диметил 6,6'-(((S)-2-(((5-((((1R,8S,9r)-бицикло[6,1,0]нон-4-ин-9-ил)метокси)карбонил)амино)пентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))дипиколината (0,1 г), который использовали без очистки.

Стадия 4. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-(((S)-2-(((5-((((1R,8S,9r)-бицикло[6,1,0]нон-4-ин-9-ил)метокси)карбонил)амино)пентил)тио)метил)-1,4,10,13-

тетраокса-7,16-диазациклооктадекан -7,16-диил)бис(метилен))дипиколинат (0,10 г, 0,12 ммоль), водный LiOH (3,5 мл, 0,1 Н, 0,35 ммоль) и MeOH (0,5 мл) добавляли в реакционный флакон объемом 8 мл и полученную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Затем реакционную смесь обрабатывали уксусной кислотой до pH ~6,5 и затем концентрировали досуха в вакууме при комнатной температуре с получением масла, которое очищали посредством препаративной ВЭЖХ (колонок: XBRIDGE C18 19 X 150 мм, 5,0 мкм; подвижная фаза: 0,1% муравьиная кислота в смеси H₂O/ACN; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением 6,6'-(((S)-2-(((5-(((1*R*,8*S*,9*r*)-бицикло[6,1,0]нон-4-ин-9-ил)метокси)карбонил)амино)пентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дизаацциклооктадекан -7,16-диил)бис(метилен))дипиколиновой кислоты (42 мг).

Пример 16

N-Ацил-DBCO-меченная 6,6'-(((2-(((5-аминопентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дизаацциклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(*S*)-дипиколиновая кислота

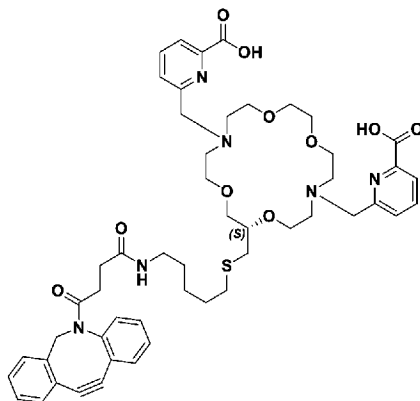
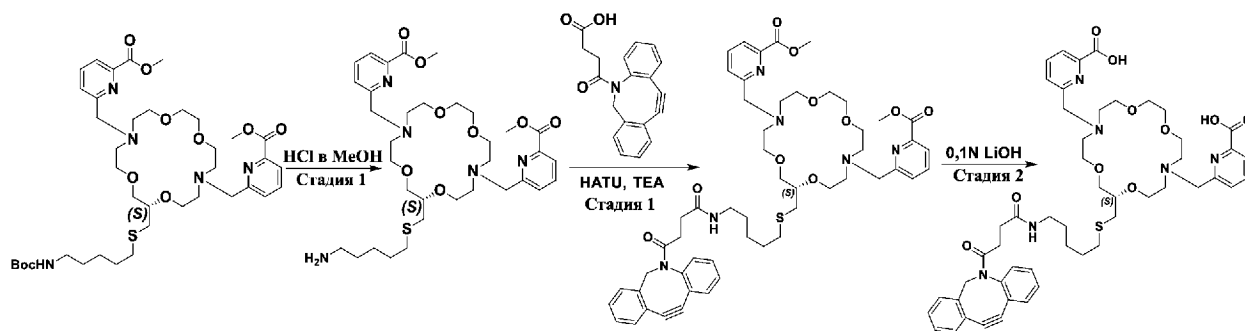


Схема 14



Стадия 1. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-(((2-(((5-((трет-бутоксикарбонил)амино)пентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дизаацциклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(*S*)-дипиколинат (0,12 г, 0,15 ммоль),

MeOH (0,5 мл) и HCl в метаноле (4 М, 0,75 мл, 3,0 ммоль) добавляли в круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °С, затем доводили до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Летучие вещества удаляли в вакууме с получением диметил

5 6,6'-((2-(((5-аминопентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-
диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколината (70 мг), который использовали без очистки.

Стадия 2. Якорь магнитной мешалки, диметил 6,6'-((2-(((5-аминопентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (50 мг, 0,070 ммоль), 11,12-дидегидро-γ-окодибенз[b,f]азоцин-5(6H)-бутановую кислоту (20 мг, 0,070 ммоль), триэтиламин (21 мг, 0,21 ммоль), NATU (38 мг, 0,10 ммоль) и DCM (0,5 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °С в атмосфере азота и затем доводили до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь обрабатывали водой (10 мл) и экстрагировали дихлорметаном (10 мл x3) и объединенные экстракты промывали 10% водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и соевым раствором (10 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением масла. Масло очищали хроматографией на силикагеле (0–10% MeOH/DCM) с получением *N*-ацил-DBCO-меченного диметил 6,6'-((2-(((5-аминопентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколината (16 мг).

20 **Стадия 3.** Якорь магнитной мешалки, *N*-ацил-DBCO-меченый диметил 6,6'-((2-(((5-аминопентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколинат (16 мг, 0,016 ммоль), водный LiOH (0,49 мл, 0,1 Н, 0,049 ммоль) и MeOH (0,25 мл) добавляли в реакционный флакон на 8 мл и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Затем реакционную смесь
25 обрабатывали уксусной кислотой до pH ~6,5 и концентрировали досуха в вакууме при комнатной температуре с получением концентрата, который очищали посредством препаративной ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 19 X 150 мм 5,0 мкм; подвижная фаза: 10 mM ацетата аммония в смеси вода/ACN; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением *N*-ацил-DBCO-меченной 6,6'-((2-(((5-аминопентил)тио)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-
30 диазациклооктадекан-7,16-диил)бис(метилен))(S)-дипиколиновой кислоты (5 мг) в виде твердого вещества почти белого цвета. ЖХ-МС АРСІ: рассчитано для C₅₁H₆₂N₆O₁₀S; 950,42; наблюдаемое *m/z* [M+H]⁺ 951,4. ¹H ЯМР (400 МГц, D₂O): δ 7,81–7,75 (м, 4H); 7,52–7,17 (м, 10H); 4,97–4,90 (м, 1H); 4,80 (с, 4H); 4,14 (с, 3H); 3,77–3,46 (м, 16H); 3,10

(с, 7H); 2,83–2,80 (м, 2H); 2,55–2,53 (м, 2H); 2,42–2,38 (м, 3H); 2,11–2,08 (м, 3H); 1,39–1,35 (м, 2H); 1,20–1,10 (м, 4H).

Пример 17

5 *N*-Ацил-DBCO-меченная 6-((4-((6-аминоэтил)карбамоил)фенил)16-((6-карбоксопиридин-2-ил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дизазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновая кислота (ТОРА-[C7]-бензимида-DBCO)

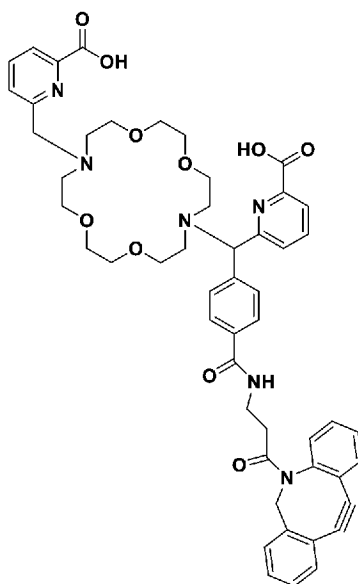
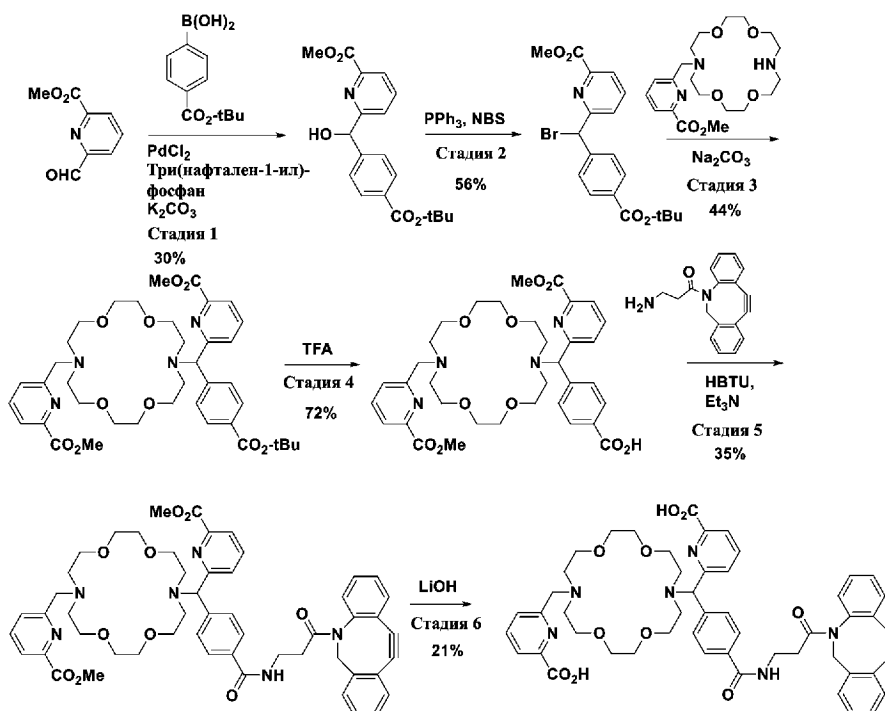


Схема 15



Стадия 1. К смеси метил-6-формилпиколината (4,00 г, 24,2 ммоль), (4-(трет-бутоксикарбонил)фенил)бороновой кислоты (10,7 г, 48,5 ммоль), PdCl₂ (0,21 г, 1,2 ммоль), три(нафтален-1-ил)фосфина (0,50 г, 1,2 ммоль) и карбоната калия (10,0 г, 72,7 ммоль) в атмосфере азота при -78 °С в трехгорлую круглодонную колбу объемом 500 мл добавляли тетрагидрофуран (100 мл) одной порцией. Смесь продували азотом и перемешивали при комн. темп. в течение 30 мин, затем нагревали при 65 °С в течение 24 ч. Реакционную смесь охлаждали до комн. темп., фильтровали через слой Celite® и фильтрат концентрировали досуха. Неочищенный продукт подвергали хроматографии на силикагеле (0–50% EtOAc/петролейный эфир) с получением метил-6-((4-(трет-бутоксикарбонил)фенил)(гидрокси)метил)пиколината в виде желтого масла (2,5 г, 30%).

Стадия 2. Якорь магнитной мешалки, метил 6-((4-(трет-бутоксикарбонил)фенил)(гидрокси)метил)пиколинат (2,50 г, 7,30 ммоль), PPh₃ (3,43 г, 13,1 ммоль), *N*-бромсукцинимид (2,13 г, 12,0 ммоль) и DCM (30 мл) помещали в трехгорлую круглодонную колбу объемом 250 мл в атмосфере азота при комнатной температуре и перемешивали в течение 1 ч. Реакционный раствор загружали на колонку с силикагелем и очищали с использованием 0–30% этилацетата в петролейном эфире с получением соединения метил 6-(бром(4-(трет-бутоксикарбонил)фенил)метил)пиколината (1,65 г, 56%) в виде желтого масла.

Стадия 3. Якорь магнитной мешалки, метил 6-((1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (1,52 г, 3,69 ммоль), 6-(бром(4-(трет-бутоксикарбонил)фенил)метил)пиколинат (1,50 г, 3,69 ммоль), Na₂CO₃ (1,17 г, 11,1 ммоль) и ацетонитрил (30 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 250 мл и полученную гетерогенную смесь нагревали при 90 °С в течение 16 ч в атмосфере азота. Затем реакционную массу охлаждали до комн. темп., фильтровали через слой Celite® и концентрировали досуха в вакууме с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт подвергали хроматографии на силикагеле (0–10% MeOH/DCM) с получением метил 6-((4-(трет-бутоксикарбонил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколината в виде коричневого масла (1,2 г, 44%).

Стадия 4. Якорь магнитной мешалки, метил 6-((4-(трет-бутоксикарбонил)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (1,2 г, 1,6 ммоль), TFA (0,62 мл, 8,1 ммоль)

и DCM (20 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 100 мл при комн. темп. и перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали досуха и полученный неочищенный продукт подвергали препаративной ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 (19 X 150 мм) 5,0 мкм; подвижная фаза: 0,1% TFA в смеси вода/ACN; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением 4-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)бензойной кислоты (0,8 г, 72%) в виде коричневого масла. **ЖХ-МС APCI:** рассчитанное для C₃₅H₄₄N₄O₁₀ 680,31; наблюдаемое *m/z* [M+H]⁺ 681,5. чистота по ЖХ-МС: 99,87%. **Чистота по ВЭЖХ:** 97,14% (97,01% при 210 нм, 97,20% при 254 нм и 97,21% при 280 нм; колонка: Atlantis dC18 (250 X 4,6 мм), 5 мкм; подвижная фаза А: 0,1% TFA в воде, подвижная фаза В: ацетонитрил; скорость потока: 1,0 мл/мин %. **¹H ЯМР** (400 МГц, DMSO-d₆): δ 8,12–8,07 (м, 4H), 8,00–7,98 (м, 2H), 7,75–7,73 (м, 4H), 6,10 (с, 1H), 4,67 (с, 2H), 3,96 (с, 3H), 3,91 (с, 3H), 3,82 (с, 8H), 3,56 (с, 8H), 3,52 (с, 8H).

Стадия 5. Якорь магнитной мешалки, 4-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)бензойную кислоту (0,25 г, 0,37 ммоль), DBCO (0,10 г, 0,37 ммоль), триэтиламин (0,16 мл, 1,1 ммоль), HBTU (0,21 г, 0,55 ммоль) и DCM (10 мл) добавляли в трехгорлую круглодонную колбу объемом 25 мл при 0 °С в атмосфере азота при комн. темп. и перемешивали в течение 16 ч. Реакционную смесь гасили водой (20 мл) и экстрагировали DCM (3 X 20 мл). Объединенные экстракты промывали 10% водным раствором NaHCO₃ (20 мл), соевым раствором (20 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением неочищенного продукта в виде масла. Неочищенный продукт подвергали хроматографии на силикагеле (0–10% MeOH/DCM) с получением ТОРА диметилэфир-[С7]-фенил-DBCО (0,12 г, 35%) в виде бесцветного клейкого масла.

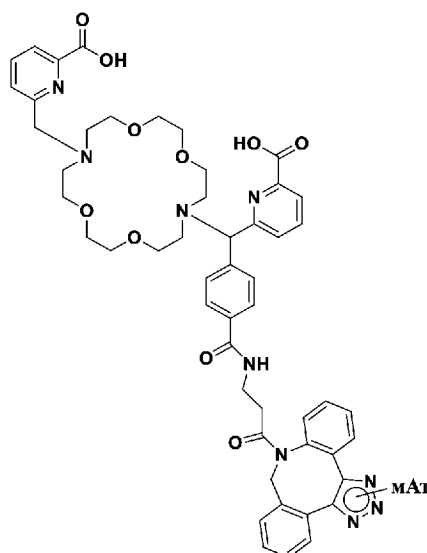
Стадия 6. Якорь магнитной мешалки, ТОРА-диметилэфир-[С7]-фенил-DBCО (0,1 г, 0,1 ммоль), водный раствор LiOH·H₂O (3 мл, 0,1 Н, 0,3 ммоль) и ТГФ/MeOH/H₂O (4 : 1 : 1 об./об./об., 2 мл) добавляли в реакционную пробирку объемом 8 мл при комн. темп. и оставляли перемешиваться в течение 2 ч. Реакционную смесь нейтрализовали водным раствором HCl (1 Н) до pH ~6,5. Реакционную смесь концентрировали досуха в вакууме при комнатной температуре и полученный неочищенный продукт подвергали препаративной ВЭЖХ (колонка: XBRIDGE C18 (19 X 150 мм) 5,0 мкм; подвижная

фаза: 10 мМ ацетата аммония в смеси вода/ACN; скорость потока: 15,0 мл/мин) с получением ТОРА-[С7]-фенил-ДВСО (20 мг, 21%) в виде твердого вещества почти белого цвета. **ЖХ-МС АРСІ**: рассчитанное для $C_{51}H_{54}N_6O_{10}$ 910,39; наблюдаемое m/z $[M-H]^+$ 909,3. чистота по ЖХ-МС: 92,47%; **чистота по ВЭЖХ**: 90,68% (88,04% при 210 нм, 90,43% при 254 нм и 93,56% при 280 нм; колонка: XBRIDGE C8 (50 X 4,6 мм), 3,5 мкм; подвижная фаза А: 10 мМ бикарбоната аммония в воде, подвижная фаза В: ацетонитрил; скорость потока: 1,0 мл/мин **1H ЯМР** (400 МГц, DMSO-d6): δ 7,84–7,82 (м, 4H), 7,60–7,29 (м, 12H), 7,13–7,10 (м, 2H), 5,12–5,02 (м, 2H), 3,97 (с, 2H), 3,59–3,44 (м, 20H), 2,85 (с, 4H), 2,73–2,68 (м, 6H).

10

Пример 18

Конъюгат антитела ТОРА-[С7]-бензиимида-ДВСО-триазол-PSMB-127



Стадия 1. Модификация азидом мАт и клик-реакция. PSMB127 сайт-селективно модифицировали с помощью 100х молярного избытка 3-азидопропиламина и микробной трансглутаминазой (MTG; Activa TI) при 37 °С. Добавление двух азидов к тяжелым цепям мАт отслеживали с помощью ESI-TOF ЖХ-МС интактного вещества на приборе Agilent G224. Избыток 3-азидо пропиламина и MTG удаляли и очищали азидомодифицированное мАт (азидо-мАт) с использованием 1 мл колонки GE Healthcare MabSelect. Азидо-мАт элюируют из смолы с использованием 100 мМ цитрата натрия, рН 3,0, а впоследствии заменяют на 20 мМ Hepes, 100 мМ NaCl, рН 7,5, с использованием колонок для обессоливания 7K Zeba ®. 10х молярный избыток ТОРА-

[C7]-фенил-DBCO вводили в реакцию с сайт-специфичным азидо-PSMB127 (DOL = 2) при 37 °С в течение 1 часа без встряхивания. Завершение клик-реакции DBCO-азида отслеживали с помощью масс-спектрометрии интактного вещества. Избыток свободного хелатора удаляли путем обессоливания конъюгата на колонке для обессоливания Zeba ®7K в 20 мМ Hepes, 100 мМ NaCl, pH 7,5, с последующими тремя последовательными стадиями разведения 15х и концентрирования в 20 мМ Hepes, 100 мМ NaCl, pH 7,5 с использованием концентрирующего устройства 30K MWCO Amicon путем центрифугирования при 3800 ×g. Это обеспечивало получение конечного сайт-специфического конъюгата TOPA-[C7]-фенил-DBCO-PSMB127 с CAR = 2. При помощи аналитической эксклюзионной хроматографии на колонке Tosoh TSKgel G3000SWx1 7,8 мм × 30 см, размер пор 5 мкм, было подтверждено, что конечный конъюгат является мономерным; температура колонки: комнатная температура; колонку элюировали буфером DPBS (1х, без кальция и магния); скорость потока: 0,7 мл/мин; время анализа — 18 мин; объем введенной пробы: 18 мкл.

15 **Стадия 2. Хелатирование.** Получали маточные растворы следующих солей металлов в чистой воде:

Соль	№ по каталогу	Концентрация
Хлорид церия (III)	Sigma кат. № 429406	10 мМ
Гексагидрат хлорида неодима (III)	Sigma кат. № 289183	10 мМ
Хлорид тербия (III)	Sigma кат. № 451304	10 мМ
Хлорид лютеция (III)	Sigma кат. № 450960	10 мМ
Хлорид тулия (III)	Sigma кат. № 451304	10 мМ
Хлорид иттрия (III)	Sigma кат. № 451363	10 мМ
Хлорид гольмия (III)	Sigma кат. № 450901	10 мМ

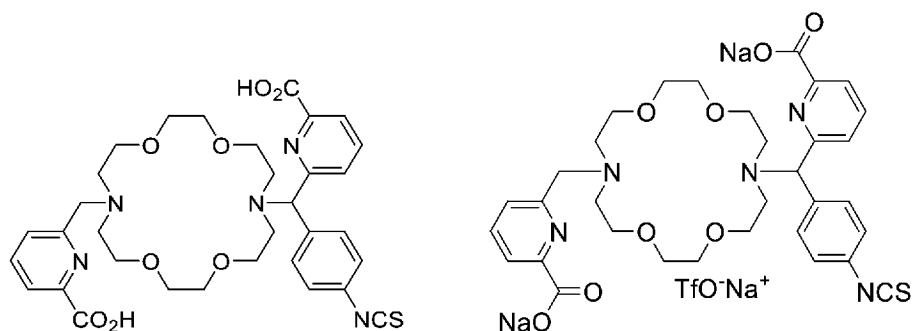
Растворы металлов добавляли в TOPA-[C7]-фенил-DBCO-PSMB127 в 5-кратном молярном избытке (6,8 мкМ антитела, 34 мкМ иона металла) в 10 мМ натрий-ацетатном буфере, pH 5,2, и инкубировали в течение 2 часов при 37 °С. Избыток металла удаляли путем обессоливания с помощью колонки Zeba® (ThermoFisher®) с последующим двумя циклами разбавления 10х и концентрирования в концентраторе 50К MWCO Amicon (EMD Millipore®). Хелатирование оценивали с помощью ЖХ-МС с интактной и восстановленной массой.

Стадия 3. Определение стабильности. Для определения стабильности хелата выполняли провокационное введение ДТРА. 50 мкл образца (6,3 мкМ антитела) объединяли с 50 мкл 10 мМ ДТРА, pH 6,5, и инкубировали при 37 С в течение ночи. Хелатирование оценивали с помощью ЖХ-МС с интактной и восстановленной массой. ЖХ-МС проводили на системе ВЭЖХ Agilent 1260, соединенной с масс-спектрометром Agilent G6224 MS-TOF. ЖХ проводили на колонке Agilent RP-mAb C4 (2,1 x50 мм, 3,5 мкм) при скорости потока 1 мл/мин с подвижной фазой 0,1% муравьиной кислоты в воде (А) и 0,1% муравьиной кислоты в ацетонитриле (Sigma-Aldrich кат. № 34688) (В) и градиентом 20% В (0–2 мин), 20–60% В (2–3 мин), 60–80% В (3–5,5 мин). Прибор работал в положительном режиме электрораспылительной ионизации и сканировал диапазон m/z от 600 до 6000. Спектр значений масса/заряд подвергали деконволюции с использованием алгоритма максимальной энтропии и относительные количества соответствующих веществ оценивали по высоте массовых пиков после деконволюции. Настройки прибора включали: напряжение на капиллярах 3500 В; фрагментатор 175 В; скиммер 65 В; температура газа 325 С; поток высушивающего газа 5,0 л/мин; давление небулайзера 30 фунт/кв. дюйм изб.; диапазон режима накопления 100–7000 с частотой сканирования 0,42.

Изменения MW относительно TOPA-[C7]-фенил-DBCO-PSMB127 наблюдали для образцов церия и неодима. Интактная масса конъюгата, инкубированного с церием, показала увеличение MW 139 (20% по площади пика) или 276 (77%) Да, что соответствует добавлению 1 или 2 ионов церия. После провокационного введения ДТРА массы оставались сходными с аналогичным содержанием (30 и 67% для форм +138 и +274).

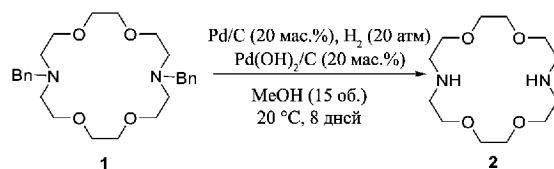
Пример 19

6-((16-((6-Карбоксипиридин-2-ил)(4-изотиоцианатофенил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-дизациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновая кислота (H2bp18с6-бензил-фенил)(ТОРА-[C7]-фенилизотиоцианат и натриевые солевые формы



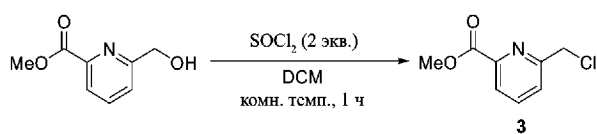
5

Соединение **2** получали аналогично существующим способам, описанным в литературе, см. J. Org. Chem; 1987, 52, 5172.

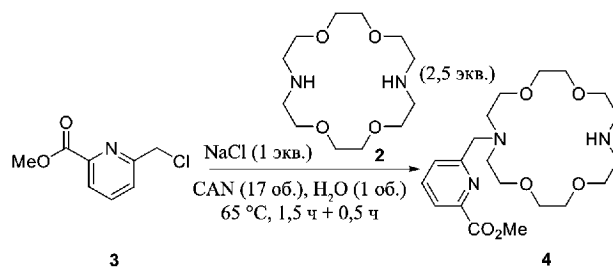


10

Соединение **3** получали аналогично существующим способам, описанным в литературе, см. Chemistry – a European Journal; 2015, 21, 10179.



Получение соединения **4**



15

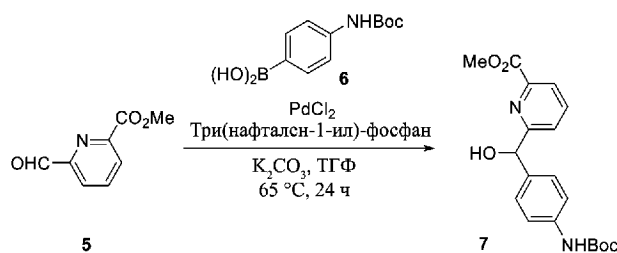
1,4,10,13-Тетраокса-7,16-дизациклооктадекан (494 г, 1,88 моль, 2,5 экв.), NaCl (44,1 г, 0,75 моль, 1,0 экв.), H₂O (140 мл, 1 объем относительно соединения **3**) и ацетонитрил

(2,1 л, 15 объемов) загружали в реактор объемом 10 л в атмосфере N₂ при 15–20 °С и нагревали до 65 °С. К полученной смеси добавляли раствор соединения **3** (140 г, 0,75 моль) в ацетонитриле (280 мл, 2 объема) по каплям в течение 1 часа при 65 °С. Раствор выдерживали при 65 °С в течение 0,5 часа. ЖХМС-анализ смеси показал завершение

5 реакции. Смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали в вакууме. К смеси добавляли ацетон (700 мл, 5 объемов) и перемешивали суспензию в течение еще 1 часа. Смесь фильтровали (отфильтрованное твердое вещество было непрореагировавшим соединением **2**). Фильтрат концентрировали в вакууме, затем растворяли в DCM (1,4 л, 10 объемов). Органическую фазу промывали водой (3 x

10 750 мл) и органическую фазу сушили над Na₂SO₄, затем концентрировали под вакуумом с получением соединения **4**, 212 г (выход 63%, анализ: 85 мас.%). ЖХМС: (ЭР, m/z): 412,15 [M+H]⁺ ¹H-ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*₆, м.д.): δ 7,98–7,87 (м, 2H), 7,81 (дд, *J* = 6,4, 2,6 Гц, 1H), 3,87 (с, 3H), 3,81 (с, 2H), 3,61–3,38 (м, 16H), 2,77 (дт, *J* = 19,0, 5,2 Гц, 8H).

15 Получение соединения **7**



Метил 6-формилпиколинат **5** (250 г, 1,0 экв.), (4-((трет-бутоксикарбонил)амино)фенил)бороновую кислоту **6** (538 г, 1,5 экв.) и дегазированный ТГФ (6,5 л, 26 объемов по отношению к **5**) загружали в реактор объемом 10 л в

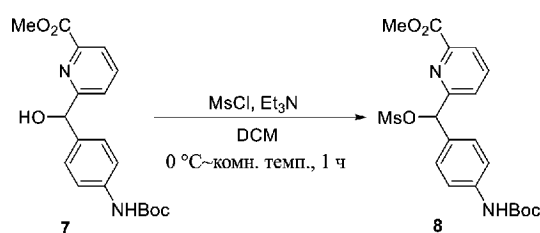
20 атмосфере N₂ при 15–20 °С. После этого добавляли PdCl₂ (14,0 г, 0,05 экв.), три(нафтален-1-ил)-фосфан (31 г, 0,05 экв.) и K₂CO₃ (650 г, 3,1 экв.). Полученный в результате раствор перемешивали при 20 °С в течение 0,5 часа. Смесь затем нагревали до 65 °С и выдерживали в течение 17 часов. Анализ методом ЖХМС показал, что эта реакция завершилась. Полученный раствор охлаждали при комнатной температуре и

25 разбавляли ледяной водой (2,5 л, 10 объемов) и этилацетатом (5 л, 20 объемов). Смесь перемешивали, а затем фильтровали через целит. Раствор оставляли для разделения и нижний водный слой отбрасывали. Органическую фазу промывали водой (2 x 1,5 л, 12 объемов). Слои разделяли, а органический слой сушили над Na₂SO₄, затем концентрировали в вакууме. Полученный остаток обрабатывали гептаном (1,25 л, 5

объемов) и полученную суспензию перемешивали в течение 0,5 часа. Смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали н-гептаном (500 мл, 2 объема) с получением 530 г (выход 98%, чистота по проценту площади пика жидкостной хроматографии (LCAP): 90%) желаемого продукта **7** в виде желтого твердого вещества, которое использовали напрямую на следующей стадии без дополнительной очистки.

ЖХМС: (ЭР, m/z): 381,10 [M+Na]⁺ ¹H-ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆, м.д.): δ 9,27 (с, 1H), 8,03–7,85 (м, 2H), 7,79 (дд, J = 7,7, 1,4 Гц, 1H), 7,39 (д, J = 8,4 Гц, 2H), 7,26 (д, J = 8,4 Гц, 2H), 6,13 (д, J = 4,0 Гц, 1H), 5,72 (д, J = 3,9 Гц, 1H), 3,87 (с, 3H), 1,46 (с, 9H).

Получение соединения **8**



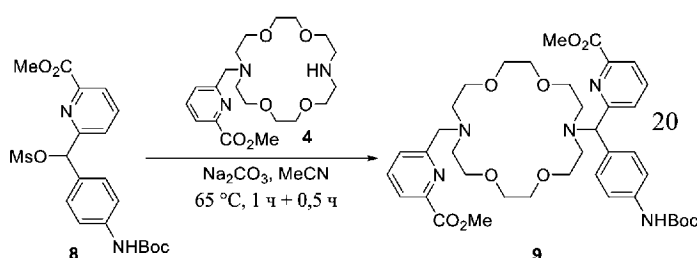
10

15

20

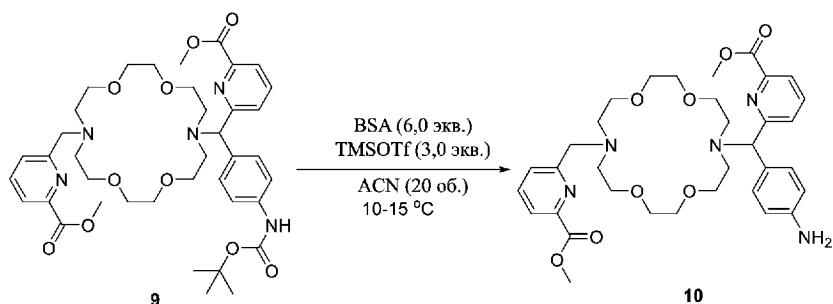
Метил 6-((4-((трет-бутоксикарбонил)амино)фенил)(гидрокси)метил)пиколинат **7** (310 г, 1,0 экв.), триэтиламин (219 г, 2,5 экв.) и DCM (6,2 л, 20 объемов относительно соединения **7**) загружали в реактор объемом 10 л в атмосфере азота при 15–20 °С и раствор охлаждали до 0 °С. По каплям добавляли метансульфонилхлорид (99,2 г, 1,0 экв.) в течение 30 мин при температуре 0 °С. Охлаждающую баню удаляли и температуру позволяли достичь температуры окружающей среды и затем выдерживали в течение 1 часа при этой температуре. Раствор концентрировали в вакууме при 10–15 °С и остаток затем растворяли в ацетонитриле (438 мл, 2 объема). Полученный раствор концентрировали в вакууме с получением 518 г (неочищенный) желаемого продукта **8**. Этот неочищенный продукт напрямую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Получение соединения **9**



Метил 6-((4-((трет-бутоксикарбонил)амино)фенил)-
 ((метилсульфонил)окси)метил)пиколинат **8** (212 г, 1,0 экв. чистота 85% по Q-ЯМР),
 Na₂CO₃ (137,6 г, 3,0 экв.) и ацетонитрил (3,56 л, 20 объемов по отношению к
 соединению **8**) загружали в реактор объемом 10 л в атмосфере азота при комнатной
 5 температуре, затем смесь нагревали до 65° С и выдерживали в течение 1 часа. По
 каплям добавляли раствор метил 6-((1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-
 ил)метил)пиколината **4** (377,8 г, 2,0 экв.) в ацетонитриле (3 л, 10 объемов) в течение 0,5
 часа при 65 °С Смесь выдерживали при этой температуре до тех пор, пока анализ
 10 ВЭЖХ не показал завершения реакции. Полученный раствор охлаждали при комнатной
 температуре, затем фильтровали и осадок на фильтре промывали MeOH (2 x 1 объем).
 Фильтрат концентрировали в вакууме и полученный остаток растворяли в ЕА (700 мл),
 затем добавляли силикагель (800 г, тип: ZCX-2, 100–200 меш, 2,11 масс./масс.). Смесь
 концентрировали в вакууме, сохраняя температуру ниже 35 °С. Силикагель (9,6 кг, тип:
 15 ZCX-2, 100–200 меш, 26,3 масс./масс.) загружали в колонку, а затем загружали
 подготовленный сухой силикагель, содержащий адсорбированное неочищенное
 соединение **9**. Колонку элюировали смесью этилацетат : петролейный эфир :
 дихлорметан (3 : 3 : 1) / метанол : дихлорметан (1 : 1) (градиент от 100 : 0 до 90 : 10 с
 отбором проб каждые 4 л ± 0,5 л). Фракции анализировали с помощью ТСХ (этилацетат
 20 : петролейный эфир : дихлорметан : метанол = 4 : 4 : 1 : 1). Содержащие продукт
 фракции объединяли и концентрировали с получением 260 г соединения **9** в виде
 желтого твердого вещества (ВЭЖХ: 94%, кЯМР: 92%). Дополнительные 70 г
 соединения **9** получали в виде желтого масла (ВЭЖХ: 75%, кЯМР: 60%). ЖХМС (ЭР,
 m/z): 752,30 [M+H]⁺ наблюдаемое m/z ¹H-ЯМР (400 МГц, CDCl₃, м.д.): δ 7,53–7,32 (м,
 25 3H), 7,28–7,18 (м, 3H), 6,86 (д, J = 8,4 Гц, 2H), 6,76 (д, J = 8,4 Гц, 2H), 6,09 (с, 1H), 4,63
 (с, 1H), 3,48 (с, 3H), 3,44 (уш.с., 5H), 3,17–2,92 (м, 16H), 2,38 (дк, J = 25,0, 7,2, 6,8 Гц,
 8H), 0,97 (с, 9H).

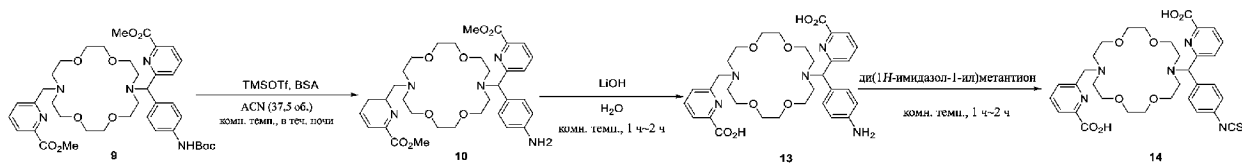
Получение соединения 10



Соединение **9** (260 г, кЯМР: 92%, 1,0 экв.), N,O-бис(триметилсилил)ацетамид (BSA, 6,0 экв.) и ацетонитрил (4 л, 15 объемов) загружали в реактор объемом 10 л в атмосфере азота при 15–20 °С. Смесь перемешивали в течение 40 мин при 20 °С. Раствор TMSOTf (212,9 г, 3,0 экв.) в ацетонитриле (1,3 л, 5 объемов) вводили по каплям в течение 0,5 часа при поддержании внутренней температуры в диапазоне 15–20 °С. Раствор выдерживали в течение 1 ч при 15–20 °С. Когда технологический анализ (система подготовки образцов 0,1 мл + 0,9 мл ACN + одна капля диизопропилэтиламина) показал полное превращение исходного материала, смесь гасили диизопроилэтиламино

диизопроилэтиламино (617 г, 15,0 экв.), поддерживая температуру в диапазоне 5–10 °С. Смесь перемешивали в течение 20 минут при 5–10 °С, затем загружали насыщенный водный раствор NH₄Cl (2,6 л, 10 объемов), поддерживая температуру в диапазоне 5–10 °С. Смесь выдерживали при этой температуре в течение дополнительных 30 минут. Водную фазу (содержание твердых веществ) собирали и экстрагировали 2-МеТГФ (520 мл, 2 объема). Органические фазы объединяли и проверяли на содержание воды с помощью KF (KF: 9,18%), затем сушили над безводным Na₂SO₄ (500 г, 10,0 экв.). Твердые вещества удаляли фильтрованием и осадок на фильтре промывали ацетонитрилом (2 x 520 мл, 2 объема). Фильтраты затем сушили безводным Na₂SO₄ (500 г, 10,0 экв.). После фильтрации осадок на фильтре промывали ацетонитрилом (2 x 520 мл, 2 объема) и проверяли содержание воды с помощью KF (KF: 8,15%). Поток соединения **10** в ацетонитриле/2-МеТГФ использовали напрямую на следующей стадии. (Продукт не был стабильным для условий ЖХМС).

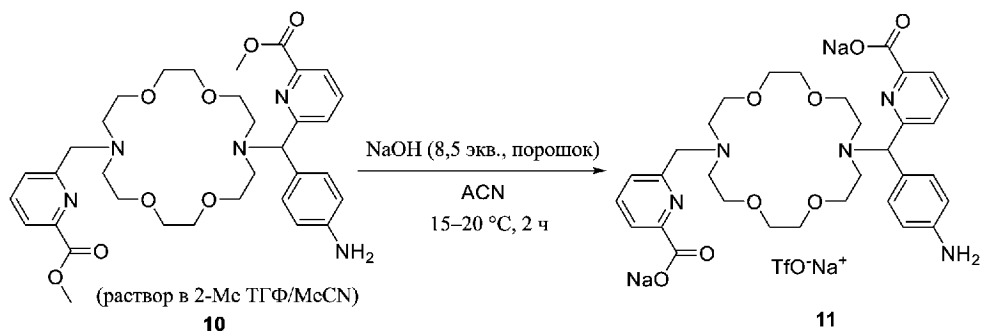
Получение соединения 14 (свободной кислоты)



Метил 6-((4-((трет-бутоксикарбонил)амино)фенил)(16-((6-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколинат (6,0 г, 1,0 экв.) и BSA (9,7 г, 6,0 экв.) и MeCN (120 мл, 20 объемов по отношению к соединению 9) загружали в реактор объемом 500 мл в атмосфере азота при комнатной температуре. Раствор TMSOTf (5,4 г, 2,3 экв.) в MeCN (120 мл, 20 объемов) добавляли по каплям в течение 30 мин при комнатной температуре. Смесь выдерживали в течение 5 5 ночи при комнатной температуре. Анализ смеси (система подготовки образца 0,1 мл + 0,9 мл ACN + одна капля диизопропилэтиламина) показал, что реакция завершилась. Смесь гасили диизопроилэтиламино (15,4 г, 15,0 экв.), поддерживая температуру в 10 диапазоне 0–5 °C Смесь перемешивали в течение 5 минут при 0–5 °C, затем вводили по каплям насыщенный водный раствор NH₄Cl (60 мл, 10 объемов), поддерживая температуру в диапазоне 0–5 °C. Водную фазу удаляли экстракцией и органические фазы собирали и использовали напрямую на следующей стадии. Органическую фазу помещали в трехгорлую круглодонную колбу объемом 500 мл и к раствору добавили 15 раствор LiOH (1,15 г, 6,0 экв.) в воде (60 мл, 10 об.) при комнатной температуре. Раствор перемешивали в течение 1 часа при этой температуре. Анализ смеси (система подготовки образца 0,1 мл + 0,9 мл ацетонитрила) не показал полного превращения. Добавляли еще одну часть LiOH (576 мг, 3,0 экв.) и раствор перемешивали в течение еще 1 часа при комнатной температуре. Анализ смеси (система подготовки образца 20 0,1 мл + 0,9 мл ацетонитрила) показал завершение реакции. Далее добавили TCDI (5,6 г, 3,9 экв.) и раствор перемешивали в течение 1 часа при комнатной температуре. Анализ смеси (система подготовки образца 0,1 мл + 0,9 мл ацетонитрила) не показал полного превращения. Добавляли еще одну часть TCDI (2,8 г, 2,0 экв.) и раствор перемешивали в течение еще 1 часа при комнатной температуре. Анализ смеси 25 (система подготовки образца 0,1 мл + 0,9 мл ацетонитрила) показал завершение реакции. Реакционный раствор разделяли с помощью обращенно-фазной хроматографии Combi-Flash: способ: колонка C18, раствор А: H₂O (содержащая 0,01% муравьиной кислоты), раствор В: ACN; от 5% до 35% в течение 40 мин, поток (100 мл/мин), элюирование продукта на 20–25 мин. Раствор собирали. Раствор 30 концентрировали для удаления ACN и снова разделяли с помощью обращенно-фазной хроматографии Combi-Flash: способ: колонка C18, раствор А H₂O, раствор В ACN; 5% 10 мин, от 5% до 35% в течение 5 мин, 95% 10 мин, поток (100 мл/мин), элюирование продукта на 13–25 мин. Раствор собирали. Раствор концентрировали в вакууме при < 20 °C и сушили лиофилизацией. В результате получали 2,5 г (выход за 3 стадии 47%)

соединения **14** в виде желтого твердого вещества. Соединение **14** (6-((16-((6-карбоксопиридин-2-ил)(4-изотиоцианатофенил)метил)-1,4,10,13-тетраокса-7,16-диазациклооктадекан-7-ил)метил)пиколиновая кислота) требовала хранения при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. ЖХМС: (ЭС, m/z): 666,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ^1H -ЯМР: (400 МГц, D_2O , $m.d.$): 7,94–7,84 (м, 4H), 7,56–7,40 (м, 4H), 7,16–7,14 (м, 2H), 5,83 (с, 1H), 4,56 (с, 2H), 3,80–3,75 (м, 8H), 3,60–3,49 (м, 14H), 3,36–3,33 (м, 2H).

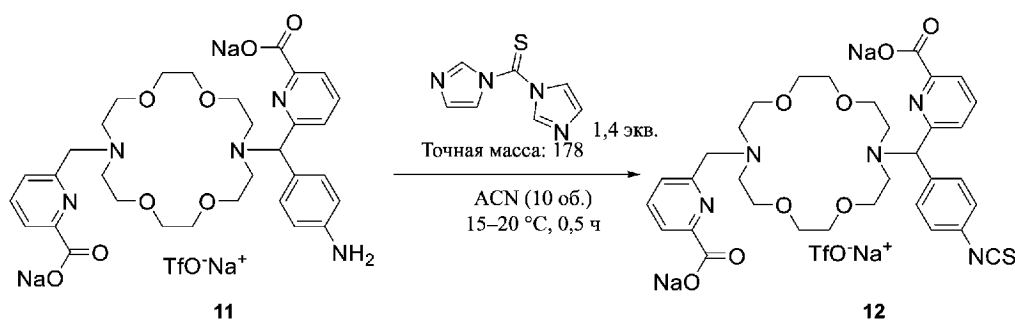
Получение соединения **11** (натриевая соль)



Полученный раствор соединения **10** в ACN и 2-МеТГФ помещали в 4-горлую реакционную колбу объемом 10 л и раствор охлаждали до $5\text{--}10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Добавляли порошок NaOH (56,9 г, 4,5 экв.), поддерживая температуру в диапазоне $5\text{--}10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Раствор перемешивали в течение 0,5 ч при $15\text{--}20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Анализ смеси (система подготовки образца 0,1 мл + 0,9 мл ацетонитрила) не показал превращения. Добавили дополнительный порошкообразный NaOH (25,3 г, 2,0 экв.) при $5\text{--}10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Полученный раствор выдерживали в течение дополнительных 0,5 ч при $15\text{--}20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Второй технологический контроль (IPC) был проанализирован и показал 50% превращение. Последнюю порцию порошкообразного NaOH (25,3 г, 2,0 экв.) добавили при $5\text{--}10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Смесь перемешивали в течение еще 0,5 ч при $15\text{--}20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Анализ показал полное превращение исходного материала **10**. Смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали ацетонитрилом (2 x 520 мл, 2 объема). Конечный раствор ($\sim 7,5$ л, 28,8 объемов) концентрировали до 1–2 объемов, поддерживая температуру в диапазоне $15\text{--}20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Затем остаток обрабатывали ацетонитрилом (2 л, 7,7 объемов), а содержание воды проверяли с помощью KF (KF: 5,7%). Смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали ACN (2 x 520 мл, 2 объема). Затем раствор концентрировали до 1–2 объема под вакуумом при $15\text{--}20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Содержание воды снова проверяли с помощью KF (KF: 5,5%). Раствор разбавляли ацетонитрилом (390 мл, 1,5 объема) и добавляли по каплям в течение 0,5 часа в МТВЕ (2,6 л, 10 объемов), поддерживая температуру в диапазоне $15\text{--}20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Растворители декантировали, оставляя вязкое масло, которое повторно растворяли в ацетонитриле

(520 мл, 2 объема) и добавляли в МТВЕ (2,6л, 10 объемов). Этот процесс повторяли еще четыре раза. В итоге получили вязкое масло, которое в конечном итоге растворяли в ацетонитриле (520 мл, 2 объема) и сушили, затем концентрировали при 15–20 °С при пониженном давлении. Затем остаточные растворители удаляли путем выпаривания масляным насосом при 15–20 °С. После сушки 335 г соединения **11** получали в виде твердого вещества почти желтого цвета (кЯМР: 70%, общий выход 87% за две стадии). ЖХМС (ЭР, m/z): 624,3 [M-TfONa-2Na+3H]⁺ ¹H-ЯМР (300 МГц, метанол-d₄, м.д.): δ 7,97 (дд, J = 7,8, 2,1 Гц, 2H), 7,84 (т, J = 7,7 Гц, 1H), 7,75 (т, J = 7,8 Гц, 1H), 7,36 (дд, J = 7,8, 1,1 Гц, 1H), 7,23 (д, J = 7,7 Гц, 1H), 7,11 (д, J = 8,5 Гц, 2H), 6,72 (д, J = 8,5 Гц, 2H), 3,96 (с, 1H), 3,83–3,36 (м, 18H), 3,03–2,62 (м, 6H), 2,55 (д, J = 14,3 Гц, 2H).

Получение соли соединения **12** (ТОРА-[C7]-фенилизотиоцианат натрия соль)



TCDI (68,7 г, 1,4 экв.) и ацетонитрил (2,6 л, 8 объемов) загружали в реактор объемом 10 л в атмосфере азота при 15–20 °С. Раствор соединения **11** (330 г, соль Na⁺, кЯМР: 70%, 1,0 экв.) в ацетонитриле (660 мл, 2 объема) добавляли по каплям в течение 30 мин, поддерживая температуру в диапазоне 15–20 °С. Смесь выдерживали в течение 0,5 часа при 15–20 °С. Анализ смеси (система приготовления образца 30 мкл + 300 мкл ACN + капля воды) показал, что реакция завершилась. Содержание воды проверяли с помощью KF (KF: 0,19%). Систему сушили и концентрировали при 15–20 °С при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в ацетонитриле (945 мл, 2,9 объема) и измеряли содержание воды с помощью KF (KF: 0,34%). В раствор вводили изопропилацетат (660 мл, 2 объема) в течение 40 минут при 15–20 °С. Образования активных центров кристаллизации не наблюдали и медленно вводили по каплям дополнительное количество изопропилацетата (6,6 л, 18 объемов) в течение 40 мин при 15–20 °С, что привело к осаждению продукта **12**, который собирали путем фильтрации в виде твердого вещества почти желтого цвета. Твердое вещество растворяли в ацетонитриле (330 мл, 1 объем) и медленно вводили по каплям IPAс (6,6 л, 20 объемов)

в течение 40 мин при 15–20 °С Смесь фильтровали с получением 230 г продукта в виде твердого вещества почти желтого цвета (LCAP: 80,99%, кЯМР: 59%, 10% IPAc).

Влажный осадок сушили в вакууме в течение 2 часов при 15–20 °С с получением 224 г неочищенного соединения **12** в виде твердого вещества почти желтого цвета (LCAP:

5 80,9%, кЯМР: 60,4%, ~6% IPAc). Неочищенное соединение **12** повторно растворяли в ацетонитриле (330 мл, 1 объем) и медленно вводили по каплям изопропилацетат (412 мл, 1,25 объема) в течение 40 минут при 15–20 °С. Полученную смесь фильтровали и собирали соединение **12** (30,5 г, ВЭЖХ = 60,9%, анализ: 25,5%).

10 Маточные растворы разбавляли изопропилацетатом (6,6 л, 20 объемов), добавленными в течение 40 минут при 15–20 °С. Смесь фильтровали и осадок сушили с получением 173,5 г неочищенного продукта **12** в виде твердого вещества почти желтого цвета (LCAP: 85,4%, кЯМР: 66%, 3,9% IPAc, RRT1.19 = 3,9%). 190 г неочищенного соединения **12** растворяли в 760 мл ацетонитрил : изопропилацетат (2 : 1) и смесь пропускали через колонку с силикагелем (380 г, 2 х). Силикагель промывали

15 ацетонитрилом : изопропилацетатом (2 : 1, 5,7 л) и затем 12 л ацетонитрила (очень мало продукта). Фракцию, содержащую продукт, концентрировали с получением 118 г продукта **12** в виде твердого вещества почти желтого цвета (LCAP: 95%). Затем слой силикагеля промывали MeCN/H₂O (12 л, 10 : 1). Растворители удаляли в вакууме с получением еще 60 г неочищенного соединения **12** в виде твердого вещества почти

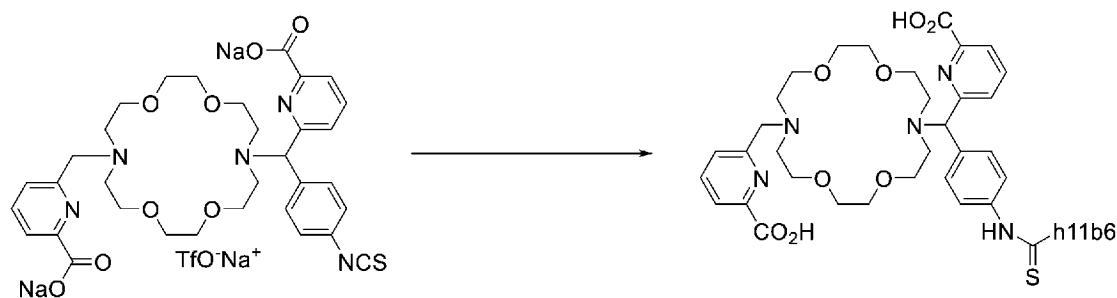
20 желтого цвета, которое растворяли в ацетонитриле (1,5 л), перемешивали в течение 30 мин, затем фильтровали. Затем маточный раствор концентрировали с получением 24 г неочищенного соединения **12** в виде твердого вещества почти желтого цвета (LCAP = 92%). Неочищенное соединение **12** (118 г) и неочищенное соединение **12**

25 (24 г), полученные, как описано выше, растворяли в ацетонитриле (330 мл, 1 объем) и добавляли изопропилацетат (6,6 л, 20 объемов) по каплям в течение 40 мин при 15–20 °С. Затем смесь фильтровали с получением 133 г соединения **12** в виде твердого вещества почти желтого цвета подходящей чистоты (LCAP: 95%, кЯМР: 60,8%, 7,8% IPAc). Следует отметить, что соединение **12** требовало хранения при -20 °С. ЖХМС:

30 (ЭР, m/z): 666,61 [M-TfONa-2Na+3H]⁺ ¹H-ЯМР: (400 МГц, метанол-d₄, м.д.): δ 8,00 (дд, J = 13,8, 7,7, 1,0 Гц, 2H), 7,84 (дт, J = 20,4, 7,7 Гц, 2H), 7,58–7,49 (м, 2H), 7,40 (дд, J = 7,6, 1,0 Гц, 1H), 7,36–7,28 (м, 2H), 7,28–7,20 (м, 1H), 4,96 (гепт, J = 6,3 Гц, 1H), 3,96–3,88 (м, 1H), 3,83 (д, J = 15,1 Гц, 1H), 3,70–3,52 (м, 11H), 3,55–3,39 (м, 4H), 3,07–2,73 (м, 6H), 2,62 (дт, J = 15,1, 3,6 Гц, 2H).

Пример 20

Антителный конъюгат ТОРА-[С7]-фенилтиомочевины-h11b6



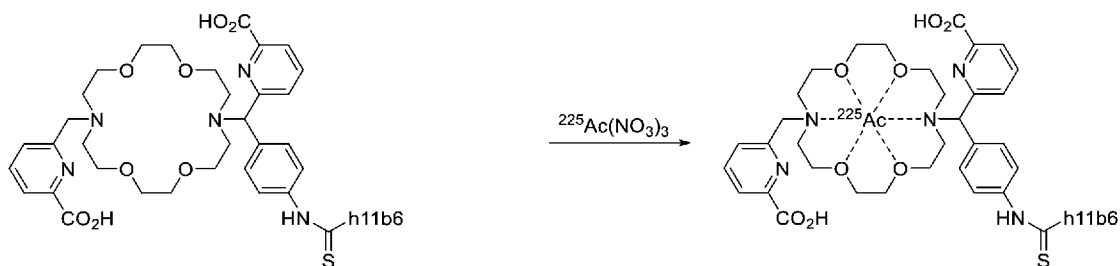
(В указанном выше антителном конъюгате ТОРА-[С7]-фенилтиомочевины-h11b6 структура не показывает остаток лизина h11b6, который связан с функциональной группой фенилтиомочевины.)

Модификация МАТ с помощью ТОРА-[С7]-фенилтиомочевины

МАТ *h11b6* (10,2 мг/мл) разбавляли до 1 мг/мл с помощью 10 мМ натрий-ацетатного буфера, рН 5,2. Непосредственно перед конъюгированием рН доводили до 9 с помощью бикарбонат-натриевого буфера (VWR 144-55-8). рН подтверждали с помощью рН-бумаги. Затем к 10-кратному молярному избытку динатриевой соли ТОРА-[С7]-фенилизотиоцианата натриевой соли (50 мМ маточный раствор, разведенный в воде) добавляли МАТ *h11b6* и смесь антитела и натриевой соли ТОРА-[С7]-фенилизотиоцианата инкубировали при комнатной температуре без встряхивания в течение приблизительно 1 часа. Добавление натриевой соли ТОРА-[С7]-фенилизотиоцианата контролировали с помощью интактной масс-спектрометрии ESI-TOF ЖХ-МС на приборе Agilent® G224 до тех пор, пока значение CAR не составило 1,5–2,0. Затем смесь немедленно гасили добавлением 1М Tris рН 8,5 (Teknova T1085) до конечной концентрации 100 мМ. Избыток свободного хелатора удаляли путем реакции обессоливания в 10 мМ ацетате натрия, рН 5,2, с использованием обессоливающей колонки 7К Zeba®. Для подтверждения отсутствия избытка хелатора проводили циклы 3-кратного разбавления образца до 15 мл с последующим концентрированием до 1 мл с использованием концентрирующего устройства 50 000 MWCO Amicon. Затем образец концентрировали до конечной концентрации для мечения радиоактивной меткой. При помощи аналитической эксклюзионной хроматографии на колонке Tosoh TSKgel G3000SWxl 7,8 мм × 30 см, размер пор 5 мкм, было подтверждено, что конечный конъюгат является мономерным; Температура колонки: комнатная температура; колонку элюировали 0,2 М фосфатом натрия, рН 6,8; скорость потока: 0,8 мл/мин; время анализа — 18 мин; объем введенной пробы: 18 мкл.

Пример 21

Ас-225-меченный антителный конъюгат ТОРА-[С7]-фенилтиомочевины-h11В6



5 (В указанном выше Ас-225-меченном антителном конъюгате ТОРА-[С7]-фенилтиомочевины-h11В6 структура не показывает остаток лизина h11b6, который связан с функциональной группой фенилтиомочевины).

(i) *Мечение ТОРА-[С7]-фенилтиомочевины-h11В6 с помощью Ас-225 в буфере 3 М NaOAc*

10 К раствору NaOAc (3 М в H₂O, 60 мкл) в пластиковом флаконе добавляли последовательно Ас-225 (10 мКи/мл в 0,1 Н НСl, 15 мкл), а также ТОРА-[С7]-фенилтиомочевину-h11В6 (1,13 мг/мл в 10 мМ NaOAc рН = 5,5, 441 мкл, 0,5 мг). После перемешивания значение рН составляло ~ 6,5 по данным измерения рН-бумагой. Флакон оставляли выдерживаться при 37 °С в течение 2 ч.

15 *БТСХ реакционной смеси для мечения*

0,5 мкл реакционной смеси для мечения наносили на БТСХ-СГ и проявляли 10 мМ EDTA (рН 5–6). Высушенные полоски БТСХ-СГ оставляли на ночь при комнатной температуре, после чего сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в настоящем документе, Ас-225, связанный с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11В6, остается в исходной точке, а весь свободный Ас-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Сканирование БТСХ показало, что 99,9% Ас-225 связано с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11В6.

Провокационное введение ДТРА в реакционную смесь для мечения

25 0,5 мкл реакционной смеси для мечения также смешивали с 10 мМ ДТРА (рН = 6,5, 15 мкл) при 37 °С. Через 30 мин 10 мкл смеси наносили на БТСХ-СГ и проявляли с помощью 10 мМ EDTA. Высушенные полоски БТСХ-СГ оставляли на ночь при комнатной температуре, после чего сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в

настоящем документе, Ас-225, хелатированный с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11B6, остается в исходной точке, а весь свободный Ас-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Сканирование БТСХ показало, что 99,7% Ас-225 было хелатировано с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11B6.

5 *Очистка на колонке PD10*

Смолю PD-10 кондиционировали в буферном растворе NaOAc, пропуская через 5 мл × 3 буфера NaOAc (25 мМ NaOAc, 0,04% PS-20, pH 5,5) и отбрасывая промывки. Всю реакционную смесь для мечения вносили в резервуар колонки, а элюат собирали в предварительно пронумерованные пластиковые пробирки. Реакционную пробирку промывали 0,2 мл × 3 буферным раствором NaOAc (25 мМ NaOAc, 0,04% PS-20, pH 5,5), переносили жидкость после промывки с помощью пипетки в резервуар колонки PD-10 и собирали элюат. В каждой пробирке содержалось ~ 1 мл элюата. Продолжали добавление буфера NaOAc (25 мМ NaOAc, 0,04% PS-20, pH 5,5) в резервуар колонки PD-10 до достижения общего объема элюирования 10 мл. Радиохимическую чистоту собранных фракций проверяли методом БТСХ: 10 мкл каждой собранной фракции наносили на БТСХ-СГ и проявляли с помощью 10 мМ EDTA. Высушенные полоски БТСХ-СГ оставляли на ночь при комнатной температуре, после чего сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. Чистая фракция не должна иметь сигнала радиоактивности на фронте растворителя БТСХ-СГ.

20 *Провокационное введение ДТРА, очистка ²²⁵Ас-ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11B6*

10 мкл фракции № 3, собранной из колонки PD-10, смешивали с 15 мкл 10 мМ раствора ДТРА (pH 6,5) и инкубировали в течение 30 мин. 10 мкл смеси наносили на БТСХ-СГ, проявляли 10 мМ EDTA и сушили в течение ночи. Полоски сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В фронте растворителя БТСХ-СГ сигнал радиоактивности не наблюдался, что указывало на отсутствие свободного Ас-225 во фракции №3.

ВЭЖХ-анализ, очистка ²²⁵Ас-ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11B6

Фракцию №3, собранную после колонки PD-10, анализировали методом ВЭЖХ. 30 Метод ВЭЖХ: Колонка Tosoh TSKgel G3000SWxl 7,8 мм × 30 см, 5 мкм; температура колонки: комнатная температура; колонку элюировали буфером DPBS (×1, без кальция и магния); скорость потока: 0,7 мл/мин; время анализа - 20 мин; объем введенной пробы: 40 мкл. После ВЭЖХ фракции собирали через временные интервалы 30 секунд или 1 минута. Собранные фракции ВЭЖХ оставляли на ночь при комнатной

температуре. Радиоактивность в каждой из собранных фракций подсчитывали в гамма-счетчике. Радиокривую ВЭЖХ строили на основе радиоактивности в каждой фракции ВЭЖХ. Радиокривая ВЭЖХ показала радиоактивный пик, соответствующий пику ТОРА-[С7]-фенилтиомочевин-*h11B6* на УФ-кривой ВЭЖХ.

- 5 (ii) *Мечение ТОРА-[С7]-фенилтиомочевин-*h11B6* с более высокой концентрацией с помощью Ас-225 в буфере 1,5 М NaOAc*

К раствору NaOAc (1,5 М в H₂O с 0,04% PS-20, 63 мкл) в пластиковом флаконе добавляли последовательно Ас-225 (10 мКи/мл в 0,1 Н HCl, 10 мкл), а также ТОРА-[С7]-фенилтиомочевин-*h11B6* (9,36 мг/мл в 10 мМ NaOAc рН = 5,2, 0,04% PS-20, 36
10 мкл, 337 мкг). После перемешивания значение рН составляло ~ 6,5 по данным измерения рН-бумагой. Флакон оставляли выдерживаться при 37 °С в течение 2 ч.

БТСХ реакционной смеси для мечения

0,5 мкл реакционной смеси для мечения наносили на БТСХ-СГ и проявляли с помощью 10 мМ EDTA. Высушенные полоски БТСХ-СГ оставляли на ночь при
15 комнатной температуре, после чего сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в настоящем документе, Ас-225, связанный с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевин-*h11B6*, остается в исходной точке, а весь свободный Ас-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Сканирование БТСХ показало, что 99,9% Ас-225
20 связано с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевин-*h11B6*.

Провокационное введение ДТРА в реакционную смесь для мечения

0,5 мкл реакционной смеси для мечения также смешивали с 10 мМ ДТРА (рН = 6,5, 15 мкл) при 37 °С. Через 30 мин 10 мкл смеси наносили на БТСХ-СГ и проявляли с помощью 10 мМ EDTA. Высушенные полоски БТСХ-СГ оставляли на ночь при
25 комнатной температуре, после чего сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в настоящем документе, Ас-225, хелатированный с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевин-*h11B6*, остается в исходной точке, а весь свободный Ас-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Сканирование БТСХ показало, что 99,9% Ас-225
30 было хелатировано с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевин-*h11B6*.

- (iii) *Мечение ТОРА-[С7]-фенилтиомочевин-*h11B6* с более высокой концентрацией с помощью Ас-225 в буфере 1 М NaOAc*

К раствору NaOAc (1,0 М в H₂O с 0,04% PS-20, 63 мкл) в пластиковом флаконе добавляли последовательно Ас-225 (10 мКи/мл в 0,1 Н HCl, 10 мкл), а также ТОРА-

[С7]-фенилтиомочевину-h11B6 (9,36 мг/мл в 10 мМ NaOAc pH = 5,2, 0,04% PS-20, 36 мкл, 337 мкг). После перемешивания значение pH составляло ~ 6,5 по данным измерения pH-бумагой. Флакон оставляли выдерживаться при 37 °С в течение 2 ч.

БТСХ реакционной смеси для мечения

5 0,5 мкл реакционной смеси для мечения наносили на БТСХ-СГ и проявляли с помощью 10 мМ EDTA. Высушенные полоски БТСХ-СГ оставляли на ночь при комнатной температуре, после чего сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в настоящем документе, Ac-225, связанный с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11B6, 10 остается в исходной точке, а весь свободный Ac-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Сканирование БТСХ показало, что 99,9% Ac-225 связано с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11B6.

Провокационное введение ДТРА в реакционную смесь для мечения

15 0,5 мкл реакционной смеси для мечения также смешивали с 10 мМ ДТРА (pH = 6,5, 15 мкл) при 37 °С. Через 30 мин 10 мкл смеси наносили на БТСХ-СГ и проявляли с помощью 10 мМ EDTA. Высушенные полоски БТСХ-СГ оставляли на ночь при комнатной температуре, после чего сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в настоящем документе, Ac-225, хелатированный с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11B6, 20 остается в исходной точке, а весь свободный Ac-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Сканирование БТСХ показало, что 99,9% Ac-225 было хелатировано с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11B6.

Маркирование ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11B6 с более высокой концентрацией с помощью Ac-225 в 25 мМ NaOAc с 0,4% tween-20, pH 5,5

25 К раствору NaOAc (25 мМ в H₂O с 0,04% PS-20, pH 5,5, 10 мкл) в пластиковом флаконе добавляли последовательно Ac-225 (10 мКи/мл в 0,1 Н HCl, 5 мкл), ТОРА-[С7]-фенилтиомочевину-h11B6 (10,4 мг/мл в 10 мМ NaOAc pH = 5,2, 16 мкл, 166 мкг) и NaOH (0,1 М, 5 мкл). После перемешивания значение pH составляло ~ 6,0 по данным измерения pH-бумагой. Флакон оставляли выдерживаться при 37 °С в течение 2 ч.

30 *БТСХ реакционной смеси для мечения*

0,5 мкл реакционной смеси для мечения наносили на БТСХ-СГ и проявляли с помощью 10 мМ EDTA. Высушенные полоски БТСХ-СГ оставляли на ночь при комнатной температуре, после чего сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в

настоящем документе, Ас-225, связанный с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11В6, остается в исходной точке, а весь свободный Ас-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Сканирование бТСХ показало, что 99,9% Ас-225 связано с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11В6.

5 *Провокационное введение ДТРА в реакционную смесь для мечения*

0,5 мкл реакционной смеси для мечения также смешивали с 10 мМ ДТРА (рН = 6,5, 15 мкл) при 37 °С. Через 30 мин 10 мкл смеси наносили на бТСХ-СГ и проявляли с помощью 10 мМ EDTA. Высушенные полоски бТСХ-СГ оставляли на ночь при комнатной температуре, после чего сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в настоящем документе, Ас-225, хелатированный с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11В6, остается в исходной точке, а весь свободный Ас-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Сканирование бТСХ показало, что 99,8% Ас-225 было хелатировано с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11В6.

15

Условия реакции мечения ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11В6 с помощью Ас-225

ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинная-h11В6 в буфере	Буфер для реакции мечения	Радиохимический выход (бТСХ)	Провокационное введение ДТРА
1,13 мг/мл в 10 мМ NaOAc pH = 5,5	3 М NaOAc	> 99%	> 99%
9,36 мг/мл в 10 мМ NaOAc, pH = 5,2; 0,04% PS-20	1,5 М NaOAc, 0,04% PS-20	> 99%	> 99%
9,36 мг/мл в 10 мМ NaOAc, pH = 5,2; 0,04% PS-20	1,0 М NaOAc, 0,04% PS-20	> 99%	> 99%
10,4 мг/мл в 10 мМ NaOAc, pH = 5,2	25 мМ в NaOAc, 0,04% PS-20, pH 5,5	> 99%	> 99%

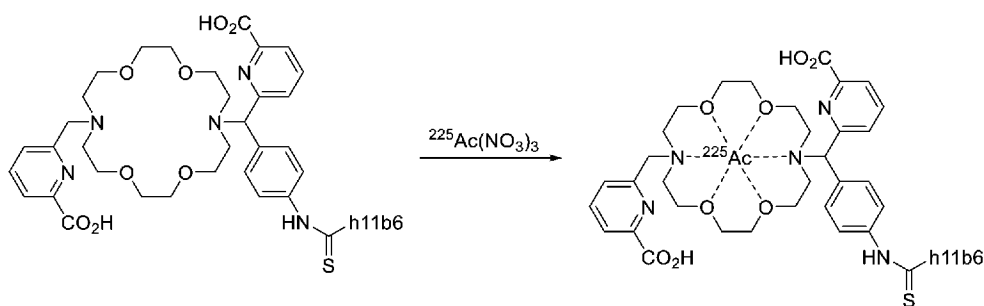
Пример 22

Следующий набор экспериментов проводили для изучения влияния присутствия нерадиоактивных металлических загрязняющих веществ, которые сопровождают источники актиния, на хелатирующие макроциклические соединения ТОРА и DOTA.

20

Четыре наиболее распространенных загрязняющих вещества, обнаруженные в источнике ORNL $^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$ по данным ИСП-МС, Al^{3+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , использовали в качестве допирующих стандартов в реакциях хелатирования DOTA и TOPA, конъюгированных с h11b6. Результат хелатирования контролировали с помощью БТСХ и после этого выполняли провокационное введение ДТРА.

Хелатирование TOPA-[C7]-фенилтиомочевины-h11b6 с Ac-225 в присутствии металлических примесей (примесей с более низкой концентрацией)



(В указанном выше Ac-225-меченном антительном конъюгате TOPA-[C7]-фенилтиомочевины-h11b6 структура не показывает остаток лизина h11b6, который связан с функциональной группой фенилтиомочевины).

Ac-225 растворяли в 0,1 М HCl и смешивали с AlCl_3 , CaCl_2 , ZnCl_2 и MgCl_2 с образованием раствора 5 мКи/мл. Концентрации алюминия, кальция, цинка и магния составляли 9,76 мкг/мКи, 3,83 мкг/мКи, 0,61 мкг/мКи и 0,27 мкг/мКи соответственно. К раствору NaOAc (3М в H_2O , 20 мкл) в пластиковом флаконе добавляли последовательно Ac-225 (5 мКи/мл в 0,1 Н HCl, 10 мкл, содержащий добавленные металлические примеси), а также TOPA-[C7]-фенилтиомочевину-h11b6 (1,17 мг/мл в 10 мМ NaOAc pH = 5,5, 143 мкл, 0,167 мг). После перемешивания значение pH составляло ~ 6,5 по данным измерения pH-бумагой. Флакон оставили выдерживаться при 37 °C в течение 2 ч.

БТСХ реакционной смеси для мечения

0,5 мкл реакционной смеси для мечения далее наносили на БТСХ-СГ и проявляли с помощью 10 мМ раствора EDTA. БТСХ-СГ оставляли для сушки при комнатной температуре в течение ночи и после этого сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в настоящем документе, Ac-225, связанный с TOPA-[C7]-фенилтиомочевинной-h11b6 Ac-225, остается в исходной точке (первоначальной) ТСХ, а весь свободный Ac-225 будет

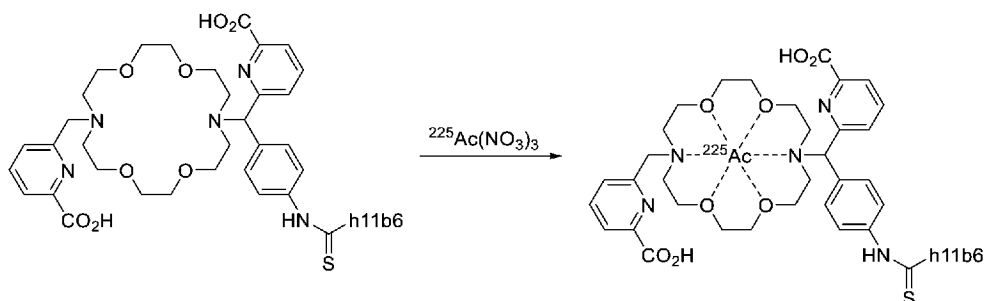
мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Изображение БТСХ показало, что 99,5% Ас-225 было связано с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11b6 (скан 1, как показано на ФИГ. 5).

Провокационное введение ДТРА в реакцию для мечения

5 0,5 мкл реакционной смеси для мечения также смешивали с 10 мМ ДТРА (рН = 6,5, 15 мкл) при 37 °С. Через 30 мин 10 мкл смеси наносили на БТСХ-СГ и проявляли в элюенте 10 мМ EDTA. Полоскам БТСХ-СГ давали высохнуть на воздухе и оставляли на ночь при комнатной температуре, после чего сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях

10 элюирования, описанных в настоящем документе, Ас-225, хелатированный с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11b6, остается в исходной точке, а весь свободный Ас-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Изображение БТСХ показало, что 99,4% Ас-225 было связано с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11b6 (скан 2, как показано на ФИГ. 6).

15 **Эксперименты с добавлением металлов. Мечение ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11b6 с помощью Ас-225 в присутствии примесей металлов (примеси с более высокой концентрацией, 5-кратное увеличение концентраций по сравнению с примесями с более низкой концентрацией)**



20 Ас-225 растворяли в 0,1 М НСl и смешивали с AlCl_3 , CaCl_2 , ZnCl_2 и MgCl_2 с образованием раствора 5 мКи/мл. Концентрации алюминия, кальция, цинка и магния составляли 45,0 мкг/мКи, 17,3 мкг/мКи, 3,01 мкг/мКи и 1,15 мкг/мКи соответственно. К раствору NaOAc (3М в H_2O , 20 мкл) в пластиковом флаконе добавляли

25 последовательно Ас-225 (5 мКи/мл в 0,1 Н НСl, 10 мкл, содержащий добавленные металлические примеси), а также ТОРА-[С7]-фенилтиомочевину-h11b6 (1,17 мг/мл в 10 мМ NaOAc рН = 5,5, 143 мкл, 0,167 мг). После перемешивания значение рН составляло ~ 6,5 по данным измерения рН-бумагой. Флакон оставили выдерживаться при 37 °С в течение 2 ч.

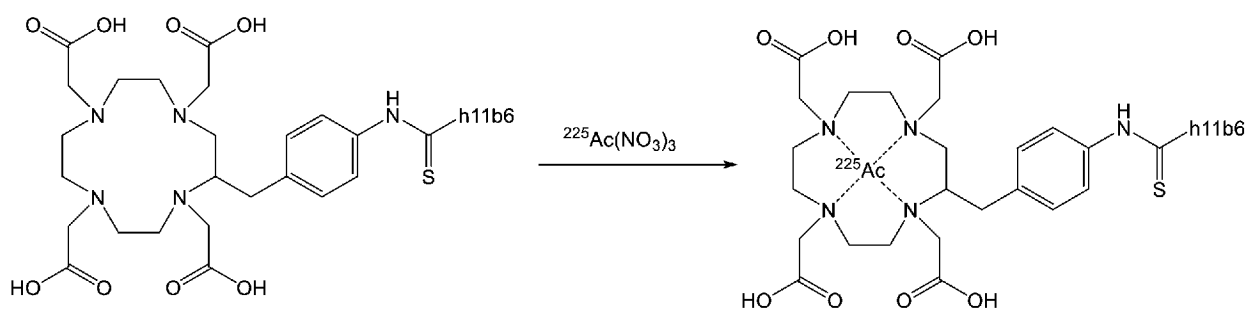
БТСХ реакционной смеси для мечения

0,5 мкл реакционной смеси для мечения далее наносили на БТСХ-СГ и проявляли с помощью 10 мМ раствора EDTA. БТСХ-СГ оставляли для сушки при комнатной температуре в течение ночи и после этого сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в настоящем документе, Ас-225, связанный с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11b6 Ас-225, остается в исходной точке (первоначальной) ТСХ, а весь свободный Ас-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Изображение БТСХ показало, что 98,9% Ас-225 были связано с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11b6 (скан 3, как показано на ФИГ. 7).

Провокационное введение ДТРА в реакционную смесь для мечения

0,5 мкл реакционной смеси для мечения также смешивали с 10 мМ ДТРА (pH = 6,5, 15 мкл) при 37 °С. Через 30 мин 10 мкл смеси наносили на БТСХ-СГ и проявляли в элюенте 10 мМ EDTA. Полоскам БТСХ-СГ давали высохнуть на воздухе и оставляли на ночь при комнатной температуре, после чего сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в настоящем документе, Ас-225, хелатированный с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11b6, остается в исходной точке, а весь свободный Ас-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Изображение БТСХ показало, что 99,8% Ас-225 было связано с ТОРА-[С7]-фенилтиомочевинной-h11b6 (скан 4, как показано на ФИГ. 8).

Мечение DOTA-h11b6 с помощью Ас-225 в присутствии металлических примесей (примесей с более низкой концентрацией)



Ас-225 растворяли в 0,1 М НСl и смешивали с AlCl_3 , CaCl_2 , ZnCl_2 и MgCl_2 с образованием раствора 5 мКи/мл. Концентрации алюминия, кальция, цинка и магния составляли 9,76 мкг/мКи, 3,83 мкг/мКи, 0,61 мкг/мКи и 0,27 мкг/мКи соответственно. К раствору NaOAc (3М в H_2O , 20 мкл) в пластиковом флаконе добавляли последовательно Ас-225 (5 мКи/мл в 0,1 Н НСl, 10 мкл, содержащий добавленные металлические примеси), а также DOTA-h11b6 (10 мг/мл в 25 мМ NaOAc pH = 5,5, 16,7

мкл, 0,167 мг). После перемешивания значение pH составляло ~ 6,5 по данным измерения pH-бумагой. Флакон оставили выдерживаться при 37 °С в течение 2 ч.

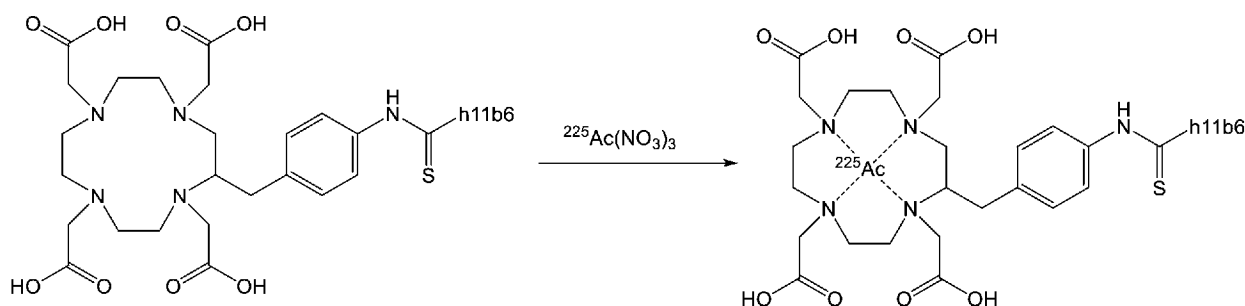
бТСХ реакционной смеси для мечения

0,5 мкл реакционной смеси для мечения далее наносили на бТСХ-СГ и проявляли с помощью 10 мМ раствора EDTA. бТСХ-СГ оставляли для сушки при комнатной температуре в течение ночи и после этого сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в настоящем документе, Ас-225, связанный с DOTA-h11b6 Ас-225, остается в исходной точке ТСХ (первоначальной), а весь свободный Ас-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Изображение бТСХ показало, что 43,6% Ас-225 было хелатировано с DOTA-h11b6 (скан 5, как показано на ФИГ. 9).

Провокационное введение ДТРА в реакционную смесь для мечения

0,5 мкл реакционной смеси для мечения также смешивали с 10 мМ ДТРА (pH = 6,5, 15 мкл) при 37 °С. Через 30 мин 10 мкл смеси наносили на бТСХ-СГ и проявляли в элюенте 10 мМ EDTA. Полоскам бТСХ-СГ давали высохнуть на воздухе и оставляли на ночь при комнатной температуре, после чего сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в настоящем документе, Ас-225, хелатированный с DOTA-h11b6, остается в исходной точке, а весь свободный Ас-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Изображение бТСХ показало, что 18,1% Ас-225 было хелатировано с DOTA-h11b6 (скан 6, как показано на ФИГ. 10).

Эксперименты с добавлением металлов. Мечение DOTA-h11b6 с помощью Ас-225 в присутствии примесей металлов (примеси с более высокой концентрацией, 5-кратное увеличение концентраций по сравнению с примесями с более низкой концентрацией)



Ас-225 растворяли в 0,1 М НСl и смешивали с AlCl₃, CaCl₂, ZnCl₂ и MgCl₂ с образованием раствора 5 мКи/мл. Концентрации алюминия, кальция, цинка и магния

составили 45,0 мкг/мКи, 17,3 мкг/мКи, 3,01 мкг/мКи и 1,15 мкг/мКи соответственно. К раствору NaOAc (3М в H₂O, 20 мкл) в пластиковом флаконе добавляли последовательно Ac-225 (5 мКи/мл в 0,1 Н НСl, 10 мкл, содержащий добавленные металлические примеси), а также DOTA-h11b6 (10 мг/мл в 25 мМ NaOAc pH = 5,5, 16,7 мкл, 0,167 мг). После перемешивания значение pH составляло ~ 6,5 по данным измерения pH-бумагой. Флакон оставили выдерживаться при 37 °С в течение 2 ч.

БТСХ реакционной смеси для мечения

0,5 мкл реакционной смеси для мечения далее наносили на БТСХ-СГ и проявляли с помощью 10 мМ раствора EDTA. БТСХ-СГ оставляли для сушки при комнатной температуре в течение ночи и после этого сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в настоящем документе, Ac-225, связанный с DOTA-h11b6 Ac-225, остается в исходной точке ТСХ (первоначальной), а весь свободный Ac-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Изображение БТСХ показало, что 52,7% Ac-225 было хелатировано с DOTA-h11b6 (скан 7, как показано на ФИГ. 11).

Провокационное введение ДТРА в реакционную смесь для мечения

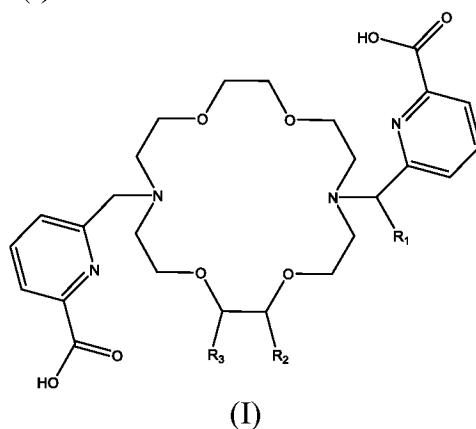
0,5 мкл реакционной смеси для мечения также смешивали с 10 мМ ДТРА (pH = 6,5, 15 мкл) при 37 °С. Через 30 мин 10 мкл смеси наносили на БТСХ-СГ и проявляли в элюенте 10 мМ EDTA. Полоскам БТСХ-СГ давали высохнуть на воздухе и оставляли на ночь при комнатной температуре, после чего сканировали на сканере для радиоактивной тонкослойной хроматографии Bioscan AR-2000. В условиях элюирования, описанных в настоящем документе, Ac-225, хелатированный с DOTA-h11b6, остается в исходной точке, а весь свободный Ac-225 будет мигрировать с растворителем к фронту растворителя. Изображение БТСХ показало, что 14,0% Ac-225 было хелатировано с DOTA-h11b6 (скан 8, как показано на ФИГ. 12).

Несмотря на то что приведенное выше описание содержит сведения о принципах настоящего изобретения с примерами, приведенными для иллюстрации, следует понимать, что практическое применение изобретения охватывает все обычные вариации, адаптации и/или модификации, входящие в объем приведенной ниже формулы изобретения и ее эквивалентов.

В настоящей заявке приводятся ссылки на различные публикации. Описание данных публикаций включено в настоящую заявку путем ссылки для более подробного описания области, к которой относится настоящее изобретение.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I):



5

или его фармацевтически приемлемая соль, где:

R_1 представляет собой водород, а R_2 представляет собой $-L_1-R_4$;

альтернативно R_1 представляет собой $-L_1-R_4$, а R_2 представляет собой водород;

10

R_3 представляет собой водород;

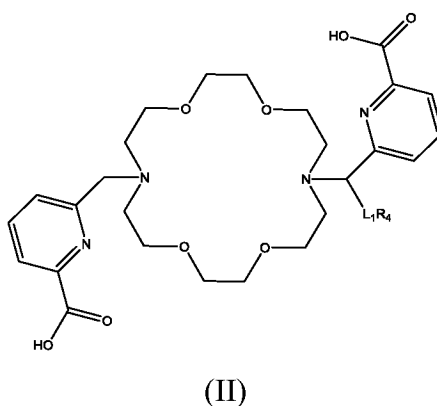
альтернативно R_2 и R_3 , взятые вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил, причем 5- или 6-членный циклоалкил необязательно замещен $-L_1-R_4$;

L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

15

R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

2. Соединение по п. 1 формулы (II):



20

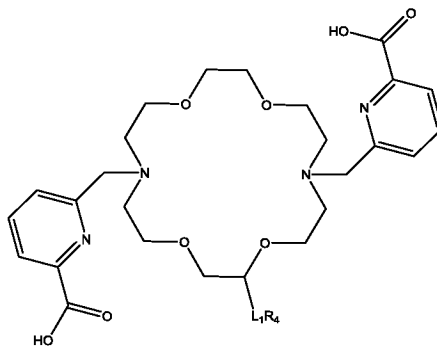
или его фармацевтически приемлемая соль, где:

L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

3. Соединение по п. 1 формулы (III):

5



(III)

или его фармацевтически приемлемая соль, где:

L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

10 R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

4. Соединение по п. 1, в котором:

R_1 представляет собой $-L_1-R_4$;

15 R_2 и R_3 , вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил;

L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд;

20 или его фармацевтически приемлемая соль.

5. Соединение по п. 1, в котором

R_1 представляет собой H;

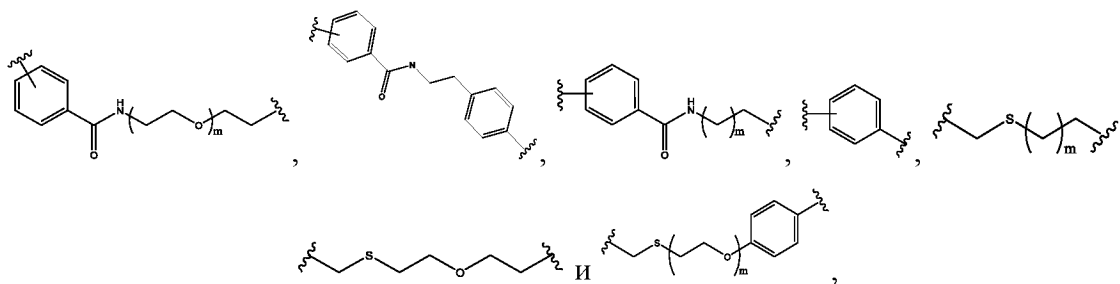
25 R_2 и R_3 , вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил, замещенный $-L_1-R_4$;

L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд;

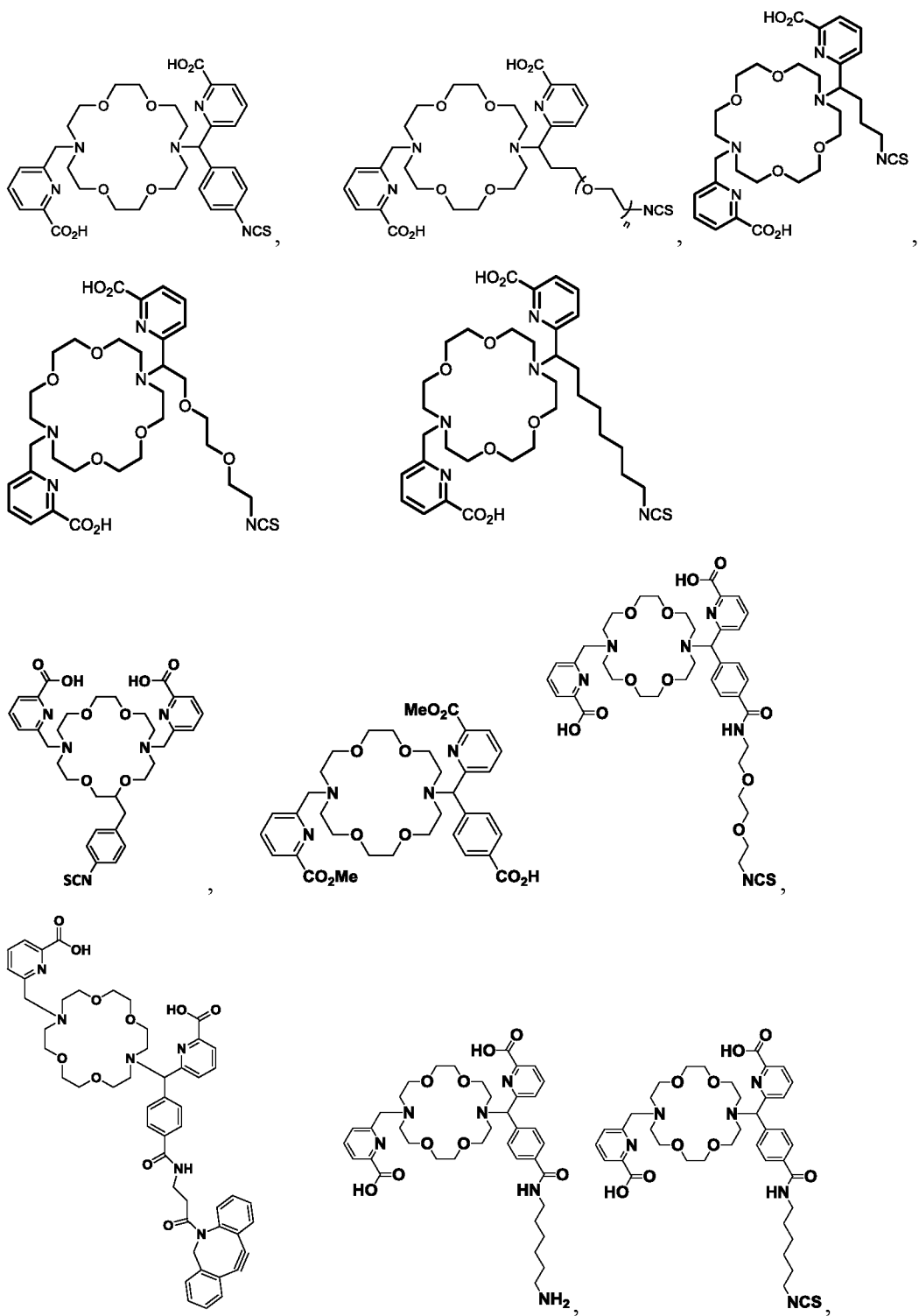
или его фармацевтически приемлемая соль.

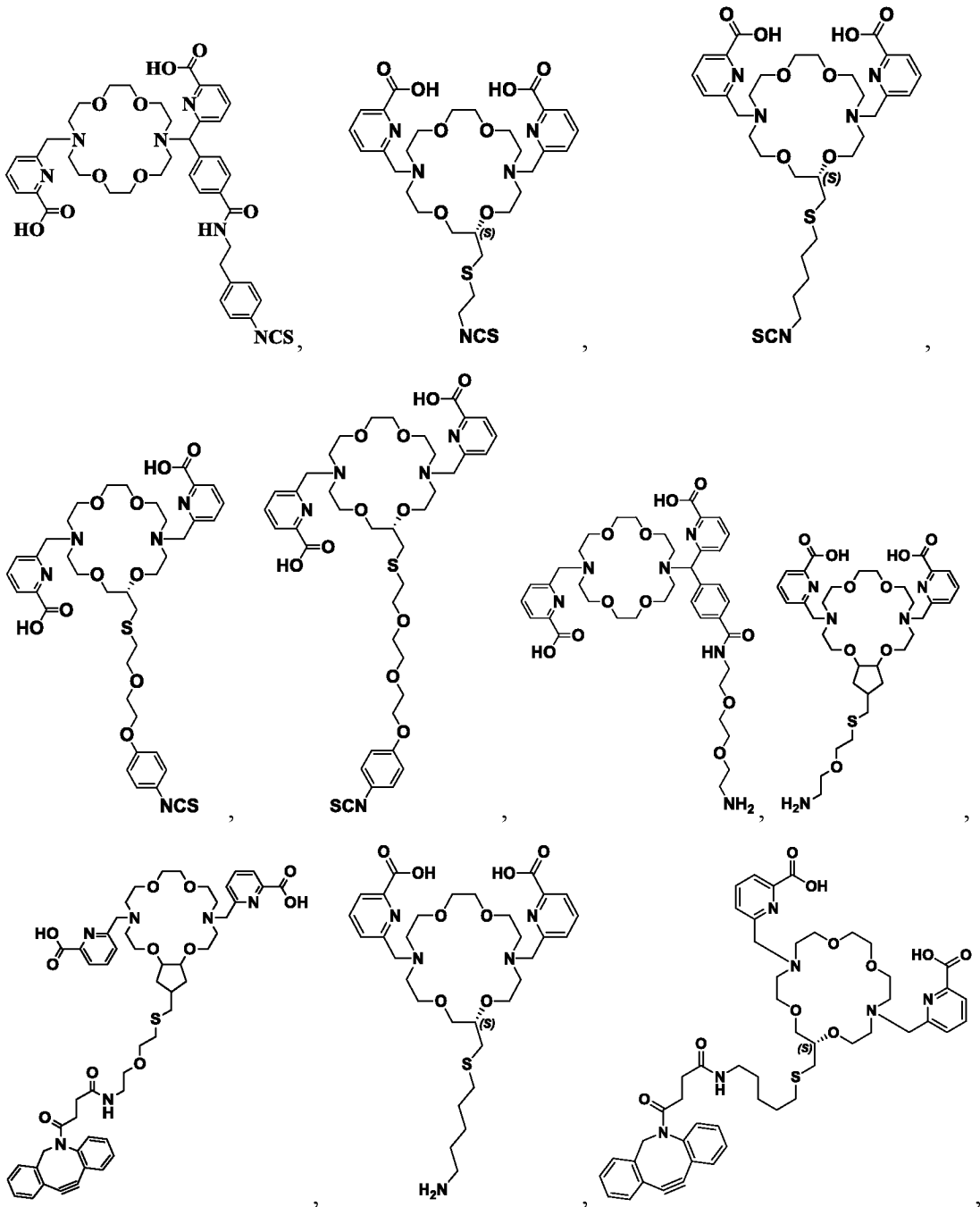
6. Соединение по п. 1, в котором R_4 выбран из группы, состоящей из $-NH_2$, $-NCS$,
 5 $-NCO$, $-N_3$, алкинила, циклоалкинила, $-C(O)R_{13}$, $-COOR_{13}$, $-CON(R_{13})_2$,
 малеимида, ацилгалогенида, тетрамина и транс-циклооктена.
7. Соединение по п. 1, в котором R_4 выбран из группы, состоящей из
 циклооктинила, бициклононила (BCN), дифтористого циклооктинила (DIFO),
 10 дибензоциклооктинила (DIBO), кето-DIBO, биарилазациклооктинонила
 (BARAC), дибензоазациклооктинила (DIBAC, DBCO, ADIBO),
 диметоксиазациклооктинила (DIMAC), дифторбензоциклооктинила (DIFBO),
 монобензоциклооктинила (MOBO) и тетраметоксидибензоциклооктинила
 (TMDIBO).
- 15 8. Соединение по п. 7, в котором R_4 представляет собой DBCO или BCN.
9. Соединение по п. 1, в котором R_4 содержит нацеливающий лиганд, причем
 нацеливающий лиганд выбран из группы, состоящей из антитела,
 антигенсвязывающего фрагмента антитела, каркасного белка и аптамера.
- 20 10. Соединение по п. 1, в котором L_1 выбран из группы, состоящей из:

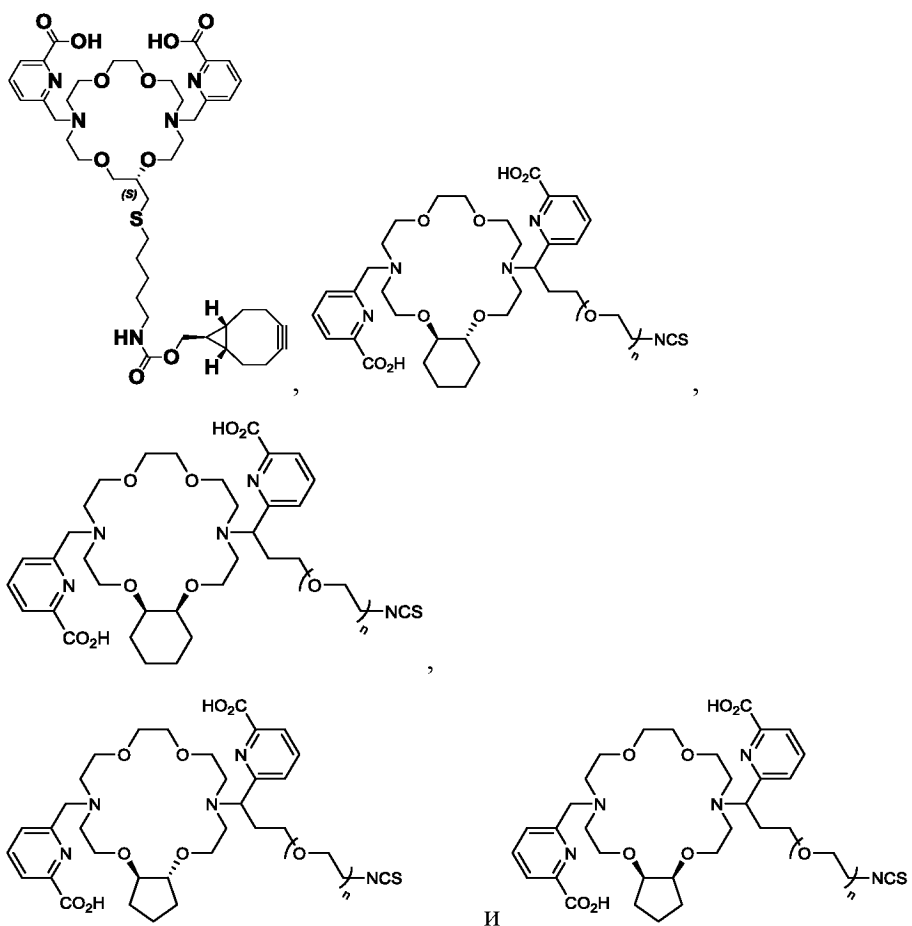


где m представляет собой целое число от 0 до 12.

11. Соединение по п. 1, выбранное из группы, состоящей из:





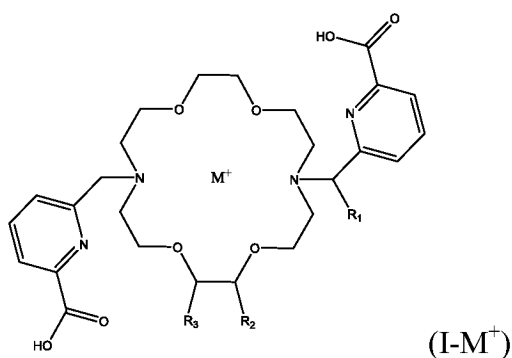


где n равно 1–10.

5

12. Соединение по п. 1, которое связано с ионом радиоактивного металла с образованием комплекса радиоактивного металла.

13. Комплекс радиоактивного металла формулы (I-M⁺):



10

или его фармацевтически приемлемая соль, где:

M^+ представляет собой ион радиоактивного металла, выбранный из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (^{225}Ac), радий-223 (^{223}Ra), висмут-213 (^{213}Bi), свинец-212 ($^{212}\text{Pb(II)}$) и/или $^{212}\text{Pb(IV)}$), тербий-149 (^{149}Tb),

тербий-152 (^{152}Tb), тербий-155 (^{155}Tb), фермий-255 (^{255}Fm), торий-227 (^{227}Th), торий-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), аstat-211 (^{211}At), церий-134 (^{134}Ce), неодим-144 (^{144}Nd), лантан-132 (^{132}La), лантан-135 (^{135}La) и уран-230 (^{230}U);

R_1 представляет собой водород, а R_2 представляет собой $-\text{L}_1-\text{R}_4$;

5 альтернативно R_1 представляет собой $-\text{L}_1-\text{R}_4$, а R_2 представляет собой водород;

R_3 представляет собой водород;

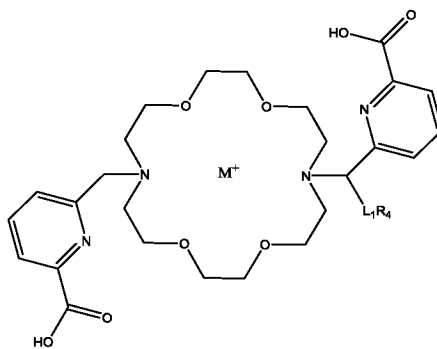
альтернативно R_2 и R_3 , взятые вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил, причем 5- или 6-членный циклоалкил необязательно замещен $-\text{L}_1-\text{R}_4$;

10

L_1 отсутствует или представляет собой линкер;

R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

15 14. Комплекс радиоактивного металла по п. 13 формулы (II- M^+):



(II- M^+)

или его фармацевтически приемлемая соль, где:

20

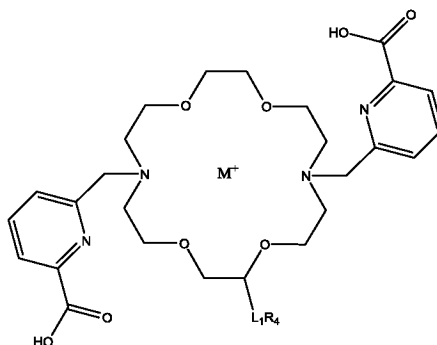
M^+ представляет собой ион радиоактивного металла, выбранный из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (^{225}Ac), радий-223 (^{223}Ra), висмут-213 (^{213}Bi), свинец-212 ($^{212}\text{Pb(II)}$ и/или $^{212}\text{Pb(IV)}$), тербий-149 (^{149}Tb), тербий-152 (^{152}Tb), тербий-155 (^{155}Tb), фермий-255 (^{255}Fm), торий-227 (^{227}Th), торий-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), аstat-211 (^{211}At), церий-134 (^{134}Ce), неодим-144 (^{144}Nd), лантан-132 (^{132}La), лантан-135 (^{135}La) и уран-230 (^{230}U);

25

L_1 отсутствует или представляет собой линкер;

R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

15. Комплекс радиоактивного металла по п. 13 формулы (III-M⁺):



(III-M⁺)

5 или его фармацевтически приемлемая соль, где:

M⁺ представляет собой ион радиоактивного металла, выбранный из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (²²⁵Ac), радий-223 (²²³Ra), висмут-213 (²¹³Bi), свинец-212 (²¹²Pb(II) и/или ²¹²Pb(IV)), тербий-149 (¹⁴⁹Tb), тербий-152 (¹⁵²Tb), тербий-155 (¹⁵⁵Tb), фермий-255 (²⁵⁵Fm), торий-227 (²²⁷Th),
 10 торий-226 (²²⁶Th⁴⁺), астат-211 (²¹¹At), церий-134 (¹³⁴Ce), неодим-144 (¹⁴⁴Nd), лантан-132 (¹³²La), лантан-135 (¹³⁵La) и уран-230 (²³⁰U);

L₁ отсутствует или представляет собой линкер; и

R₄ представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд.

15

16. Комплекс радиоактивного металла по п. 13, в котором:

M⁺ представляет собой ион радиоактивного металла, выбранный из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (²²⁵Ac), радий-223 (²²³Ra), висмут-213 (²¹³Bi), свинец-212 (²¹²Pb(II) и/или ²¹²Pb(IV)), тербий-149 (¹⁴⁹Tb), тербий-152 (¹⁵²Tb), тербий-155 (¹⁵⁵Tb), фермий-255 (²⁵⁵Fm), торий-227 (²²⁷Th),
 20 торий-226 (²²⁶Th⁴⁺), астат-211 (²¹¹At), церий-134 (¹³⁴Ce), неодим-144 (¹⁴⁴Nd), лантан-132 (¹³²La), лантан-135 (¹³⁵La) и уран-230 (²³⁰U);

R₁ представляет собой -L₁-R₄;

R₂ и R₃, вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5-членный циклоалкил;

25

L₁ отсутствует или представляет собой линкер; и

R₄ представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд;

или его фармацевтически приемлемая соль.

17. Комплекс радиоактивного металла по п. 13, в котором

M^+ представляет собой ион радиоактивного металла, выбранный из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (^{225}Ac), радий-223 (^{223}Ra), висмут-213 (^{213}Bi), свинец-212 ($^{212}\text{Pb(II)}$) и/или $^{212}\text{Pb(IV)}$), тербий-149 (^{149}Tb), тербий-152 (^{152}Tb), тербий-155 (^{155}Tb), фермий-255 (^{255}Fm), торий-227 (^{227}Th), торий-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), астат-211 (^{211}At), церий-134 (^{134}Ce), неодим-144 (^{144}Nd), лантан-132 (^{132}La), лантан-135 (^{135}La) и уран-230 (^{230}U);

R_1 представляет собой H;

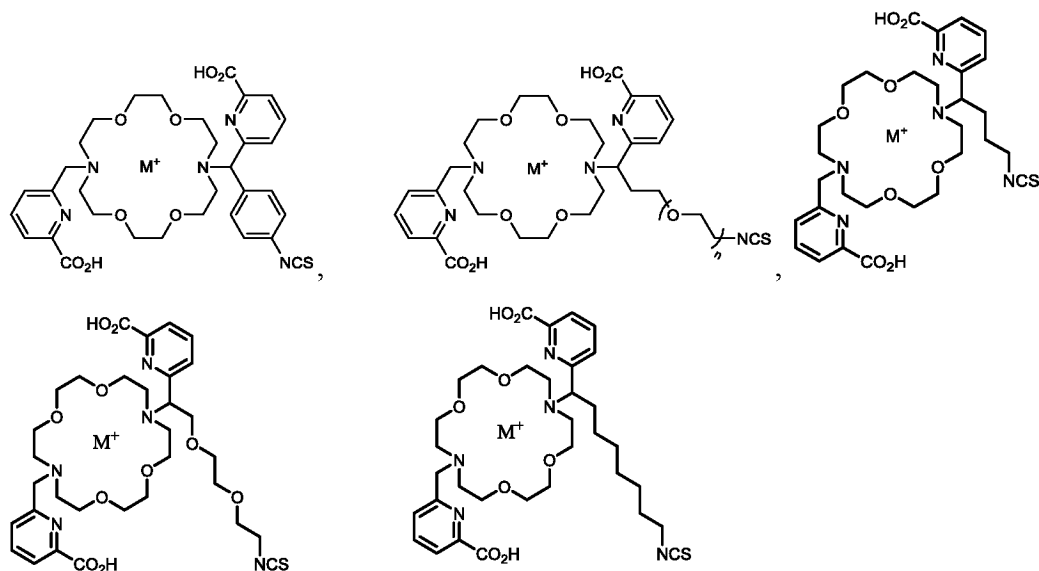
R_2 и R_3 , вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 6-членный циклоалкил, замещенный $-L_1-R_4$;

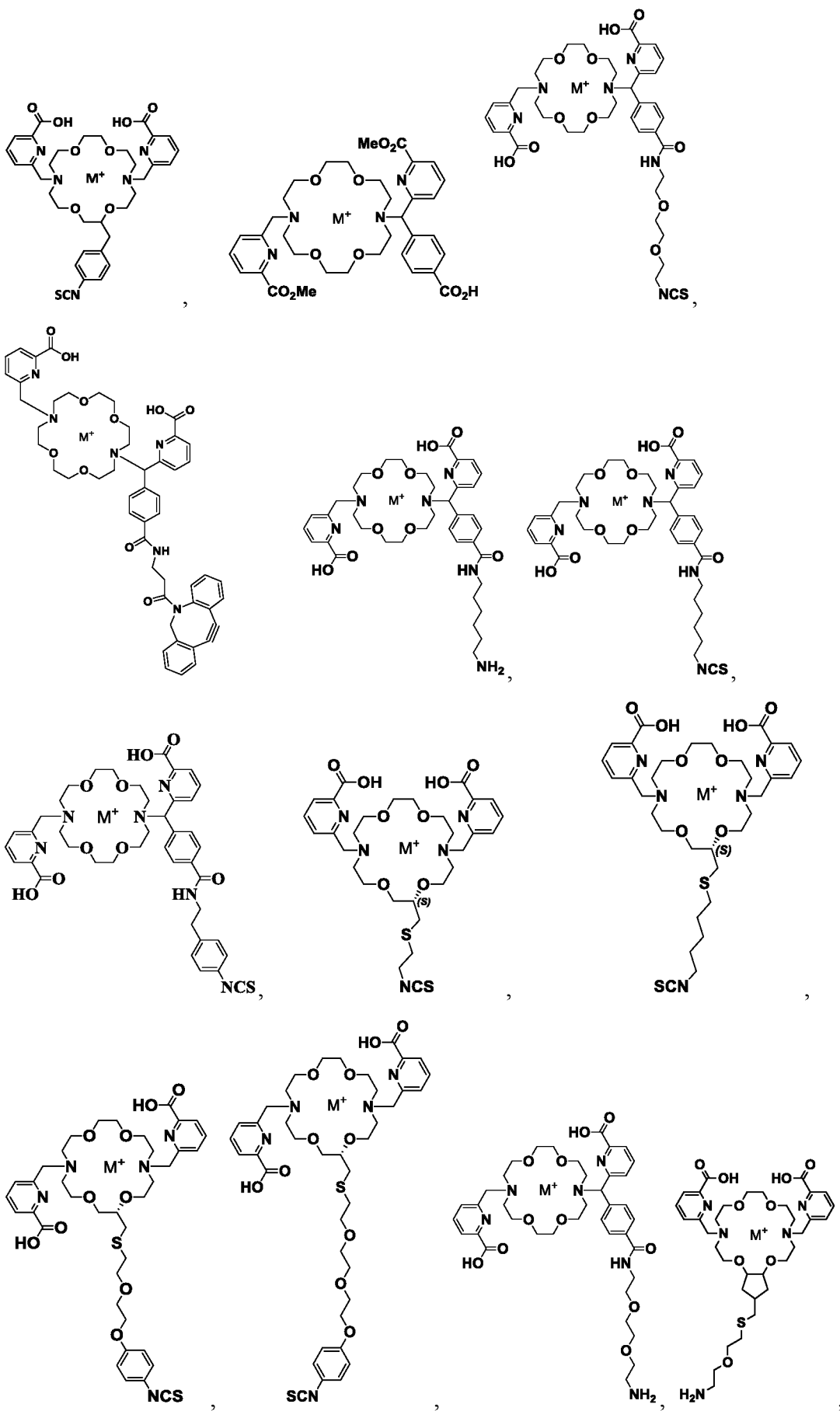
L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

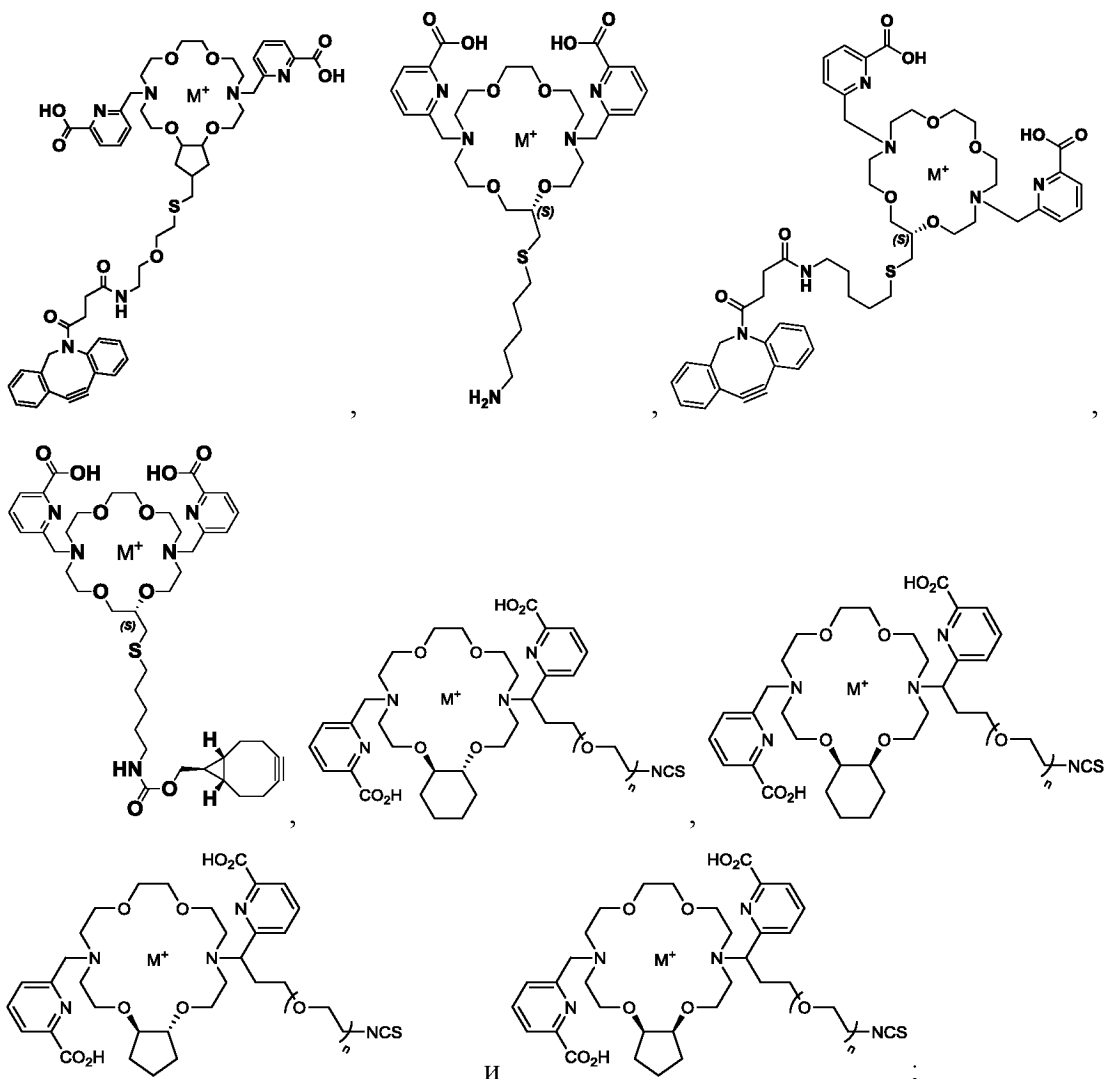
R_4 представляет собой нуклеофильный фрагмент, электрофильный фрагмент или нацеливающий лиганд;

или его фармацевтически приемлемая соль.

18. Комплекс радиоактивного металла по п. 13, выбранный из группы, состоящей из:







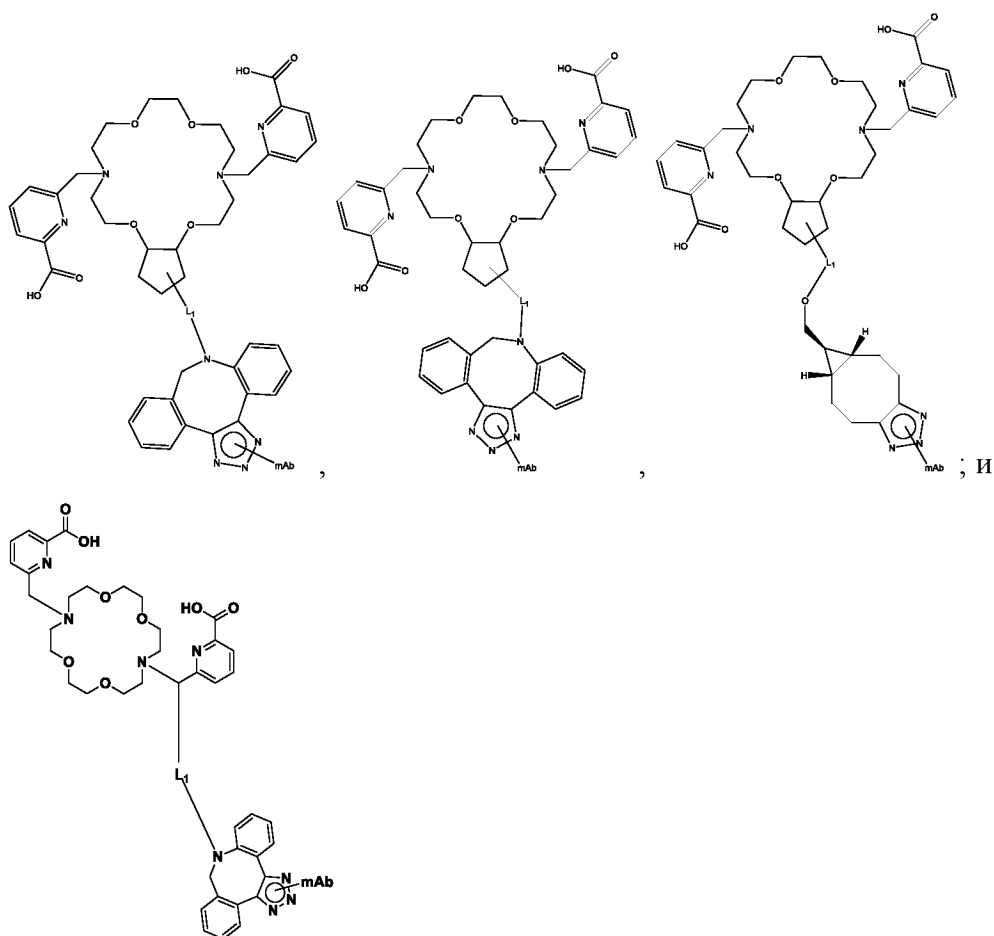
где n равно 1–10;

- 5 и M^+ представляет собой ион радиоактивного металла, выбранный из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (^{225}Ac), радий-223 (^{223}Ra), висмут-213 (^{213}Bi), свинец-212 ($^{212}\text{Pb(II)}$ и/или $^{212}\text{Pb(IV)}$), тербий-149 (^{149}Tb), тербий-152 (^{152}Tb), тербий-155 (^{155}Tb), фермий-255 (^{255}Fm), торий-227 (^{227}Th), торий-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), астат-211 (^{211}At), церий-134 (^{134}Ce), неодим-144 (^{144}Nd), лантан-132 (^{132}La), лантан-135 (^{135}La) и уран-230 (^{230}U).
- 10

19. Иммуноконъюгат, содержащий соединение по п. 9, конъюгированное с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

- 15 20. Иммуноконъюгат по п. 19, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связан с R_4 посредством триазольного фрагмента.

21. Иммуноконъюгат, выбранный из группы, состоящей из:



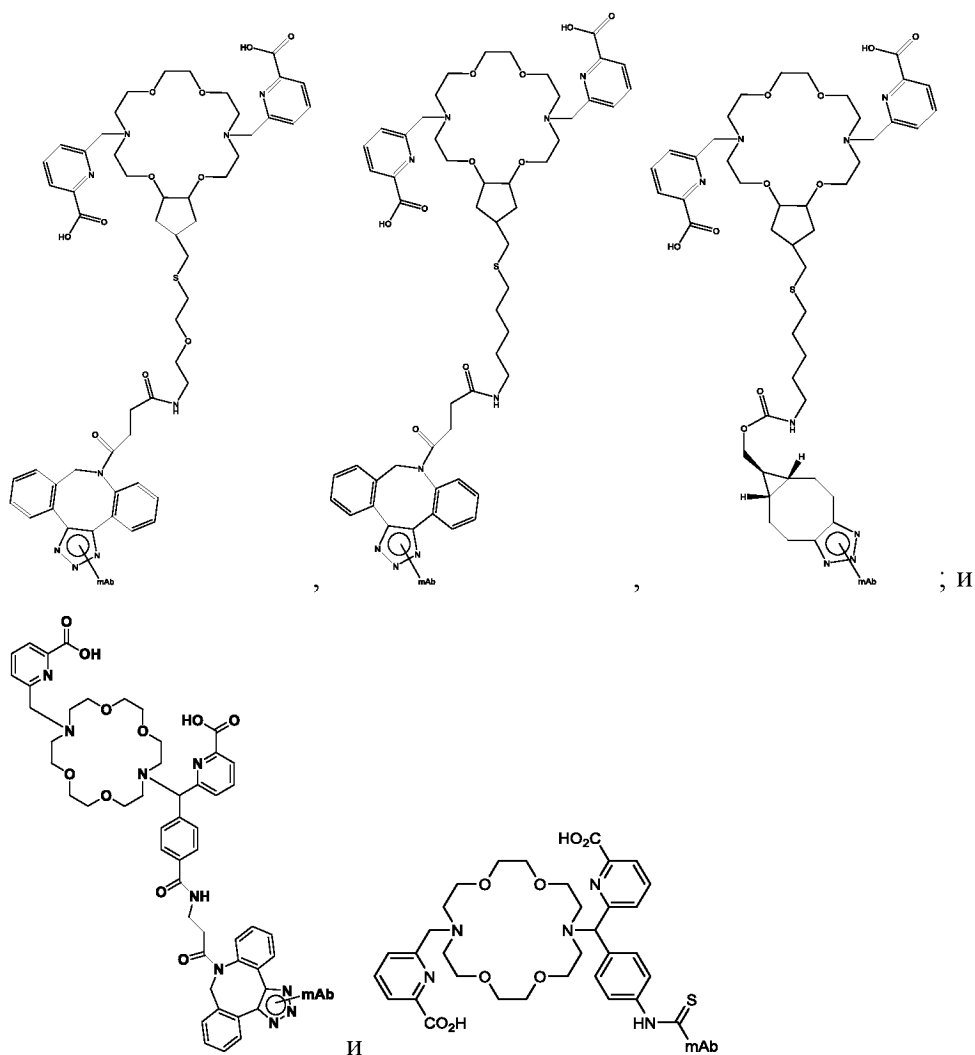
где:

- 5 L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и
 мАт представляет собой антитело или его антигенсвязывающий
 фрагмент.

22. Иммуноконъюгат по п. 21, причем мАт представляет собой h11B6 или PSMB-

10 127.

23. Иммуноконъюгат по п. 21, выбранный из группы, состоящей из:



причем мАт представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

5

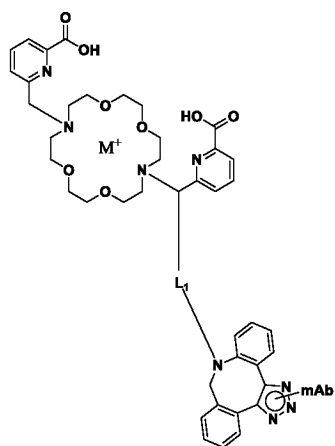
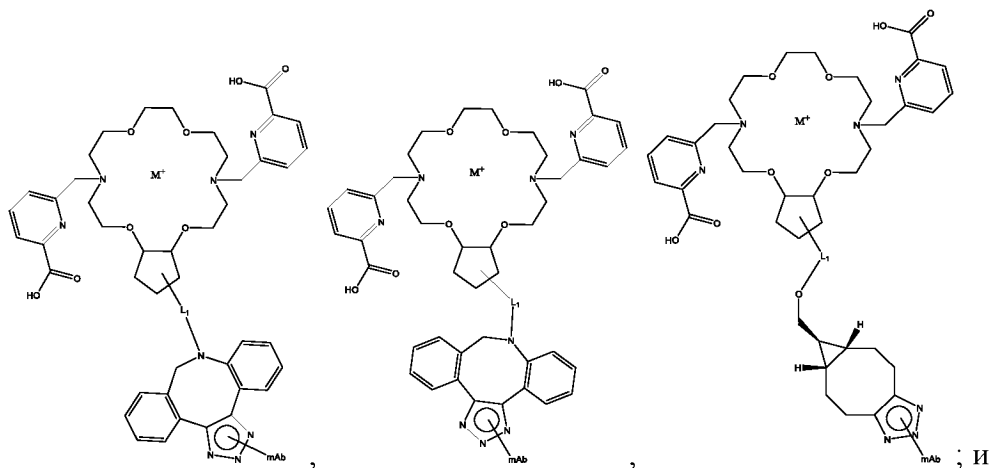
24. Иммуноконъюгат по п. 23, причем мАт представляет собой h11B6 или PSMB-127.

10 25. Радиоактивный иммуноконъюгат, причем комплекс радиоактивного металла по п. 13 конъюгирован с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

15 26. Радиоактивный иммуноконъюгат по п. 25, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связан с R_4 комплекса радиоактивного металла посредством триазольного фрагмента.

27. Радиоактивный иммуноконъюгат по п. 25, причем антитело представляет собой h11B6 или PSMB-127.

28. Радиоактивный иммуноконъюгат, выбранный из группы, состоящей из:



где:

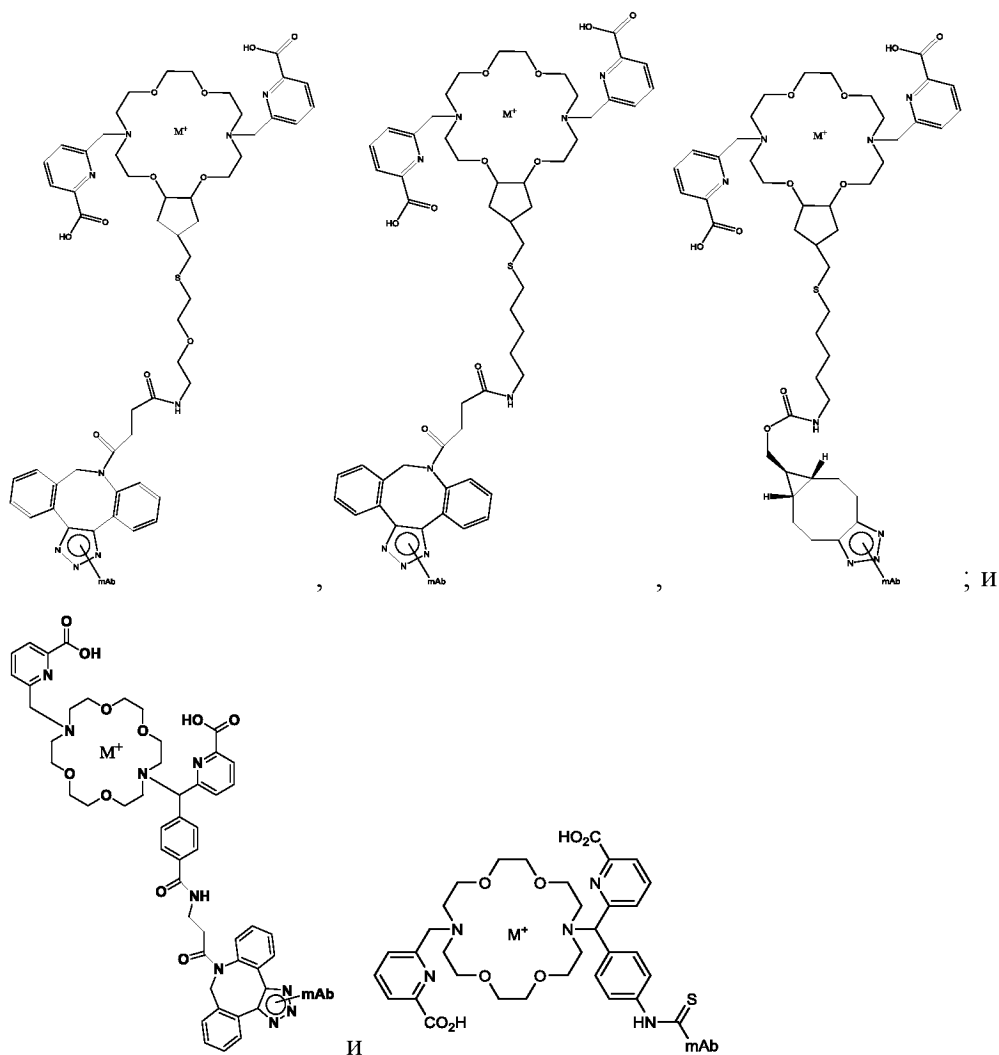
M^+ представляет собой ион радиоактивного металла, выбранный из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (^{225}Ac), радий-223 (^{223}Ra), висмут-213 (^{213}Bi), свинец-212 ($^{212}\text{Pb(II)}$ и/или $^{212}\text{Pb(IV)}$), тербий-149 (^{149}Tb), тербий-152 (^{152}Tb), тербий-155 (^{155}Tb), фермий-255 (^{255}Fm), торий-227 (^{227}Th), торий-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), аstat-211 (^{211}At), церий-134 (^{134}Ce), неодим-144 (^{144}Nd), лантан-132 (^{132}La), лантан-135 (^{135}La) и уран-230 (^{230}U);

L_1 отсутствует или представляет собой линкер; и

15 $m\text{Ab}$ представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

29. Радиоактивный иммуноконъюгат по п. 28, причем $m\text{Ab}$ представляет собой h11B6 или PSMB-127.

30. Радиоактивный иммуноконъюгат по п. 28, выбранный из группы, состоящей из:



5 где:

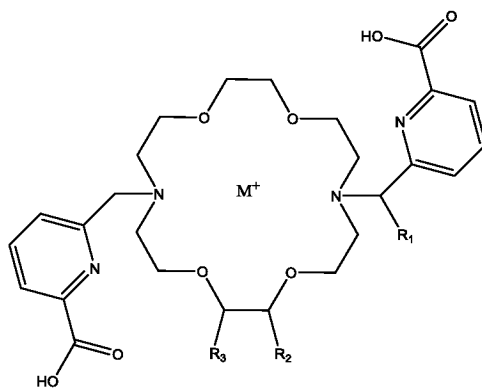
M^+ представляет собой ион радиоактивного металла, выбранный из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (^{225}Ac), радий-223 (^{223}Ra), висмут-213 (^{213}Bi), свинец-212 ($^{212}\text{Pb(II)}$ и/или $^{212}\text{Pb(IV)}$), тербий-149 (^{149}Tb), тербий-152 (^{152}Tb), тербий-155 (^{155}Tb), фермий-255 (^{255}Fm), торий-227 (^{227}Th), торий-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), аstat-211 (^{211}At), церий-134 (^{134}Ce), неодим-144 (^{144}Nd), лантан-132 (^{132}La), лантан-135 (^{135}La) и уран-230 (^{230}U); и

10 мАт представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

31. Иммуноконъюгат по п. 30, причем мАт представляет собой h11B6.

15

32. Способ получения радиоактивного иммуноконъюгата по п. 25, включающий:
взаимодействие иммуноконъюгата по п. 19 с ионом радиоактивного металла.
33. Способ по п. 32, в котором нацеливающий лиганд представляет собой антитело
или его антигенсвязывающий фрагмент.
34. Способ по п. 33, в котором антитело представляет собой h11B6 или PSMB-127.
35. Способ получения радиоактивного иммуноконъюгата формулы (I-M⁺),



где:

M⁺ представляет собой ион радиоактивного металла, выбранный из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (²²⁵Ac), радий-223 (²²³Ra), висмут-213 (²¹³Bi), свинец-212 (²¹²Pb(II) и/или ²¹²Pb(IV)), тербий-149 (¹⁴⁹Tb), тербий-152 (¹⁵²Tb), тербий-155 (¹⁵⁵Tb), фермий-255 (²⁵⁵Fm), торий-227 (²²⁷Th), торий-226 (²²⁶Th⁴⁺), астат-211 (²¹¹At), церий-134 (¹³⁴Ce), неодим-144 (¹⁴⁴Nd), лантан-132 (¹³²La), лантан-135 (¹³⁵La) и уран-230 (²³⁰U);

R₁ представляет собой водород, а R₂ представляет собой -L₁-R₄;

альтернативно R₁ представляет собой -L₁-R₄, а R₂ представляет собой

водород;

R₃ представляет собой водород;

альтернативно R₂ и R₃, взятые вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил, причем 5- или 6-членный циклоалкил необязательно замещен -L₁-R₄;

L₁ отсутствует или представляет собой линкер;

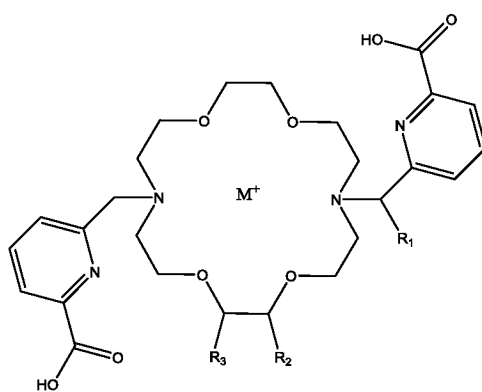
R₄ представляет собой алкинил или циклоалкинил;

включающий:

- (i) взаимодействие модифицированного полипептида с соединением по п. 1, причем модифицированный полипептид представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, состоящий из азидогруппы, с получением иммуноконъюгата; и
- 5 (ii) взаимодействие иммуноконъюгата с ионом радиоактивного металла с получением радиоактивного иммуноконъюгата формулы (I-M⁺).

36. Способ по п. 35, в котором антитело представляет собой h11B6.

10 37. Способ получения радиоактивного иммуноконъюгата формулы (I-M⁺),



где:

M⁺ представляет собой ион радиоактивного металла, выбранный из группы, состоящей из следующих: актиний-225 (²²⁵Ac), радий-223 (²²³Ra),
 15 висмут-213 (²¹³Bi), свинец-212 (²¹²Pb(II) и/или ²¹²Pb(IV)), тербий-149 (¹⁴⁹Tb),
 тербий-152 (¹⁵²Tb), тербий-155 (¹⁵⁵Tb), фермий-255 (²⁵⁵Fm), торий-227 (²²⁷Th),
 торий-226 (²²⁶Th⁴⁺), астат-211 (²¹¹At), церий-134 (¹³⁴Ce), неодим-144 (¹⁴⁴Nd),
 лантан-132 (¹³²La), лантан-135 (¹³⁵La) и уран-230 (²³⁰U);

R₁ представляет собой водород, а R₂ представляет собой -L₁-R₄;
 20 альтернативно R₁ представляет собой -L₁-R₄, а R₂ представляет собой водород;

R₃ представляет собой водород;
 альтернативно R₂ и R₃, взятые вместе с атомами углерода, к которым они
 присоединены, образуют 5- или 6-членный циклоалкил, причем 5- или 6-
 25 членный циклоалкил необязательно замещен -L₁-R₄;

L₁ отсутствует или представляет собой линкер;

R₄ представляет собой алкинил или циклоалкинил;

включающий:

- (i) взаимодействие модифицированного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, состоящего из азидной группы, с соединением по п. 1 с получением иммуноконъюгата; и
- (ii) взаимодействие иммуноконъюгата с ионом радиоактивного металла с получением радиоактивного иммуноконъюгата формулы $(I-M^+)$.

38. Способ по п. 25, в котором R_4 выбран из группы, состоящей из циклооктинила, бициклононила (BCN), дифтористого циклооктинила (DIFO), дибензоциклооктинила (DIBO), кето-DIBO, биарилазациклооктинонила (BARAC), дибензоазациклооктинила (DIBAC, DBCO, ADIBO), диметоксиазациклооктинила (DIMAC), дифторбензоциклооктинила (DIFBO), монобензоциклооктинила (MOBO) и тетраметоксидибензоциклооктинила (TMDIBO).

39. Способ по п. 37, в котором антитело представляет собой h11B6 или PSMB-127.

40. Фармацевтическая композиция, содержащая иммуноконъюгат по п. 19 и фармацевтически приемлемый носитель.

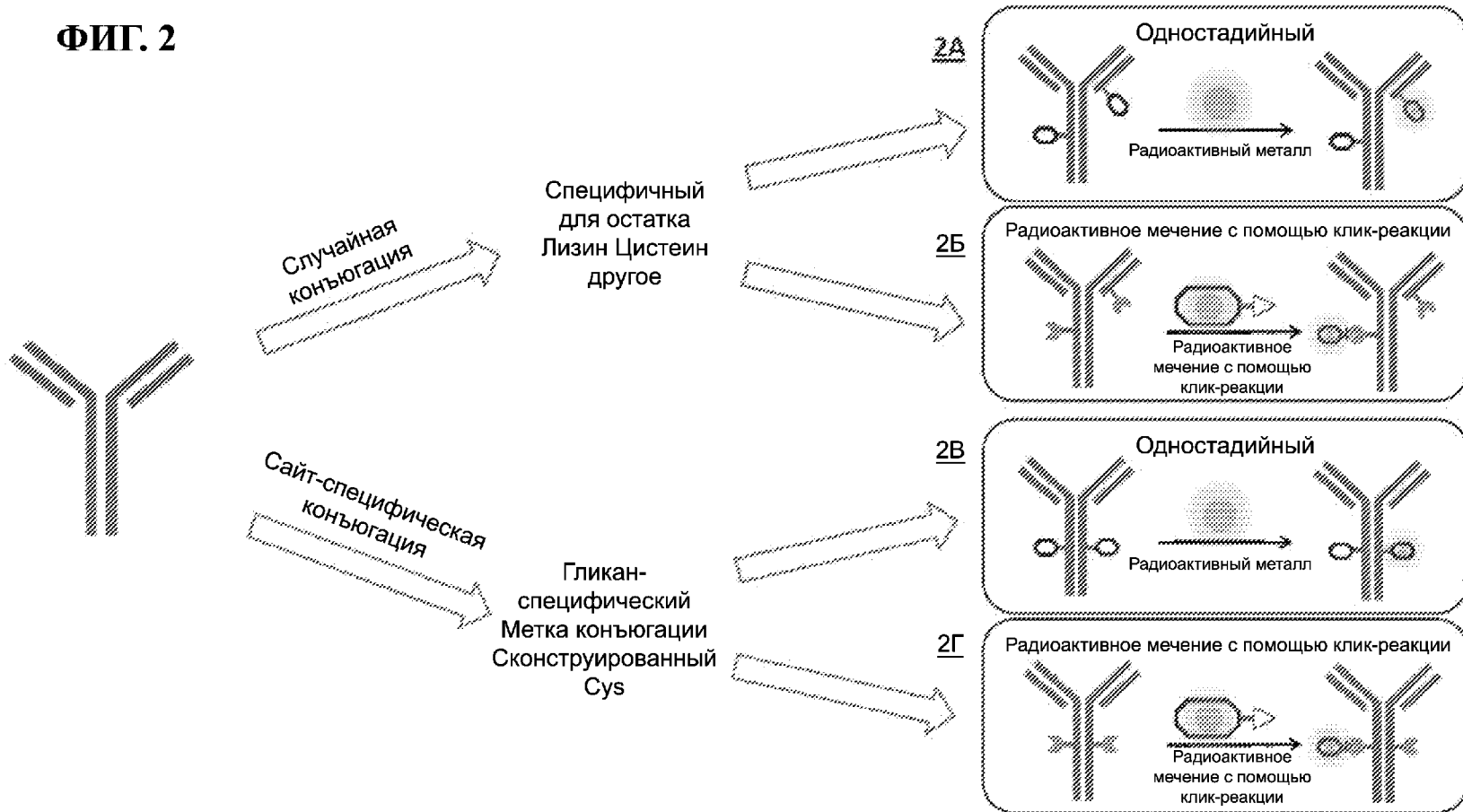
41. Способ селективного воздействия на неопластические клетки для лучевой терапии у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по п. 40.

42. Способ лечения неопластического заболевания или расстройства у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по п. 40.

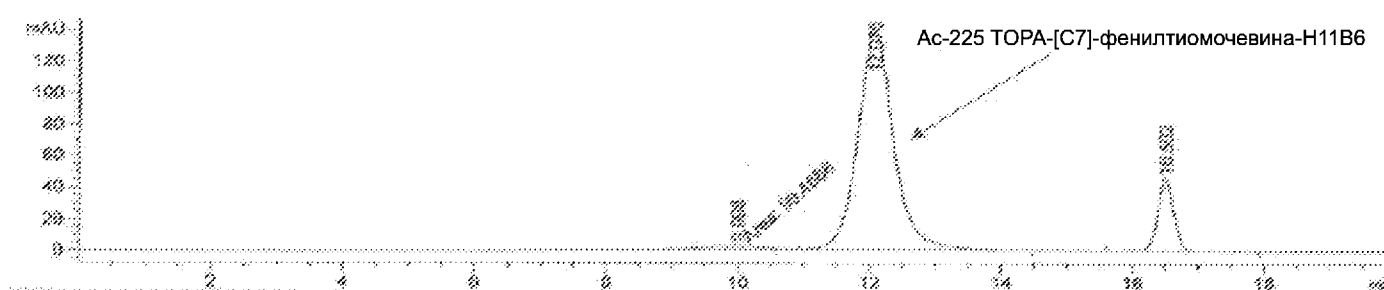
43. Способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по п. 40.

44. Фармацевтическая композиция, содержащая радиоактивный иммуноконъюгат по п. 25 и фармацевтически приемлемый носитель.
- 5 45. Способ селективного воздействия на неопластические клетки для лучевой терапии у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по п. 44.
- 10 46. Способ лечения неопластического заболевания или расстройства у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по п. 44.
- 15 47. Способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по п. 44.

ФИГ. 2

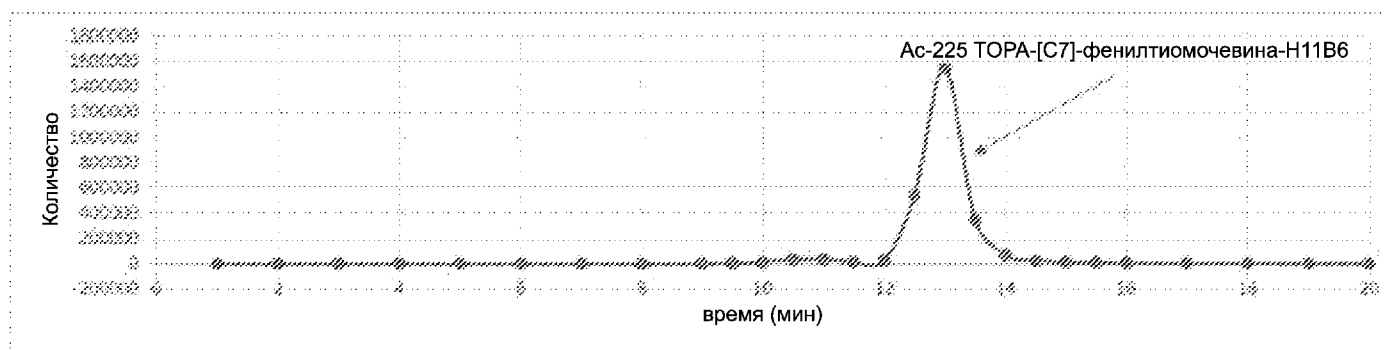


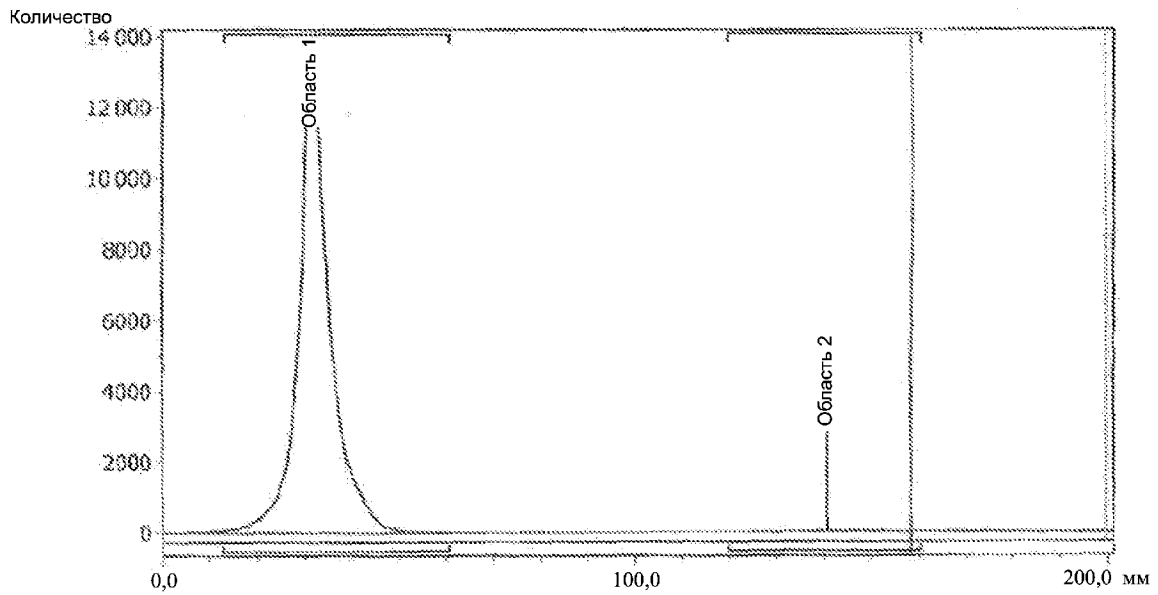
ФИГ. 4А



4/12

ФИГ. 4Б



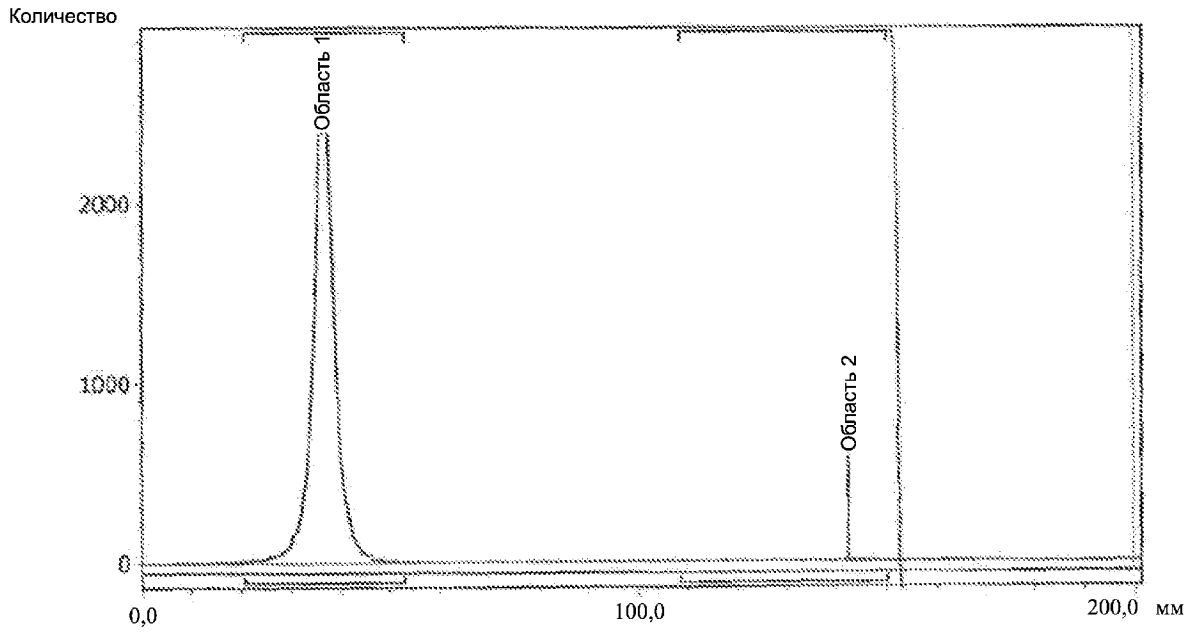


Области: Тс-99m

Название	Начало (мм)	Конец (мм)	Удерживание (RF)	Площадь (подсчеты)	% от интересующей области	% от общего
Область 1	13,0	60,7	0,157	11 9300	99,51	99,04
Область 2	119,8	150,6	0,704	588	0,49	0,49
2 пика				11 9688	100,00	99,53

Скан 1

ФИГ. 5

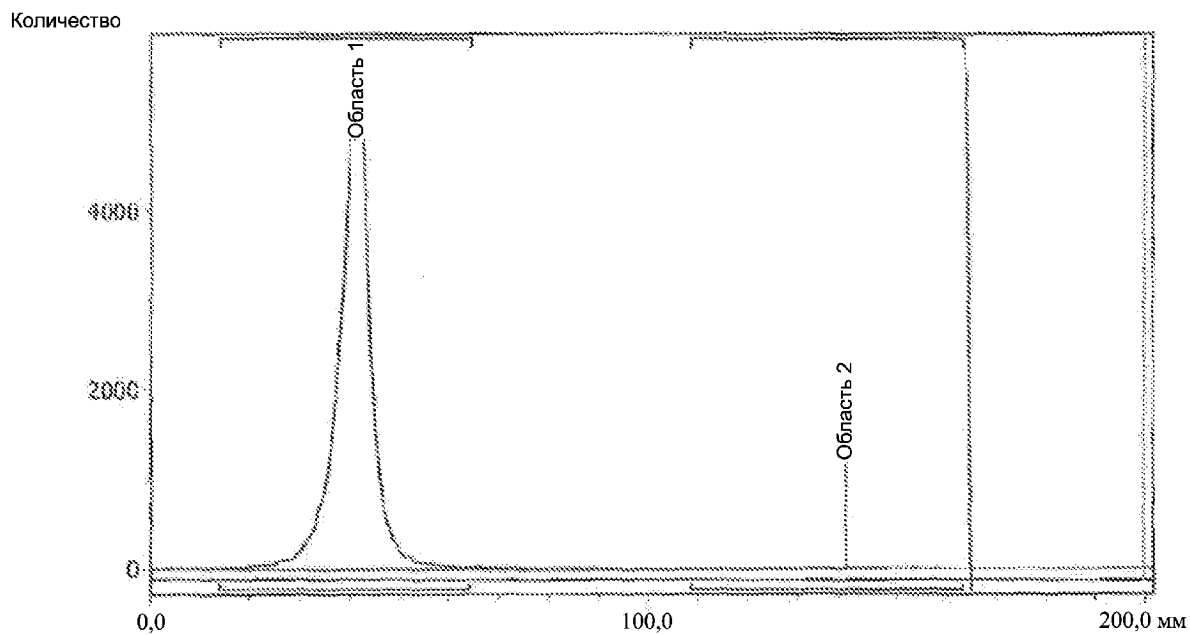


Области: Тс-29m

Название	Начало (мм)	Конец (мм)	Удерживание (RF)	Площадь (подсчеты)	% от интересующей области	% от общего
Область 1	20,8	52,9	0,183	15709	99,44	98,02
Область 2	108,5	150,2	0,713	88	0,56	0,55
2 пика				15797	100,00	98,56

Скан 2

ФИГ. 6

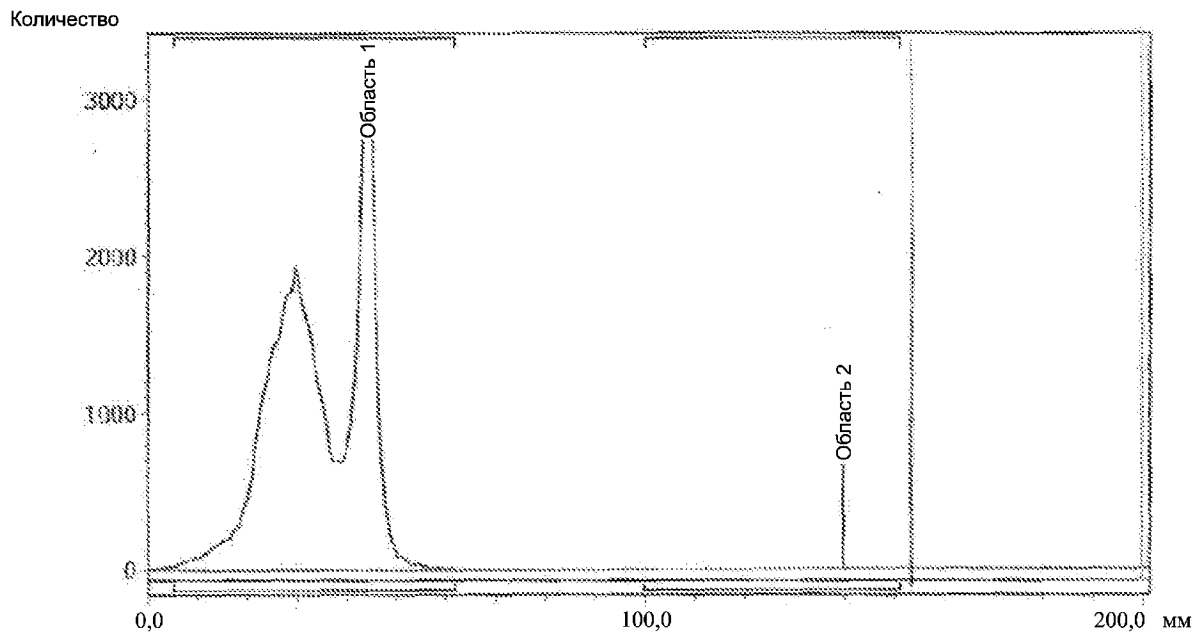


Области: Тс-99m

Название	Начало (мм)	Конец (мм)	Удерживание (RF)	Площадь (подсчеты)	% от интересующей области	% от общего
Область 1	13.9	84.2	0.204	47456	98.86	97.62
Область 2	106.5	163.2	0.700	546	1.14	1.12
2 пика				48002	100.00	98.75

Скан 3

ФИГ. 7

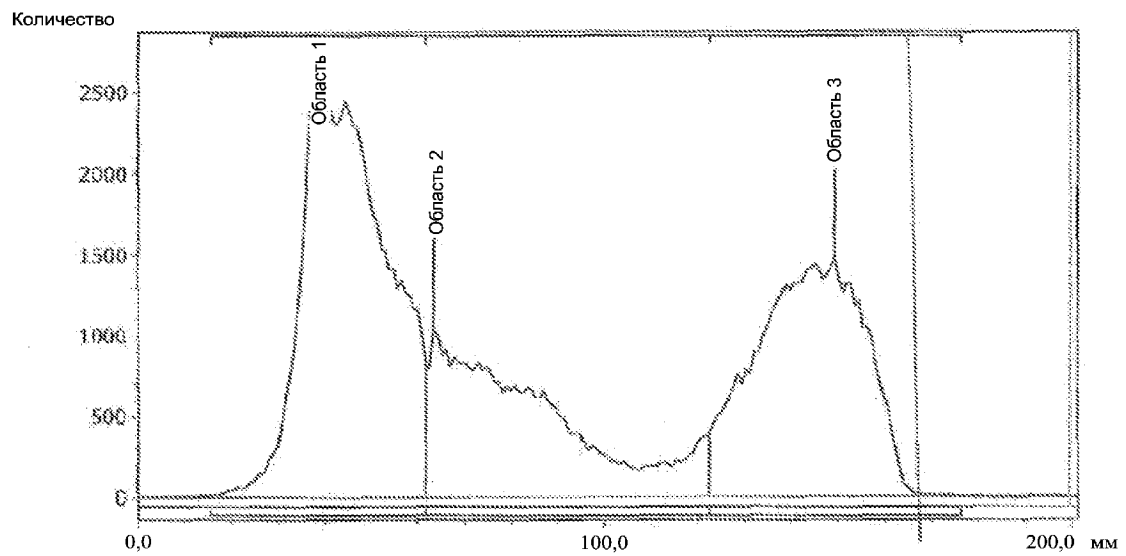


Области: Tc-99m

Название	Начало (мм)	Конец (мм)	Удерживание (RF)	Площадь (подсчеты)	% от интересующей области	% от общего
Область 1	5,2	61,6	0,222	47657	99,78	99,37
Область 2	99,8	151,0	0,700	106	0,22	0,32
2 пика				47763	100,00	99,59

Скан 4

ФИГ. 8

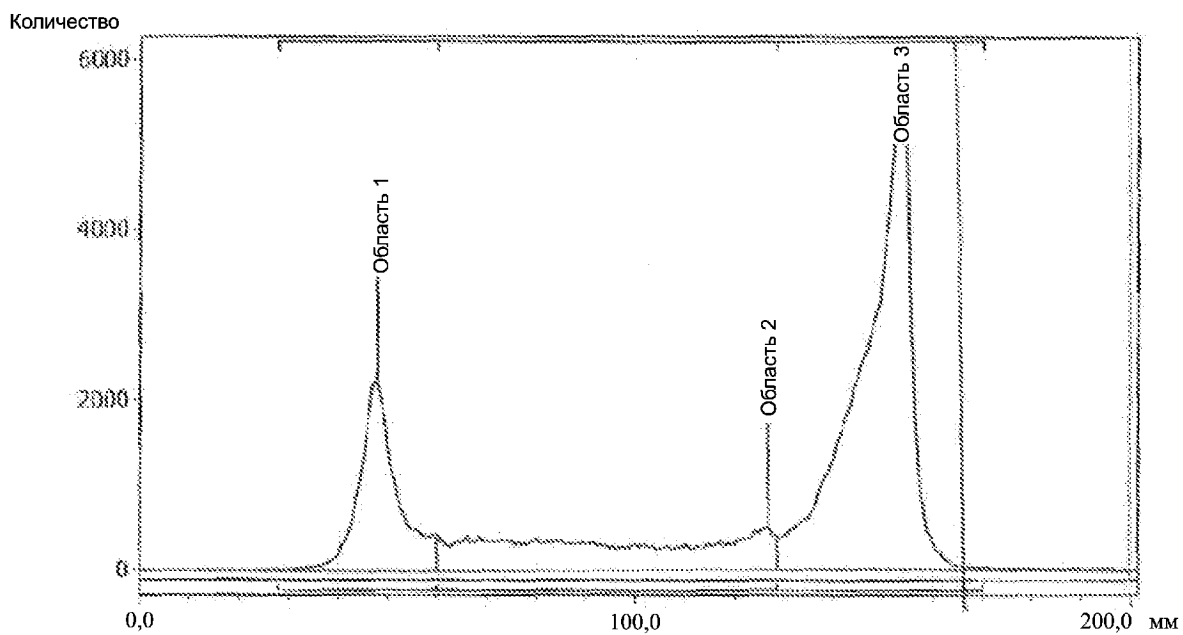


Области: Is: 996

Название	Начало (мм)	Конец (мм)	Удерживание (RF)	Площадь (подсчеты)	% от интересующей области	% от общего
Область 1	15,6	61,6	0,191	64 009	43,57	43,54
Область 2	61,6	122,4	0,317	34 912	23,77	23,75
Область 3	122,4	176,2	0,748	47 976	32,66	32,53
3 пика				14 6897	100,00	89,82

Скан 5

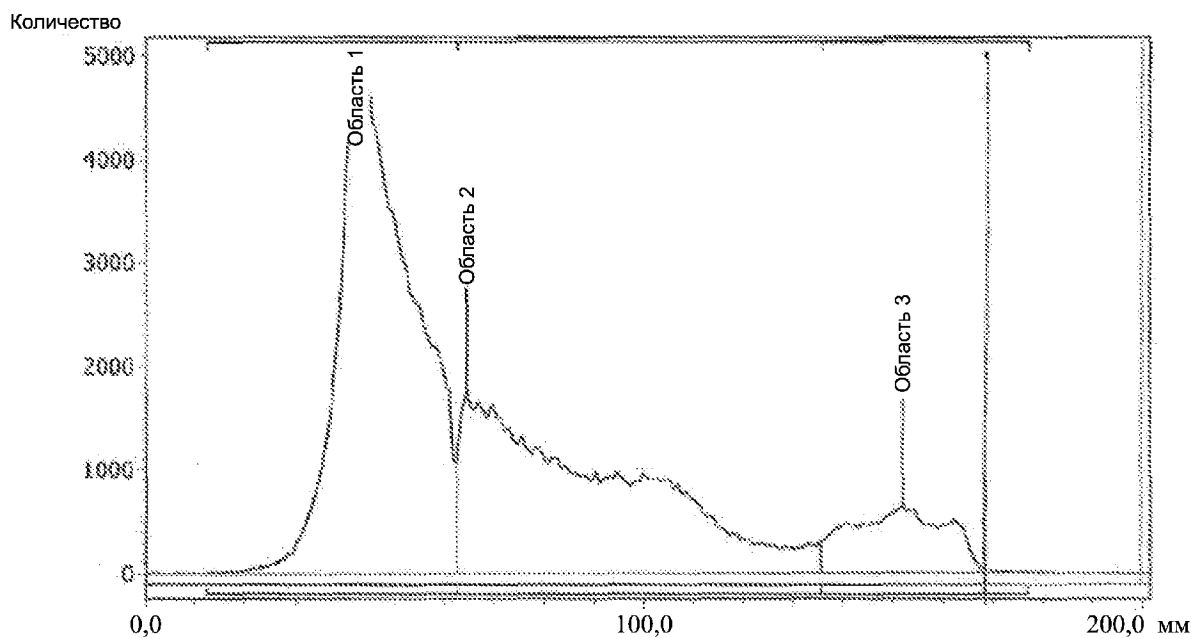
ФИГ. 9



Области: Is-99m

Название	Начало (мм)	Конец (мм)	Удерживание (RF)	Площадь (подсчеты)	% от интересующей области	% от общего
Область 1	27,8	59,9	0,239	21986	18,14	18,08
Область 2	59,9	128,5	0,635	25385	20,94	20,98
Область 3	128,5	170,1	0,770	73853	60,92	60,75
3 пика				121224	100,00	99,71

Скан 6
ФИГ. 10

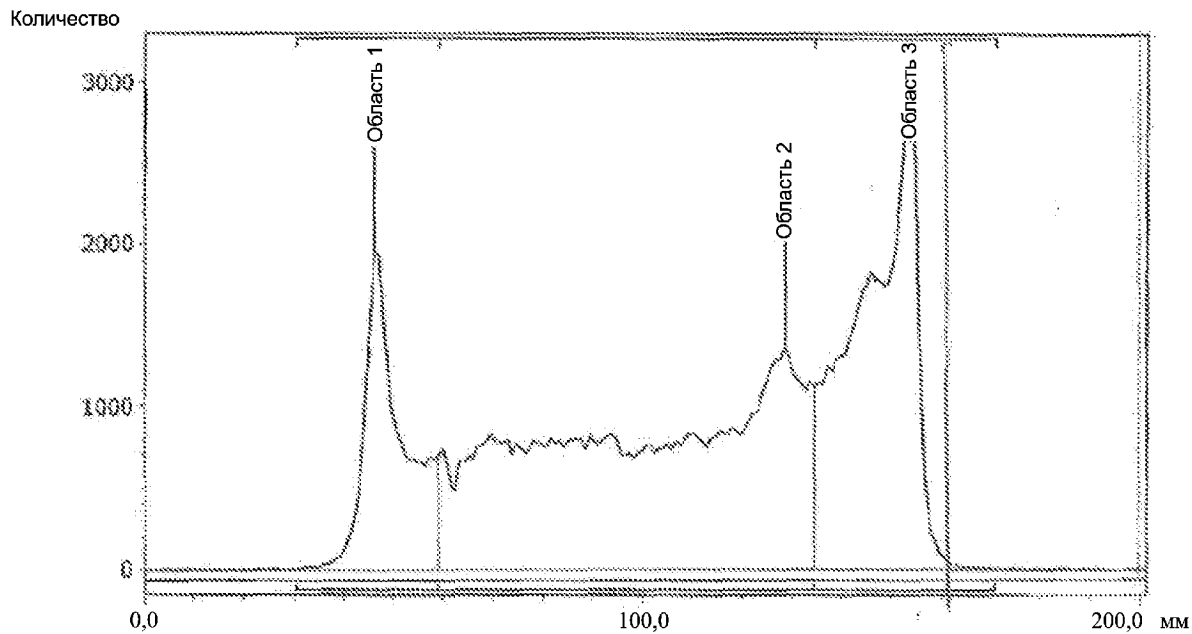


Области: Тс-98m

Название	Начало (мм)	Конец (мм)	Удерживание (RF)	Площадь (подсчеты)	% от интересующей области	% от общего
Область 1	12,1	62,5	0,209	98 715	52,66	52,63
Область 2	62,5	135,4	0,322	71 199	37,68	37,96
Область 3	135,4	177,1	0,761	17 545	9,36	9,35
3 пика				187 459	100,00	99,94

Скан 7

ФИГ. 11



Области: Tc-99m

Название	Начало (мм)	Конец (мм)	Удерживание (RF)	Площадь (подсчеты)	% от интересующей области	% от общего
Область 1	30,4	59,0	0,231	19 283	14,05	14,03
Область 2	59,0	134,5	0,644	72 388	52,73	52,59
Область 3	134,5	171,0	0,770	45 615	33,23	33,18
3 пика				137 284	100,00	99,86

Скан 8

ФИГ. 12