

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202392978 (13) A1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2023.12.15(51) Int. Cl. A61K 51/04 (2006.01)  
A61K 51/08 (2006.01)  
C07B 59/00 (2006.01)(22) Дата подачи заявки  
2022.04.22

## (54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

(31) 63/179,089

(72) Изобретатель:

(32) 2021.04.23

Бьюрак Эрик С., Форбс Джон Р.,  
Симмз Райан У. (СА)

(33) US

(86) PCT/US2022/025933

(74) Представитель:

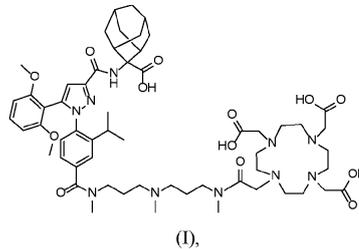
(87) WO 2022/226299 2022.10.27

Медведев В.Н. (RU)

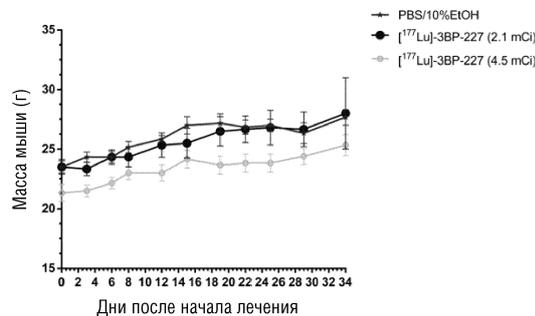
(71) Заявитель:

ФБЮЖН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ  
ИНК. (СА)

(57) Настоящее изобретение относится к способам лечения субъекта, больного раком, с помощью  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтического препарата, который содержит  $^{225}\text{Ac}$ , хелатированный с соединением формулы I



где соединение связывается с рецептором нейротензина 1 (NTSR1) и не проникает через гематоэнцефалический барьер и где  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят субъекту в дозе менее чем 10 МБк/кг массы тела субъекта или вводят в виде однократной дозы менее чем 40 МБк.



A1

202392978

202392978

A1

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-579778EA/030

### СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

#### СВЯЗАННАЯ ЗАЯВКА

По настоящей заявке испрашивается приоритет по предварительной заявке США № 63/179089, поданной 23 апреля 2021 года, все содержание которой настоящим включено путем ссылки для всех целей.

#### ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Нейротензин, нейропептид из 13 аминокислот, участвует в регуляции высвобождения лютеинизирующего гормона и пролактина и имеет значительное взаимодействие с дофаминергической системой. Нейротензин связывается с рецепторами нейротензина, в число которых входит, среди прочего, рецептор нейротензина 1 (NTSR1).

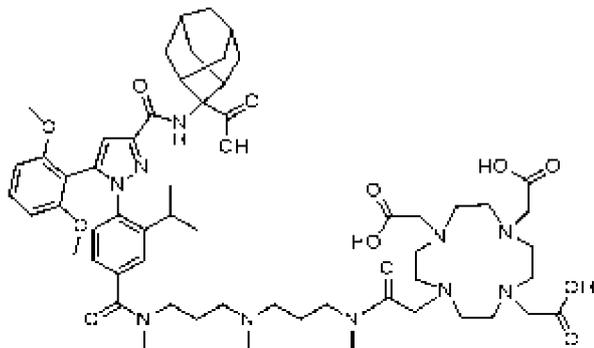
NTSR1 экспрессируется преимущественно в центральной нервной системе и кишечнике (гладкие мышцы, слизистая оболочка и нервные клетки). Кроме того, NTSR1 сильно экспрессируется в организме млекопитающих и организме человека, в частности, в некоторых неопластических клетках при ряде опухолевых показаниях, тогда как экспрессия NTSR1 в большинстве других тканей организма млекопитающих и человека либо отсутствует, либо является низкой.

Из-за такой избирательной экспрессии NTSR1 считается подходящей мишенью для диагностических агентов, а также лекарственных средств для лечения рака, такого как колоректальный рак и рак поджелудочной железы.

Существует необходимость в разработке новых способов использования связывателей NTSR1 для лечения рака.

#### СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к способу лечения рака, где указанный способ включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества радиофармацевтического препарата актиния-225 ( $^{225}\text{Ac}$ ), причем указанный радиофармацевтический препарат  $^{225}\text{Ac}$  содержит  $^{225}\text{Ac}$ , хелатированный с соединением формулы I:



(I),

где соединение связывается с NTSR1 и не проникает через гематоэнцефалический барьер, и где указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят указанному

субъекту в дозе менее 10 МБк/кг массы тела указанного субъекта или вводят в виде однократной дозы менее 40 МБк.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанным субъектом является животное (например, мышь) или человек (например, пациент). В некоторых вариантах осуществления изобретения указанным субъектом является человек (например, пациент, страдающий раком).

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный <sup>225</sup>Ac-радиофармацевтический препарат вводят в дозе менее чем 8 МБк/кг (например, менее чем 6 МБк/кг, менее чем 4 МБк/кг, менее чем 2 МБк/кг, менее чем 1 МБк/кг или менее чем 0,5 МБк/кг) массы тела указанного субъекта. В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный <sup>225</sup>Ac-радиофармацевтический препарат вводят в дозе менее чем 1 МБк/кг массы тела указанного субъекта.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный <sup>225</sup>Ac-радиофармацевтический препарат вводят в дозе менее чем 250 кБк/кг (например, около 225 кБк/кг или меньше, около 200 кБк/кг или меньше, около 175 кБк/кг или меньше, около 150 кБк/кг или меньше, около 125 кБк/кг или меньше, около 100 кБк/кг или меньше, около 75 кБк/кг или меньше, около 50 кБк/кг или меньше) массы тела указанного субъекта.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный <sup>225</sup>Ac-радиофармацевтический препарат вводят в дозе 50-250 кБк/кг (например, 50-225 кБк/кг, 50-200 кБк/кг, 50-175 кБк/кг, 50-150 кБк/кг, 50-125 кБк/кг, 50-100 кБк/кг, 75-250 кБк/кг, 75-225 кБк/кг, 75-200 кБк/кг, 75-175 кБк/кг, 75-150 кБк/кг, 75-125 кБк/кг, 75-100 кБк/кг, 100-250 кБк/кг, 100-225 кБк/кг, 100-200 кБк/кг, 100-175 кБк/кг, 100-150 кБк/кг, 100-125 кБк/кг) массы тела указанного субъекта. Каждую дозу можно вводить однократно или несколько раз (например, 2 раза, 3 раза, 4 раза или более, при необходимости). В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный <sup>225</sup>Ac-радиофармацевтический препарат вводят в дозе 75-225 кБк/кг массы тела указанного субъекта. В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный <sup>225</sup>Ac-радиофармацевтический препарат вводят в дозе 100-200 кБк/кг массы тела указанного субъекта.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный <sup>225</sup>Ac-радиофармацевтический препарат вводят в дозе около 250 кБк/кг, около 225 кБк/кг, около 200 кБк/кг, около 175 кБк/кг, около 150 кБк/кг, около 125 кБк/кг, около 100 кБк/кг, около 75 кБк/кг или около 50 кБк/кг массы тела указанного субъекта. Каждую дозу можно вводить однократно или несколько раз (например, 2 раза, 3 раза, 4 раза или более, при необходимости). В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный <sup>225</sup>Ac-радиофармацевтический препарат вводят в дозе около 150 кБк/кг массы тела указанного субъекта.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный <sup>225</sup>Ac-радиофармацевтический препарат вводят указанному субъекту в виде однократной дозы менее чем 30 МБк, например, 1-28 МБк, 3-25 МБк, 5-20 МБк, 5-15 МБк или 10-15 МБк. Как используется в настоящем документе, «однократная доза» обычно относится к разовой

дозе. Для практического осуществления способа по настоящему изобретению указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат может вводиться в виде однократной дозы многократно (например, 2 раза, 3 раза, 4 раза или более, при необходимости), то есть вводиться несколькими дозами. Когда указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят в виде однократной дозы несколько раз, каждая однократная доза может быть одинаковой или различной.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят указанному субъекту в виде однократной дозы менее чем 20 МБк. В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят указанному субъекту в виде однократной дозы 5-15 МБк.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят указанному субъекту в виде однократной дозы около 6 МБк, около 8 МБк, около 10 МБк, около 12 МБк, около 14 МБк, около 16 МБк или около 18 МБк.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят указанному субъекту в виде однократной дозы около 10 МБк.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способ по настоящему изобретению может быть использован для лечения рака, выбранного из группы, включающей колоректальный рак, аденокарциному протоков поджелудочной железы, мелкоклеточный рак легких, рак предстательной железы, рак молочной железы, менингиому, саркому Юинга, мезотелиому плевры, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легких, желудочно-кишечные стромальные опухоли, лейомиому матки и Т-клеточную лимфому кожи.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный рак выбран из одной из следующих распространенных, метастатических и/или рецидивирующих солидных опухолей, экспрессирующих NTSR1: аденокарцинома протоков поджелудочной железы (PDAC), плоскоклеточный рак головы и шеи (SCCHN), колоректальный рак (CRC), рак желудка, нейроэндокринно-дифференцированный (NED) рак предстательной железы и саркома Юинга.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный рак представляет собой колоректальный рак, аденокарциному протоков поджелудочной железы, мелкоклеточный рак легких, рак предстательной железы, рак молочной железы, менингиому или саркому Юинга.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанный рак представляет собой колоректальный рак или аденокарциному протоков поджелудочной железы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способ по настоящему изобретению дополнительно включает введение визуализирующего агента, который содержит радиоактивный изотоп, хелатированный соединением формулы I, в качестве

диагностического средства для определения пригодности субъекта, проходящего лечение (например, больного раком), в отношении экспрессии NTSR1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения радиоактивный изотоп выбран из группы, включающей  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{99m}\text{Tc}$  и  $^{111}\text{In}$ . В конкретных вариантах осуществления изобретения радиоактивный изотоп представляет собой  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{89}\text{Zr}$  или  $^{111}\text{In}$ .

В различных вариантах осуществления изобретения, описанных выше, указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят внутривенно.

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

### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР**

**ФИГ. 1** представляет собой схему, изображающую среднюю массу животных по группе  $\pm$  стандартные отклонения (г) при лучевой терапии [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 в дозах 2,1 мКи и 4,5 мКи.

**ФИГ. 2** представляет собой схему, изображающую среднюю массу животных по группе  $\pm$  стандартные отклонения (г) при лучевой терапии [ $^{225}\text{Ac}$ ]-ЗВР-227 в дозах 1 мКи и 3 мКи.

**ФИГ. 3** представляет собой схему, изображающую средние по группе объемы опухолей животных  $\pm$  стандартные отклонения ( $\text{мм}^3$ ) при лучевой терапии [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 в дозах 2,1 мКи и 4,5 мКи. Объем опухоли (TV) рассчитывали как  $\text{TV}=0,52 \times (\text{L} \times \text{W}^2)$ , где L (длина) представляет собой самый длинный диаметр опухоли и W (ширина) представляет собой самый короткий диаметр опухоли.

**ФИГ. 4** представляет собой схему, изображающую средние по группе объемы опухолей животных  $\pm$  стандартные отклонения ( $\text{мм}^3$ ) при лучевой терапии [ $^{225}\text{Ac}$ ]-ЗВР-227 в дозах 1 мКи и 3 мКи. Объем опухоли (TV) рассчитывали как  $\text{TV}=0,52 \times (\text{L} \times \text{W}^2)$ , где L (длина) представляет собой самый длинный диаметр опухоли и W (ширина) представляет собой самый короткий диаметр опухоли.

**ФИГ. 5** представляет собой схему, изображающую средние процентные относительные массы  $\pm$  стандартные отклонения при лучевой терапии [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 в дозах 2,1 мКи и 4,5 мКи. Процент относительной массы рассчитывали для данного животного как процент его массы в день n по сравнению с его массой в день 0.

**ФИГ. 6** представляет собой схему, изображающую средние процентные относительные массы  $\pm$  стандартные отклонения при лучевой терапии [ $^{225}\text{Ac}$ ]-ЗВР-227 в дозах 1 мКи и 3 мКи. Процент относительной массы рассчитывали для данного животного как процент его массы в день n по сравнению с его массой в день 0.

**ФИГ. 7** представляет собой схему, изображающую средние относительные объемы опухоли в группе  $\pm$  стандартные отклонения при лучевой терапии [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 в дозах 2,1 мКи и 4,5 мКи. Относительный объем опухоли рассчитывали для данной мыши как отношение объема опухоли в день n к объему опухоли в день 0.

**ФИГ. 8** представляет собой схему, изображающую средние относительные объемы опухоли в группе  $\pm$  стандартные отклонения при лучевой терапии  $[^{225}\text{Ac}]\text{-ЗВР-227}$  в дозах 1 мКи и 3 мКи. Относительный объем опухоли рассчитывали для данной мыши как отношение объема опухоли в день  $n$  к объему опухоли в день 0.

**ФИГ. 9** представляет собой схему, показывающую процент регрессии опухоли при лучевой терапии  $[^{177}\text{Lu}]\text{-ЗВР-227}$  в дозах 2,1 мКи и 4,5 мКи. Регрессию опухоли рассчитывали как процент среднего относительного объема опухоли данной терапевтической группы по сравнению со средним относительным объемом опухоли контрольной группы в данный день.

**ФИГ. 10** представляет собой схему, показывающую процент регрессии опухоли при лучевой терапии  $[^{225}\text{Ac}]\text{-ЗВР-227}$  в дозах 1 мКи и 3 мКи. Регрессию опухоли рассчитывали как процент среднего относительного объема опухоли данной терапевтической группы по сравнению со средним относительным объемом опухоли контрольной группы в данный день.

На **ФИГ. 11** схематично изображены кривые выживаемости животных при лучевой терапии  $[^{177}\text{Lu}]\text{-ЗВР-227}$  в дозах 2,1 мКи и 4,5 мКи и лучевой терапии  $[^{225}\text{Ac}]\text{-ЗВР-227}$  в дозах 1 мКи и 3 мКи, где выживаемость представляет собой процент выживших мышей из исходной когорты ( $n=6$ ).

## **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

### **Определения**

Как используется в настоящем документе, термин «около» или «приблизительно», когда он используется по отношению к количественному значению, включает в себя само указанное количественное значение, если специально не оговорено иное. Как используется в настоящем документе, термин «около» или «приблизительно» относится к отклонению  $\pm 10\%$  от указанного количественного значения, если иное не указано или не вытекает из контекста. Например, доза около 100 кБк/кг означает дозу  $100 \pm 10\%$  кБк/кг, то есть 90-110 кБк/кг.

Как используется в настоящем документе, термин «связывать» или «связывание» нацеливающего фрагмента означает по меньшей мере временное взаимодействие или ассоциацию с молекулой-мишенью, например, связывание с NTSR1, как описано в настоящем документе.

Термин «рак» относится к любому раку, вызванному пролиферацией злокачественных неопластических клеток, такому как опухоли, новообразования, карциномы, саркомы, лейкозы и лимфомы. «Рак солидной опухоли» представляет собой рак, включающий аномальную массу ткани, например, саркомы, карциномы и лимфомы. Термины «гематологический рак» или «жидкостный рак», используемые в настоящем документе взаимозаменяемо, обозначают рак, присутствующий в жидкости организма, например, лейкоз, лимфому и множественную миелому.

Как используется в настоящем документе, фразы «совместное введение», «введение в комбинации» или «комбинированное введение» означают, что два или более агента

вводятся субъекту одновременно или в пределах интервала, так что может иметь место перекрытие влияния каждого агента на субъект. Таким образом, два или более агентов, которые вводятся в комбинации, не обязательно вводить вместе. В некоторых вариантах осуществления изобретения два или более агентов вводятся в течение 24 часа (например, через 12, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 час) друг от друга или около 60, 30, 15, 10, 5 или 1 минуту друг от друга. В некоторых вариантах осуществления изобретения два или более агентов вводятся вместе, например, в одном и том же составе или, например, в разных составах, но в одно и то же время.

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

Как используется в настоящем документе, термин «соединение» подразумевает включение всех стереоизомеров, геометрических изомеров и таутомеров изображенных структур.

Соединения, перечисленные или описанные в настоящем документе, могут быть асимметричными (например, иметь один или несколько стереоцентров). Подразумеваются все стереоизомеры, такие как энантиомеры и диастереомеры, если не указано иное. Соединения, обсуждаемые в настоящем изобретении, которые содержат асимметрично замещенные атомы углерода, могут быть выделены в оптически активных или рацемических формах. В данной области известны способы получения оптически активных форм из оптически активных исходных веществ, например, путем разделения рацемических смесей или путем стереоселективного синтеза.

Термин «эффективное количество» агента (например,  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтического препарата), как используется в настоящем документе, означает количество, достаточное для достижения полезных или желаемых результатов, таких как клинические результаты, и, как таковое, «эффективное количество» зависит от контекста, в котором оно применяется. Например, в терапевтических целях «эффективное количество» может представлять собой количество, достаточное для лечения или по меньшей мере частичного купирования симптомов расстройства и его осложнений и/или для существенного улучшения по меньшей мере одного симптома, связанного с заболеванием или медицинским состоянием. Например, при лечении рака агент или соединение, которое уменьшает, предотвращает, задерживает, подавляет или останавливает любой симптом заболевания или состояния, будет терапевтически эффективным. Терапевтически эффективного количества агента или соединения не требуется для лечения заболевания или состояния, но может, например, обеспечивать лечение заболевания или состояния, так что начало заболевания или состояния задерживается, затрудняется или предотвращается, так что симптомы заболевания или состояния уменьшаются, или так что изменяется течение заболевания или состояния. Например, заболевание или состояние может стать менее тяжелым и/или выздоровление человека ускорится. Эффективное количество можно вводить путем введения одной дозы или нескольких (например, по меньшей мере двух, по

меньшей мере трех, по меньшей мере четырех, по меньшей мере пяти или по меньшей мере шести) доз.

Термин «фармацевтическая композиция», как используется в настоящем документе, представляет собой композицию, содержащую  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат описанный в настоящем документе, в состав которого входит фармацевтически приемлемый эксципиент. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическую композицию изготавливают или продают с одобрения государственного регулирующего органа как часть терапевтической схемы лечения заболевания у млекопитающих. Фармацевтические композиции могут быть составлены, например, для перорального введения в виде стандартной лекарственной формы (например, таблетка, капсула, каплет, желатиновая капсула или сироп); для местного применения (например, в виде крема, геля, лосьона или мази); для внутривенного введения (например, в виде стерильного раствора, не содержащего частиц эмболов, и в системе растворителей, подходящей для внутривенного применения); или в любом другом составе, описанном в настоящем документе.

«Фармацевтически приемлемый эксципиент», как используется в настоящем документе, относится к любому ингредиенту, кроме соединений, описанных в настоящем документе (например, к несущей среде, способной суспендировать или растворять активное соединение), и имеющему нетоксичные и невоспалительные свойства для пациента. Эксципиенты могут включать, например: антиадгезивы, антиоксиданты, связующие вещества, покрытия, средства для сжатия, разрыхлители, красители (окрашивающие агенты), смягчающие средства, эмульгаторы, наполнители (разбавители), пленкообразователи или покрытия, ароматизаторы, отдушки, лубриканты (усилители текучести), смазочные вещества, консерванты, печатные краски, радиозащитные средства, сорбенты, суспендирующие или диспергирующие агенты, подсластители или кристаллизационную воду. Примеры эксципиентов включают, но этим не ограничиваются: аскорбиновую кислоту, гистидин, фосфатный буфер, бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), карбонат кальция, фосфат кальция (двуосновный), стеарат кальция, кроскармеллозу, сшитый поливинилпирролидон, лимонную кислоту, кросповидон, цистеин, этилцеллюлозу, желатин, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, лактозу, стеарат магния, мальтитол, маннит, метионин, метилцеллюлозу, метилпарабен, микрокристаллическую целлюлозу, этиленполигликоль, поливинилпирролидон, повидон, прежелатинизированный крахмал, пропилпарабен, ретинилпальмитат, шеллак, диоксид кремния, карбоксиметилцеллюлозу натрия, цитрат натрия, гликолят натрия крахмала, сорбит, крахмал (кукурузный), стеариновую кислоту, стеариновую кислоту, сахарозу, тальк, диоксид титана, витамин А, витамин Е, витамин С и ксилит..

Термин «фармацевтически приемлемая соль», как используется в настоящем документе, представляет собой такие соли описанных в настоящем документе соединений, которые, в пределах здравого медицинского заключения, подходят для использования в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности,

раздражения или аллергической реакции. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области. Например, фармацевтически приемлемые соли описаны: Berge et al., *J. Pharmaceutical Sciences* 66:1-19, 1977, и в обзоре *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (Eds. P.H. Stahl and C.G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008. Соли могут быть получены *in situ* в процессе окончательного выделения и очистки описанных в настоящем документе соединений или отдельно путем взаимодействия группы свободного основания с подходящей органической кислотой.

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

Типичные соли присоединения кислот включают, среди прочих, ацетат, адипат, альгинат, аскорбат, аспартат, бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, фумарат, глюкогептонат, глицерофосфат, гемисульфат, гептонат, гексаноат, гидробромид, гидрохлорид, гидройодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пикрат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, толуолсульфонат, ундеканат, валерат. Типичные соли щелочных или щелочноземельных металлов включают соли натрия, лития, калия, кальция и магния, а также нетоксичных катионов аммония, четвертичного аммония и амина, включая, помимо прочего, аммоний, тетраметиламмоний, тетраэтиламмоний, метиламин, диметиламин, триметиламин, триэтиламин и этиламин.

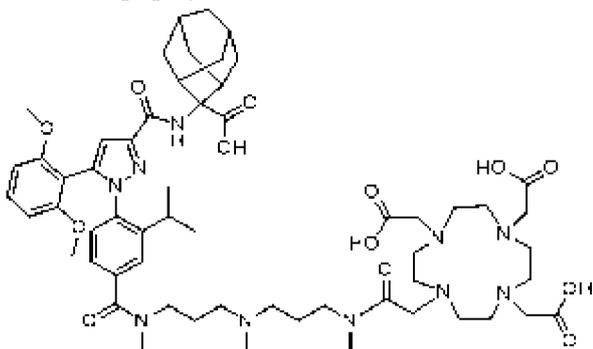
Под «субъектом» подразумевается человек (например, пациент) или животное, отличное от человека (например, млекопитающее).

Как используется в настоящем документе, термин «нацеливающий фрагмент» относится к любой молекуле или любой части молекулы, которая способна связываться с заданной мишенью. Термин «нацеливающий фрагмент NTSR1» относится к нацеливающему фрагменту, который способен связываться с молекулой NTSR1.

Как используется в настоящем документе, и, как хорошо понятно в данной области техники, «лечить» состояние или «лечение» состояния (например, описанных в настоящем документе состояний, таких как рак) подразумевает подход к получению полезных или желаемых результатов, таких как клинические результаты. Полезные или желаемые результаты могут включать, но этим не ограничиваются, облегчение или улучшение одного или нескольких симптомов или состояний; уменьшение степени заболевания, расстройства или состояния; стабилизацию (то есть не ухудшение) состояние заболевания, расстройства или состояния; предотвращение распространения заболевания, расстройства или состояния; задержку или замедление прогрессирования заболевания, расстройства или состояния; улучшение или временное ослабление заболевания, расстройства или состояния; и ремиссию (частичную или полную), определяемую или неопределяемую. «Временное ослабление» заболевания, расстройства или состояния означает, что степень и/или нежелательные клинические проявления заболевания, расстройства или состояния уменьшаются и/или временной ход прогрессирования замедляется или удлиняется по сравнению со степенью или течением времени при отсутствии лечения.

### Способы лечения

Рецептор нейротензина 1 (NTSR1) является подтвержденной раковой мишенью, которая, как известно, активируется при ряде типов солидных опухолей, включая колоректальный рак и рак поджелудочной железы, с ограниченными возможностями лечения и неудовлетворенными медицинскими потребностями. Таргетная альфа-терапия (ТАТ) позволяет доставлять высокоэнергетические изотопы, излучающие альфа-частицы (например, актиний-225 или  $^{225}\text{Ac}$ ) к целевым опухолевым клеткам. В настоящем описании представлены доклинические исследования терапевтической эффективности терапевтического агента, нацеленного на NTSR1, то есть  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтического препарата (далее также называемого [ $^{225}\text{Ac}$ ]-ЗВР-227), содержащего  $^{225}\text{Ac}$ , хелатированного с соединением формулы I:



(I).

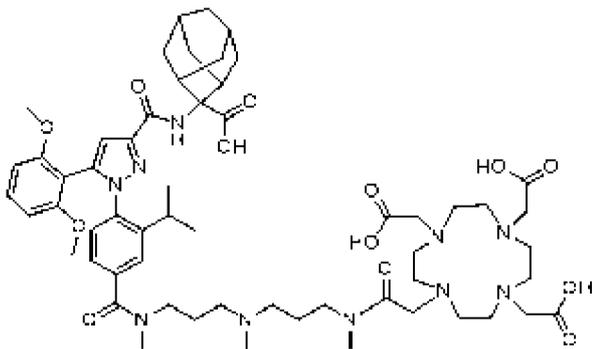
В настоящем описании представлено прямое сравнение [ $^{225}\text{Ac}$ ]-ЗВР-227 с [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 при исследовании на доклинической модели колоректального ксенотрансплантата. Как используется в настоящем документе, [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 относится к  $^{177}\text{Lu}$ -радиофармацевтическому препарату, содержащему  $^{177}\text{Lu}$ , хелатированный с соединением формулы I.

Соединение формулы I (называемое также ЗВР-227) представляет собой небольшую молекулу-антагонист, нацеленную на NTSR1, которую можно пометить радиоактивным изотопом актиния-225 или лютеция-177 с образованием  $[^{225}\text{Ac}]\text{-ЗВР-227}$  и  $[^{177}\text{Lu}]\text{-ЗВР-227}$ , соответственно. Синтез соединений формулы I или их металл-хелатных радиофармацевтических препаратов описан в патенте США № 10961199 В2. Например,  $[^{225}\text{Ac}]\text{-ЗВР-227}$  можно синтезировать способами, описанными в патенте США № 10961199 В2.

Соединение ЗВР-227 также можно пометить радиоактивным изотопом с получением радиофармацевтического препарата, подходящего для диагностики или визуализации. Примеры радиоактивного изотопа включают, но этим не ограничиваются,  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  и  $^{111}\text{In}$ .

В некоторых вариантах осуществления изобретения  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат, содержащий  $^{225}\text{Ac}$ , хелатированный с соединением формулы I, вводят парентерально, внутривенно, внутриартериально, внутрибрюшинно, подкожно, внутрикожно, трансгастроинтестинально, перорально или местно. В некоторых вариантах осуществления изобретения  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат, содержащий  $^{225}\text{Ac}$ , хелатированный с соединением формулы I вводят посредством перитуморальной инъекции или внутриопухолевой инъекции. В конкретных вариантах осуществления изобретения  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат, содержащий  $^{225}\text{Ac}$ , хелатированный с соединением формулы I, вводят внутривенно.

Настоящее изобретение относится также к способу лечения рака, где указанный способ включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат, при этом указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат, содержащий  $^{225}\text{Ac}$ , хелатирован с соединением формулы I:



(I),

где соединение связывается с рецептором нейротензина 1 (NTSR1) и не проникает через гематоэнцефалический барьер, и где указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят указанному субъекту в дозе менее чем 10 МБк/кг массы тела указанного субъекта или вводят в виде однократной дозы менее чем 40 МБк.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическую композицию вводят парентерально, внутривенно, внутриартериально, внутрибрюшинно,

подкожно, внутрикожно, трансгастроинтестинально, перорально или местно. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическую композицию вводят посредством перитуморальной инъекции или внутриопухолевой инъекции. В конкретных вариантах осуществления изобретения фармацевтическую композицию вводят внутривенно.

Для исследований терапевтической эффективности животным с ксенотрансплантатами NT29 (средний объем опухоли=212±46 мм<sup>3</sup>) вводили разовые дозы 3,885-8,325 МБк/кг [<sup>177</sup>Lu]-3BP-227 (2,100-4,500 мкКи) или 1,85-5,55 МБк/кг [<sup>225</sup>Ac]-3BP-227 (1-3 мкКи) и рост опухоли контролировали в течение 77 дней. Мышам контрольной группы вводили только несущую среду (10% этанол в PBS). Конечные точки исследования включали измерение объема опухоли и/или влияние на состояние здоровья животных.

Результаты исследования терапевтической эффективности показали значительное и стойкое подавление роста опухоли у животных, получавших 8,325 МБк/кг [<sup>177</sup>Lu]-3BP-227 по сравнению с контрольной группой. Напротив, у мышей, которым вводили 3,885 МБк/кг [<sup>177</sup>Lu]-3BP-227 не наблюдалось заметного ингибирования роста опухоли. Важно отметить, что терапевтическая эффективность [<sup>225</sup>Ac]-3BP-227 неожиданно намного превосходила таковую, полученную с помощью [<sup>177</sup>Lu]-3BP-227, поскольку стойкая регрессия опухоли наблюдалась как при низких, так и при высоких лечебных дозах [<sup>225</sup>Ac]-3BP-227 (1,85 и 5,55 МБк/кг, соответственно). Ни в одном из исследований не наблюдалось токсичности, связанной с лечением.

Прямое сравнение терапевтической эффективности продемонстрировало, что лечение [<sup>225</sup>Ac]-3BP-227 приводит к неожиданно более высокой эффективности по сравнению с [<sup>177</sup>Lu]-3BP-227 на ксенотрансплантатной модели колоректального рака.

В общем, настоящее изобретение включает применение <sup>225</sup>Ac-радиофармацевтического препарата у пациентов с распространенными, метастатическими и/или рецидивирующими солидными опухолями, экспрессирующими рецептор нейротензина 1 (NTSR1).

Пациенты обычно имеют гистологически и/или цитологически подтвержденные метастатические или местно-распространенные неоперабельные солидные опухоли, которые прогрессировали после лечения одобренными методами лечения или для которых не существует способов лечения. Например, у пациентов имеется одна из следующих распространенных, метастатических и/или рецидивирующих солидных опухолей, экспрессирующих NTSR1: аденокарцинома протоков поджелудочной железы (PDAC), плоскоклеточный рак головы и шеи (SCCHN), колоректальный рак (CRC), рак желудка, нейроэндокринно-дифференцированный (NED) рак предстательной железы, саркома Юинга.

Визуализация однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) после введения визуализирующего агента, например, <sup>111</sup>In-хелатированного соединения формулы I, может быть выполнена в качестве диагностического средства для определения

приемлемости в отношении экспрессии NTSR1. В некоторых вариантах осуществления изобретения право на участие может требовать достаточной целевой экспрессии по меньшей мере в одном очаге поражения, определяемом как уровень, по меньшей мере в два раза превышающий уровень, измеренный в скелетных мышцах. В процессе увеличения дозы критерии визуализации могут быть пересмотрены, чтобы потребовать более высокого соотношения опухоли к фону или большего количества поражений, если это считается целесообразным для выявления пациентов с большей вероятностью ответить на лечение. В некоторых вариантах осуществления изобретения диагностически эффективная доза  $^{111}\text{In}$ -хелатированного соединения формулы I (« $^{111}\text{In}$ -радиофармацевтический препарат») для использования в качестве средства визуализации ОФЭКТ/КТ составляет 185 МБк (или 5 мКи) при массовой дозе менее чем 4 мКи/кг.

Когда способы по настоящему изобретению используются для лечения пациентов, страдающих раком, пациенты могут получить инъекцию  $^{111}\text{In}$ -радиофармацевтического препарата в процессе скринингового визуализационного обследования для оценки соответствия критериям на основании местной оценки и для оценки максимально допустимой кумулятивной дозы  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтического препарата. Значительная экспрессия мишени определяется как по меньшей мере одно измеримое поражение с поглощением больше, чем в скелетных мышцах, после введения  $^{111}\text{In}$ -радиофармацевтического препарата и ОФЭКТ/КТ визуализации. Планарная визуализация может быть осуществлена в 4 временных точках для расчета дозиметрии: 0-4, 24±6, 48±6, 72-96 часов после введения  $^{111}\text{In}$ -радиофармацевтического препарата. Пациенты, имеющие право на участие в программе, могут получить до 4 циклов  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтического препарата.

Без дальнейших подробностей предполагается, что специалист в данной области техники на основании приведенного выше описания сможет использовать настоящее изобретение в его полной мере. Поэтому следующие конкретные примеры следует рассматривать просто как иллюстративные и никоим образом не ограничивающие остальную часть изобретения.

## **ПРИМЕР**

### **План исследования**

Исследование терапевтической эффективности [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 и [ $^{225}\text{Ac}$ ]-ЗВР-227 проводили на мышах, и оно включало следующее:

1. 30 голых мышей CD-1 (самки в возрасте 5-6 недель; Charles River Laboratories), несущие подкожные ксенотрансплантаты опухоли HT-29 (ATCC# HTB-38; колоректальная аденокарцинома), распределяли по 5 группам (n=6). Было две группы, каждая из которых получала [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 или [ $^{225}\text{Ac}$ ]-ЗВР-227 и 1 контрольная группа (ниже).

2. Целевая доза радиоактивности составляла 2,1 или 4,5 мКи [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 на мышь или 1 или 3 мКи [ $^{225}\text{Ac}$ ]-ЗВР-227 на мышь, для групп, получавших лучевую терапию.

3. Мышам контрольной группы вводили только несущую среду (10% этанол в PBS).

4. Для всех групп размер опухоли и массу мышцей контролировали в течение 34-77 дней. Также рассчитывали относительный объем опухоли, относительную массу мышцы и регрессию опухоли относительно контроля.

#### **Протокол эксперимента**

Эксперимент проводили в соответствии с протоколом «Исследование терапии [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 и [ $^{225}\text{Ac}$ ]-ЗВР-227 на голых мышцах CD-1 с ксенотрансплантатными опухолями НТ-29», представленным ниже.

#### **Цель**

Проведение терапевтического исследования *in vivo*, чтобы определить эффективность [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 и [ $^{225}\text{Ac}$ ]-ЗВР-227 для лечения подкожных опухолей ксенотрансплантата НТ-29 у голых мышцей.

#### **Объем**

Соединениями, подлежащими оценке, являются [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 и [ $^{225}\text{Ac}$ ]-ЗВР-227, которые представляют собой  $^{177}\text{Lu}$  и  $^{225}\text{Ac}$  радиоактивно меченные версии, соответственно, соединения формулы I (называемого также ЗВР-227). NTSR1 сверхэкспрессируется при ряде типов рака, например, аденокарциноме протоков поджелудочной железы (PDAC), саркоме Юинга и раке простаты, но редко экспрессируется в нормальных тканях. У голых мышцей он продемонстрировал хорошее поглощение и персистенцию [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 в ксенотрансплантатных опухолях НТ-29, экспрессирующих NTSR1. Он также продемонстрировал минимальное поглощение в 293 опухолевых ксенотрансплантатах, которые не экспрессируют NTSR1.

Исследования показали, что [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 эффективен в качестве терапии для подавления роста опухоли ксенотрансплантатов НТ-29 у голых мышцей в течение по меньшей мере 60 дней. Этот эффект был особенно очевиден при дозе около 4,5 мКи [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 на мышцу, тогда как доза около 2,1 мКи на мышцу несколько ингибировала рост опухоли (исследование 1). Подобные исследования проводились отдельно (исследование 2), но инъекция 4,5 мКи [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 на мышцу не оказалась эффективной для подавления роста опухоли НТ-29. Однако средний объем опухоли во время инъекции соединения был значительно больше (около 450 мм<sup>3</sup>) в исследовании 2 по сравнению с исследованием 1 (около 200 мм<sup>3</sup>), что могло иметь замаскированные терапевтические эффекты. Острой токсичности у мышцей при терапии [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227 не наблюдалось.

В этом исследовании использовались мышцей с опухолями НТ-29 соответствующего размера (около 200 мм<sup>3</sup>). Также планировалось оценить терапевтический потенциал [ $^{225}\text{Ac}$ ]-ЗВР-227 а той же модели опухоли. [ $^{225}\text{Ac}$ ] представляет собой версию ЗВР-227, меченную альфа-частицами.

#### **Дизайн исследования**

Группам голых самок мышцей CD-1 (пять групп; n=6 каждая, всего 30) однократно посредством внутривенной инъекции вводят радиоактивно меченные тестируемые образцы.

[<sup>177</sup>Lu]-3BP-227 растворяют в PBS, содержащем 10% этанола, и получают в концентрации около 13 мКи/мл и около 25 мКи/мл. Соединения [<sup>177</sup>Lu]-3BP-227 вводят (в 200 мкл) в дозе 2,1 мКи (около 13 мКи/мл исходного раствора) или 4,5 мКи (около 25 мКи/мл исходного раствора) двум группам животных (всего n=12). [<sup>225</sup>Ac]-3BP-227 растворяют в PBS, содержащем 10% этанола, и готовят в концентрации 5 мКи/мл и 15 мКи/мл. Соединения [<sup>225</sup>Ac]-3BP-227 вводят (в 200 мкл) в дозе 1 мКи (5 мКи/мл исходного раствора) или 3 мКи (15 мКи/мл исходного раствора) двум группам животных (всего n=12). Немеченый 3BP-227 используется для подбора массы всех доз до 5 нмоль. Контрольным мышам вводят 200 мкл PBS/10% этанола путем инъекции в хвостовую вену (n=6). Мышей взвешивают три раза в неделю до 28-го дня для мониторинга терапевтических и токсических эффектов. Длину (L) и ширину (W) опухоли измеряют три раза в неделю до 28-го дня, и объем опухоли рассчитывают в соответствии с разделом 13 «Расчеты данных и статистический анализ».

### ***Материалы***

PBS (Life Technologies, 10010-015)

DPBS (Life Technologies, 14287-080)

Среда McCoy's Sa (Life Technologies 16600-082)+Pen/Strep+10% FBS

Пенициллин/стрептомицин (Life Technologies, 15240-062)

FBS (Life Technologies, 12483020)

Спиртовые салфетки (VWR, CA70000125)

Иглы массой 30 г {VWR, CABD305106}

Иглы массой 26 г (VWR, CABD305111)

Шприцы со скользящим наконечником емкостью 1 мл (VWR, CABD309659)

Шприцы с люэр-локом на 1 мл (VWR, CABD309602)

Средство для удержания мыши

Вольфрамовые щитки для шприцев

Формалин (3,7% формальдегида, забуференный в PBS)

Цифровые штангенциркули (VWR)

Счетчик Гейгера (LM 14C)

Калибратор дозы (Capintec Inc, CRC-25R)

### ***Животные и их содержание***

Тридцать три (33) самки мышей CD-1 Nude в возрасте 3-4 недель на момент родов и 5-6 недель на момент начала исследования заказывают в компании Charles River Laboratories. Животных содержат по три на клетку в стерильных клетках-микроизоляторах со свободным доступом к автоклавированному корму Harlan 8460 и воде (содержание на чистом уровне). Обогащительная клетка состоит из трубки ПВХ. Животных акклиматизируют в течение 5-10 дней перед инокуляцией линии опухолевых клеток.

### ***Экспериментальные группы***

Группа 1: контроль; n=6

Группа 2: 2,1 мКи [<sup>177</sup>Lu]-3BP-227; n=6

Группа 3: 4,5 мКи [ $^{177}\text{Lu}$ ]-3BP-227; n=6

Группа 4: 1 мКи [ $^{225}\text{Ac}$ ]-3BP-227; n=6

Группа 5: 3 мКи [ $^{225}\text{Ac}$ ]-3BP-227; n=6

### ***Инокуляции опухолевых клеток***

#### ***Тканевая культура***

1. Инокулят для каждой мыши состоит из 1 миллиона клеток HT-29 в объеме 100 мкл. Это комбинация 75 мкл клеток, суспендированных в DPBS и 25 мкл матригеля.

2. Готовят во флаконах T225 как минимум вдвое больше клеток HT-29, чем требуется на день инокуляции (минимум 70 миллионов клеток). Клетки выращивают в среде McCoy's Sa с 10% FBS и пенициллином/стрептомицином.

3. За день до инъекции из морозильной камеры достают матригель и размораживают в течение ночи в холодной комнате.

4. В день инъекции иглы и шприцы помещают в морозильную камеру. После сбора клеток переносят на лед в BSC.

5. Удаляют среду из клеток и добавляют в колбы по 10 мл стерильного PBS; осторожно покачивают, чтобы промыть клетки, аспирируют PBS.

6. Добавляют в каждую колбу по 5 мл 0,25% трипсина/EDTA, убедившись, что поверхность роста полностью покрыта. Клетки инкубируют при температуре 37°C до отделения от поверхности роста (приблизительно 5 минут).

7. В каждую колбу добавляют по 10 мл среды и промывают, чтобы удалить клетки с поверхности.

Собирают и объединяют ресуспендированные клетки в коническую пробирку объемом 50 мл, центрифугируют при 400 g в течение 5 минут.

8. Аспирируют среду из клеточного осадка и ресуспендируют клетки в 1,5 мл холодного DPBS. Оставляют на льду.

9. Готовят разведение клеток для подсчета, включая трипановый синий для окрашивания живых/мертвых клеток. Посчитывают на гемацитометре и рассчитывают концентрацию клеток. Помещают аликвоту 75 миллионов живых клеток в новую коническую емкость объемом 50 мл и регулируют объем ресуспендированных клеток для концентрации клеток 33 миллионов клеток на мл.

10. Добавляют матригель в коническую пробирку в объеме, равном половине объема клеточной суспензии, до конечной концентрации 10 миллионов клеток на мл. Перемешивают и хранят на льду.

11. Используя предварительно охлажденный шприц емкостью 1 мл, осторожно набирают клеточную суспензию до линии 150 мкл. Закрывают шприц предварительно охлажденной иглой массой 30 г и удаляют воздух из шприца, нажимая и вытягивая поршень. Регулируют поршень, чтобы удалить лишнюю клеточную суспензию до конечного объема 100 мкл. Помещают шприц в полиэтиленовый пакет на лед. Продолжают эту процедуру, чтобы заполнить все иглы.

### ***Инокуляция***

1. Накануне дня инокуляции протыкают ухо мышью.
2. Работая в BSC для животных, готовят шприц для инъекции, ослабив крышку. Оставляют на льду.
3. Забирают мышью из клетки и удерживают ее вручную или с помощью конического фиксатора.
4. Осторожно вводят иглу шприца прямо под кожу заднего бока, натягивая ее так, чтобы игла оставалась в подкожном пространстве.
5. Делают инъекцию и записывают все случаи существенной утечки жидкости. Каждую мышью взвешивают и данные записывают.

### ***Терапевтическая процедура***

#### ***Перед введением дозы***

1. Индукция опухоли проходит в течение 7 дней до начала исследования. Длину опухоли (L) и ширину (W) измеряют с помощью цифрового штангенциркуля и рассчитан объем опухоли (ниже).
2. Животных также взвешивают как биомаркер общего состояния здоровья.
3. Животные, у которых наблюдается плохое здоровье в результате индукции опухоли или имеются признаки изъязвленных или разросшихся опухолей, влияющих на подвижность, умерщвляют по этическим соображениям.

#### ***Протокол терапии***

1. За несколько дней до терапии: готовят и маркируют шприцы с разъемом Люэра для инъекций и готовят журнал регистрации инъекций.
2. В день проведения лучевой терапии: взвешивают мышью и измеряют опухоли. Рассчитывают объем опухоли. Отбирают 30 мышью для терапевтического исследования из 33 инокулированных, исходя из достижения наиболее однородных групповых размеров опухолей. Распределяют мышью по экспериментальным группам таким образом, чтобы средние объемы опухолей в группах были примерно равны.
3. Устанавливают экранированные места инъекции.
4. Готовят радиоактивно меченные соединения в рабочих концентрациях, как описано выше в разделе «План исследования». Измеряют шприцы в калибраторе дозы и записывают данные радиоактивности в журнал. Помещают шприцы [ $^{177}\text{Lu}$ ]-3BP-227 в насадки для шприцев для инъекций.
5. Очищают место инъекции спиртовыми салфетками и вводят каждому животному 200 мкл [ $^{177}\text{Lu}$ ]-3BP-227, [ $^{225}\text{Ac}$ ]-3BP-227 или 10% буфера этанол/PBS в латеральную хвостовую вену; возвращают животное в клетку.
6. Измеряют и записывают данные радиоактивности каждого шприца после инъекции. Повторяют стадию 4 до тех пор, пока мышам в группах 2-5 не будет введен контроль активности или буфер.
7. Через 24 часа после инъекции заменяют клетки всех терапевтических групп, чтобы снизить вероятность эффективности из-за выделившихся радионуклидов.

8. Измеряют и записывают длину опухоли (L) и ширину (W) с помощью штангенциркуля три раза в неделю и контролируют массу мыши как биомаркер здоровья.

9. В конце предписанного периода приема (28-й день) усыпляют каждое животное путем смещения шейных позвонков. Собирают опухоли, взвешивают и помещают в формальный контейнер для фиксации.

10. Помещают трупы животных в полиэтиленовые пакеты и помечают их как радиоактивные биологически опасные отходы.

***Расчет данных и статистический анализ:***

1. Объем опухоли рассчитывают по формуле:  $TV=(L \times W^2) \times 0,52$ , где L обозначает наибольший диаметр (длину) опухоли, а W обозначает наименьший диаметр (ширину) опухоли. Объем опухоли в день n выражается как относительный объем опухоли (RTV) по следующей формуле:  $RTV=TV_n/TV_0$ , где  $TV_n$  обозначает объем опухоли в день n, а  $TV_0$  обозначает объем опухоли в день 0. Масса каждой мыши в день n выражается как относительная масса мыши (RW) по следующей формуле:  $RW=W_n/W_0$ , где  $W_n$  обозначает массу мыши в день n, а  $W_0$  обозначает массу мыши в день 0. Регрессию опухоли (Т/С (%)) в день n определяют путем расчета RTV по следующей формуле:  $T/C (\%)=100 \times (\text{среднее значение RTV обработанной группы})/(\text{среднее значение RTV контрольной группы})$ .

2. В Excel создают электронную таблицу для расчета объема опухоли относительного объема опухоли, массы и относительной массы опухоли в каждый момент времени. Данные представлены в виде графика в Graphpad Prism.

**Сводка результатов**

Исследование лучевой терапии было проведено с использованием [ $^{177}\text{Lu}$ ]-3BP-227 или [ $^{225}\text{Ac}$ ]-3BP-227 на голых мышах CD-1 с ксенотрансплантатами опухоли HT-29. Синтез двух партий [ $^{177}\text{Lu}$ ]-3BP-227 потребовался для проведения описанных ниже исследований. Радиохимические выходы обеих партий [ $^{177}\text{Lu}$ ]-3BP-227 составляли 100%, и радиохимическая чистота обеих партий составляла 99%. Была произведена одна партия [ $^{225}\text{Ac}$ ]-3BP-227, и радиохимический выход составил 98% и радиохимическая чистота составляла 99%. Аналитические сводные таблицы для испытаний изделий (или радиофармпрепаратов) представлены в таблицах 1-3 ниже.

Таблица 1. [ $^{177}\text{Lu}$ ]-3BP-227 аналитический сводный лист для партии 6 (инъекции группы 3).

Радиоактивная метка	[ $^{177}\text{Lu}$ ]-3BP-227-06
Партия #	6
Молекулярная масса по формуле соединения (г/моль)	1303,37
Суммарная активность (мКи)	49,2

Время калибровки	10:00			
Объем раствора (мл)	1,31			
Объемная активность (мКи/мл)	37,5			
Специфическая активность (мКи/нмоль)	0,992			
Состав	PBS/10% EtOH			
pH	7,4			
Чистота	прозрачный/ бесцветный			
Радиохимический выход (%)	100			
Радиохимическая чистота (%)	99			
<i>Аналитический след ВЭЖХ, показанный ниже</i>				
Пик	Примесь	Примесь	Продукт	Примесь
Пиковое время удержания	4,4	5,2	10,84	13,96
% Интеграции	1,3	1,2	95,2	2,3
Совместное введение с холодным стандартом	нет			

Таблица 2. [<sup>177</sup>Lu]-3BP-227 аналитический сводный лист для партии 7 (инъекции группы 2).

Радиоактивная метка	[ <sup>177</sup> Lu]-3BP-227-07
Партия #	7
Молекулярная масса по формуле соединения (г/моль)	1303,37
Суммарная активность (мКи)	36,3
Время калибровки	11:00
Объем раствора (мл)	0,973
Объемная активность (мКи/мл)	37,3

Специфическая активность (мКи/нмоль)	0,994	
Состав	PBS/10% EtOH	
pH	7,4	
Чистота	прозрачный/бесцветный	
Радиохимический выход (%)	100	
Радиохимическая чистота (%)	99	
<i>Аналитический след ВЭЖХ, показанный ниже</i>		
Пик	Примесь	Продукт
Пиковое время удержания	3,3	10,85
% Интеграции	0,4	99,6
Совместное введение с холодным стандартом	нет	

Таблица 3. [<sup>225</sup>Ac]-3BP-227 аналитический сводный лист для партии 1 (инъекции групп 4 и 5).

Радиоактивная метка	[ <sup>225</sup> Ac]-3BP-227-01
Партия #	1
Молекулярная масса по формуле соединения (г/моль)	1351,37
Суммарная активность (мКи)	0,097
Время калибровки	10:00
Объем раствора (мл)	0,97
Объемная активность (мКи/мл)	0,1
Специфическая активность	1 мКи/нмоль
Состав	PBS/10% EtOH (10 мМ аскорбата)
pH	7,4
Чистота	прозрачный
Радиохимический выход (%)	98
Радиохимическая чистота (%)	99

Средняя масса мышей в начале исследования составляла 23±2 г (среднее значение±SD), и средний объем опухоли в день начала исследования составлял 212±46 мм<sup>3</sup>

(среднее значение $\pm$ SD). Регистрируют присвоенные номера животных, массы тела, объемы опухолей, относительные массы тела и относительные объемы опухолей. Средние значения этих данных по группам представлены на ФИГ. 1-7. Животных в группах, получавших  $[^{177}\text{Lu}]\text{-ЗВР-227}$  или PBS/10% этанол (контроль) умерщвляли в день 34. Животных, получивших  $[^{225}\text{Ac}]\text{-ЗВР-227}$ , умерщвляли в день 77. Данные записывали в журнал регистрации доз для групп, получавших лучевую терапию.

Лечение в целом хорошо переносилось мышами в группах, получавших лучевую терапию. Мыши, которым вводили  $[^{177}\text{Lu}]\text{ЗВР-227}$ , продемонстрировали неотличимую прибавку веса по сравнению с теми, которым вводили только носитель (контроль) (ФИГ. 6). Мыши, которые получали лечение  $[^{225}\text{Ac}]\text{-ЗВР-227}$ , также прибавляли по массе, хотя и в меньшей степени, чем контрольная группа, в течение первых 34 дней. Через шестьдесят пять дней после введения терапии у мышей в группе, получавшей 3 мКи  $[^{225}\text{Ac}]\text{-ЗВР-227}$ , наблюдалось снижение прибавки массы тела по сравнению с контрольной группой (ФИГ. 6). Одну мышью из группы, получавшей 3 мКи  $[^{225}\text{Ac}]\text{-ЗВР-227}$ , подвергли эвтаназии через 22 дня после введения терапии из-за плохого общего состояния здоровья. Несколько мышей в каждой из остальных 4 групп также были подвергнуты эвтаназии, но это было связано с чрезмерной опухолевой нагрузкой или изъязвлением опухоли, чего не наблюдалось в группе, получавшей 3 мКи  $[^{225}\text{Ac}]\text{ЗВР-227}$  (ФИГ. 11).

Анализ средних данных относительного объема опухоли в группе Lu-177 (ФИГ. 3) и данных регрессии опухоли (ФИГ. 5) показал, что наблюдалось ингибирование роста опухолей в группе, получавшей лечение 4,5 мКи  $[^{177}\text{Lu}]\text{-ЗВР-227}$ , относительно контроля в течение 34 дней наблюдения за мышами. С другой стороны, в группе, получавшей лечение 2,1 мКи  $[^{177}\text{Lu}]\text{-ЗВР-227}$ , наблюдалось лишь кратковременное замедление роста (с 6 по 12 день).

Анализ данных среднего относительного объема опухоли в группе, получавшей Ac-225 (ФИГ. 4), и данных регрессии опухоли (ФИГ. 5) показал, что опухоли регрессировали в обеих группах, получавших лечение  $[^{225}\text{Ac}]\text{-ЗВР-227}$ . Этот эффект длился не менее 34 дней в группе, получавшей 1 мКи, после чего две из шести опухолей возобновили рост, тогда как в группе, получавшей 3 мКи, возобновления роста опухоли не наблюдалось. Группа, получавшая 3 мКи, также продемонстрировала более быстрое сокращение опухолей, которое произошло в течение 6 дней после проведения лучевой терапии (ФИГ. 10).

Введение 3 мКи  $[^{225}\text{Ac}]\text{-ЗВР-227}$  было наиболее эффективной терапией в этом исследовании, но оно было связано с заболеваемостью, связанной с лечением. Как 1 мКи  $[^{225}\text{Ac}]\text{-ЗВР-227}$ , так и 4,5 мКи  $[^{177}\text{Lu}]\text{ЗВР-227}$  также были эффективны в подавлении роста опухоли. Однако значительный повторный рост опухоли наблюдался чаще в группе, получавшей лечение 4,5 мКи  $[^{177}\text{Lu}]\text{-ЗВР-227}$ , по сравнению с группой, получавшей лечение 1 мКи  $[^{225}\text{Ac}]\text{-ЗВР-227}$ . Введение 2,1 мКи  $[^{177}\text{Lu}]\text{-ЗВР-227}$  было временно эффективным в ингибировании роста опухоли в этой модели. Таким образом, терапия,

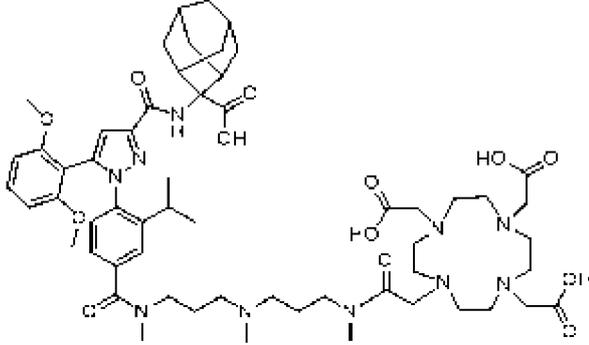
которая была наиболее эффективной и хорошо переносимой в этом исследовании, включала 1 мкКи [ $^{225}\text{Ac}$ ]-ЗВР-227, за которым следовали 4,5 мКи [ $^{177}\text{Lu}$ ]-ЗВР-227.

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

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

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака, где указанный способ включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтического препарата, причем указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат содержит  $^{225}\text{Ac}$ , хелатированный с соединением формулы I:



(I),

где соединение связывается с рецептором нейротензина 1 (NTSR1) и не проникает через гематоэнцефалический барьер, и где указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят указанному субъекту в дозе менее чем 10 МБк/кг массы тела указанного субъекта или вводят в виде однократной дозы менее чем 40 МБк.

2. Способ по п.1, где указанным субъектом является человек.
3. Способ по п.2, где указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят в дозе менее чем 1 МБк/кг массы тела указанного субъекта.
4. Способ по п.3, где указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят в дозе менее чем 250 кБк/кг массы тела указанного субъекта.
5. Способ по любому из пп.1-4, где указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят в дозе 75-225 кБк/кг массы тела указанного субъекта.
6. Способ по любому из пп.1-4, где указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят в дозе 100-200 кБк/кг массы тела указанного субъекта.
7. Способ по любому из пп.1-4, где указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят в дозе около 75 кБк/кг, около 100 кБк/кг, около 125 кБк/кг, около 150 кБк/кг, около 175 кБк/кг, около 200 кБк/кг или около 225 кБк/кг массы тела указанного субъекта.
8. Способ по п.7, где указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят в дозе около 150 кБк/кг массы тела указанного субъекта.
9. Способ по п.2, где указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят указанному субъекту в виде однократной дозы менее чем 20 МБк.
10. Способ по п.9, где указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят указанному субъекту в виде однократной дозы 5-15 МБк.
11. Способ по п.9, где указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят указанному субъекту в виде однократной дозы около 6 МБк, около 8 МБк, около 10 МБк, около 12 МБк, около 14 МБк, около 16 МБк или около 18 МБк.

12. Способ по п.9, где указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят указанному субъекту в виде однократной дозы около 10 МБк.

13. Способ по п.1, где указанный рак выбран из группы, состоящей из колоректальный рак, аденокарциному протоков поджелудочной железы, мелкоклеточный рак легких, рак предстательной железы, рак молочной железы, менингиому, саркому Юинга, мезотелиому плевры, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легких, гастроинтестинальную стромальную опухоль, лейомиому матки и Т-клеточную лимфому кожи.

14. Способ по п.13, где указанный рак представляет собой колоректальный рак, аденокарциному протоков поджелудочной железы, мелкоклеточный рак легких, рак предстательной железы, рак молочной железы, менингиому или саркому Юинга.

15. Способ по п.13, где указанный рак представляет собой колоректальный рак или аденокарциному протоков поджелудочной железы.

16. Способ по п.1, дополнительно включающий введение субъекту агента визуализации, который содержит радиоактивный изотоп, хелатированный соединением формулы I.

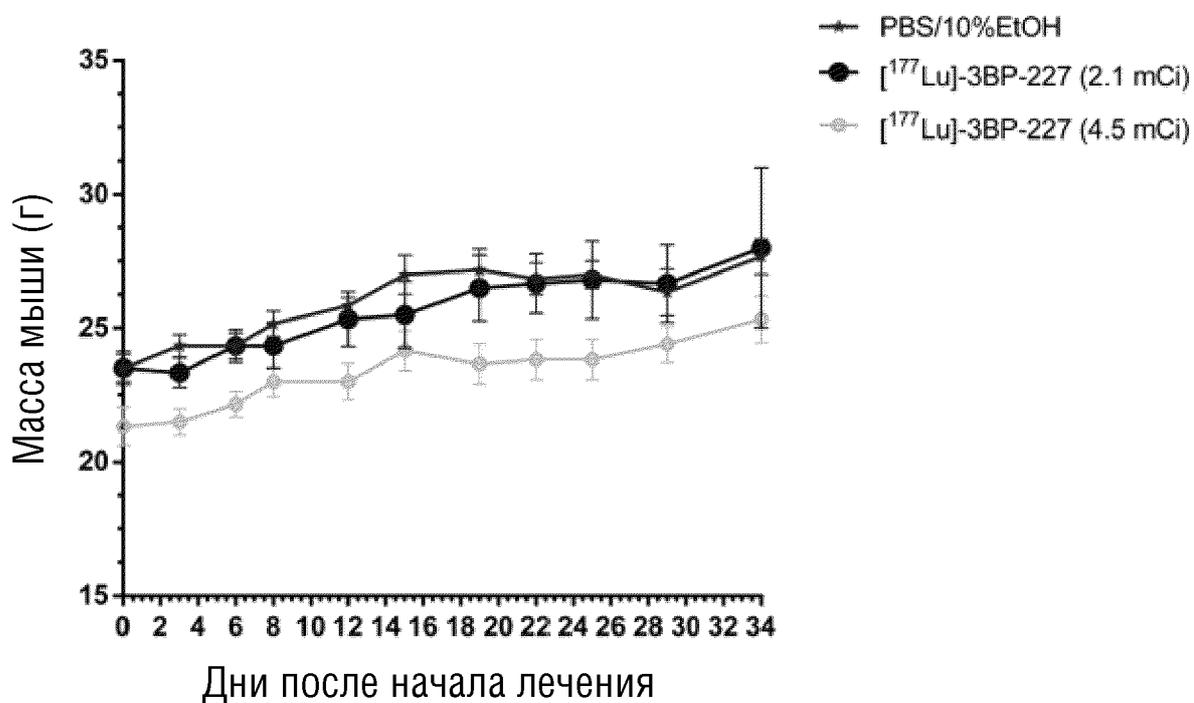
17. Способ по п.16, где радиоактивный изотоп выбран из группы, состоящей из  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{99m}\text{Tc}$  и  $^{111}\text{In}$ .

18. Способ по п.16, где радиоактивный изотоп представляет собой  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{89}\text{Zr}$  или  $^{111}\text{In}$ .

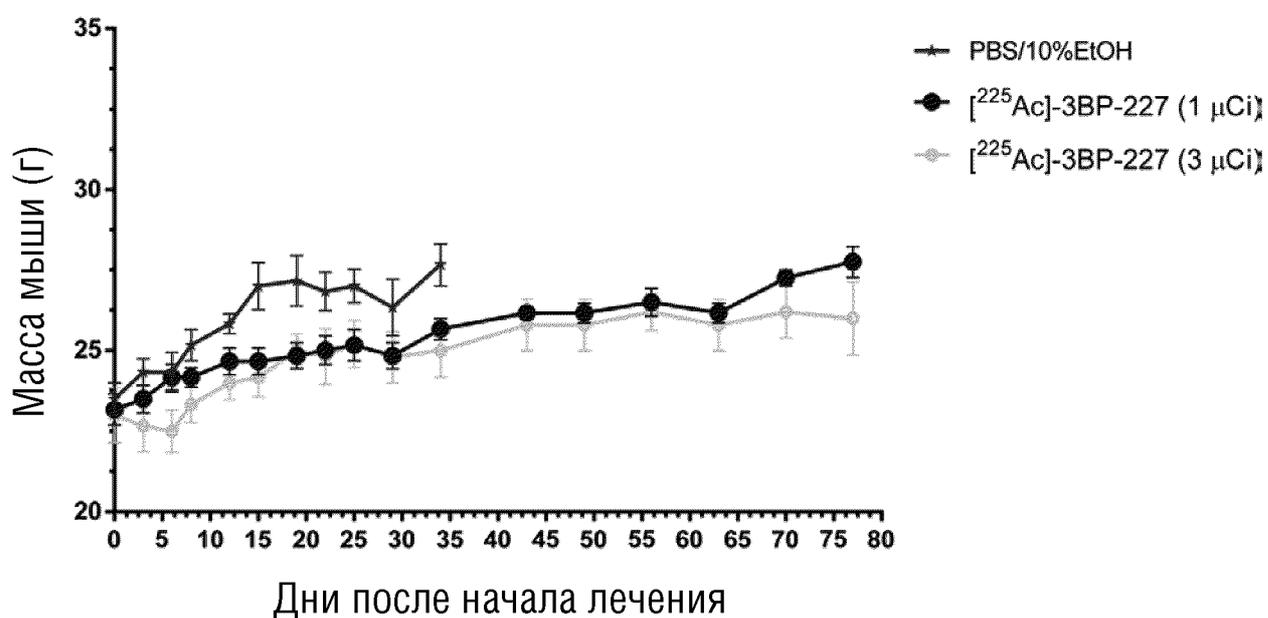
19. Способ по любому из пп.1-18, где указанный  $^{225}\text{Ac}$ -радиофармацевтический препарат вводят внутривенно.

По доверенности

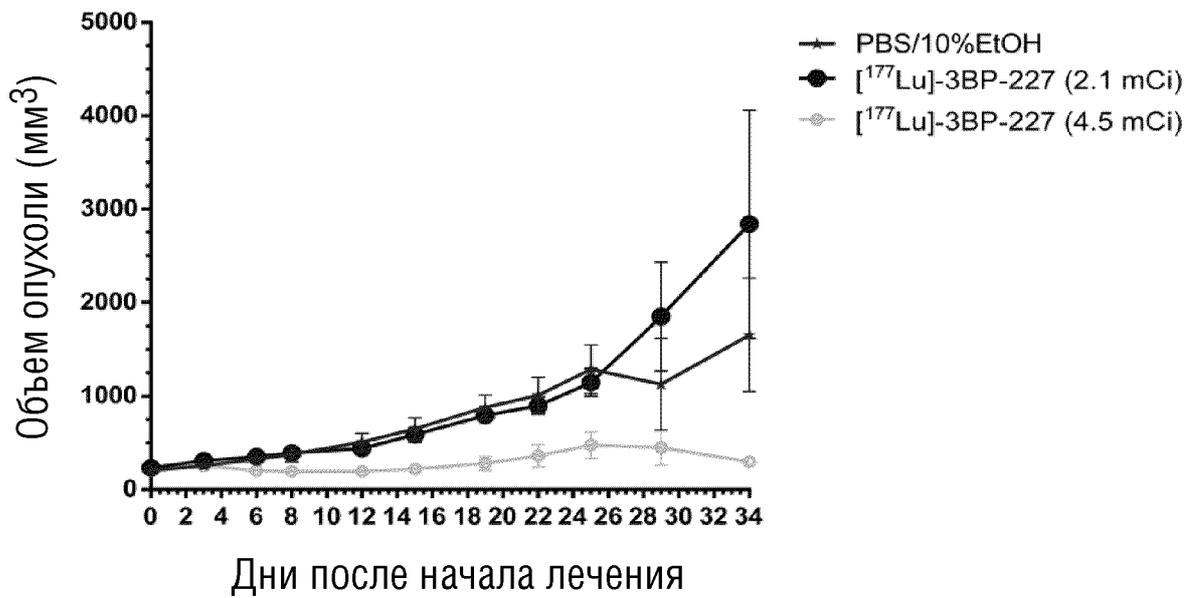
ФИГ.1



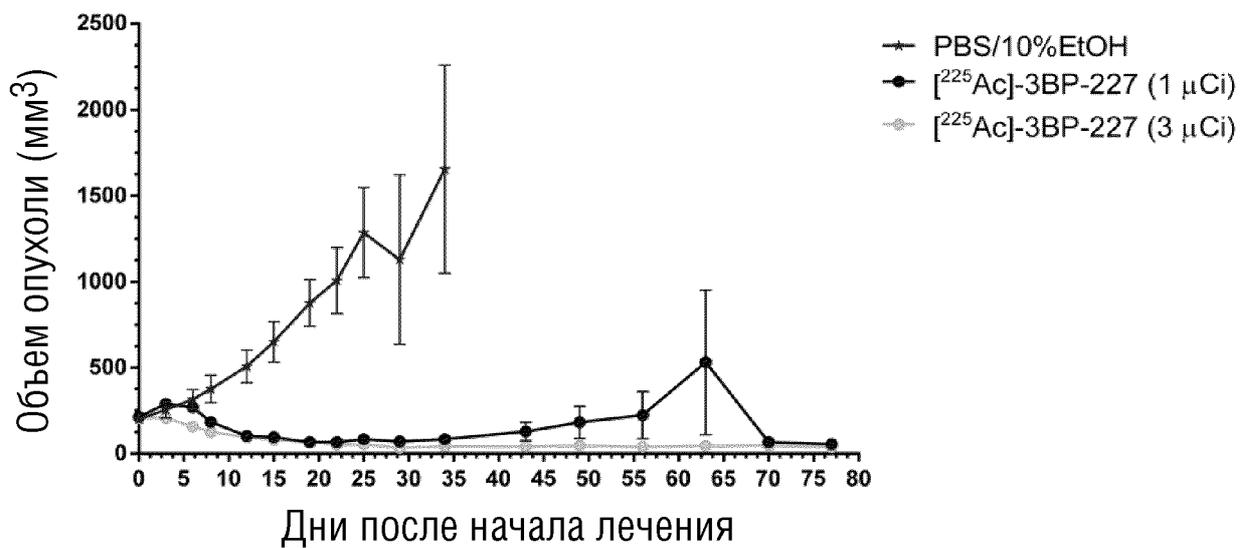
ФИГ.2



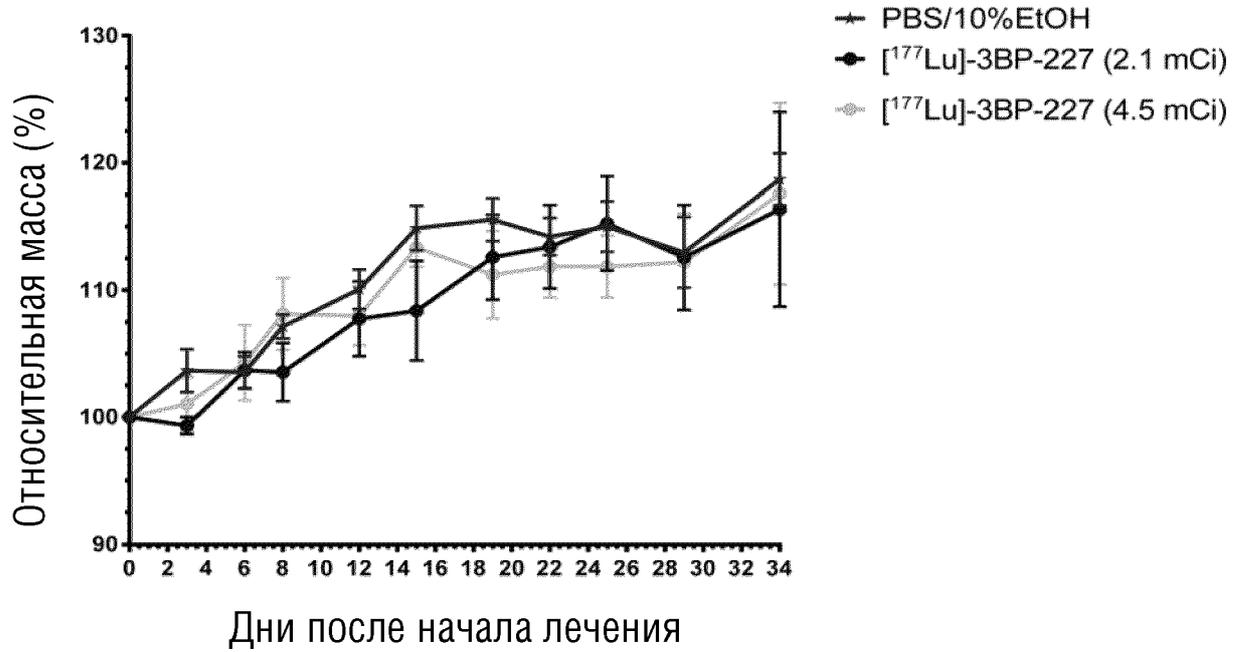
ФИГ.3



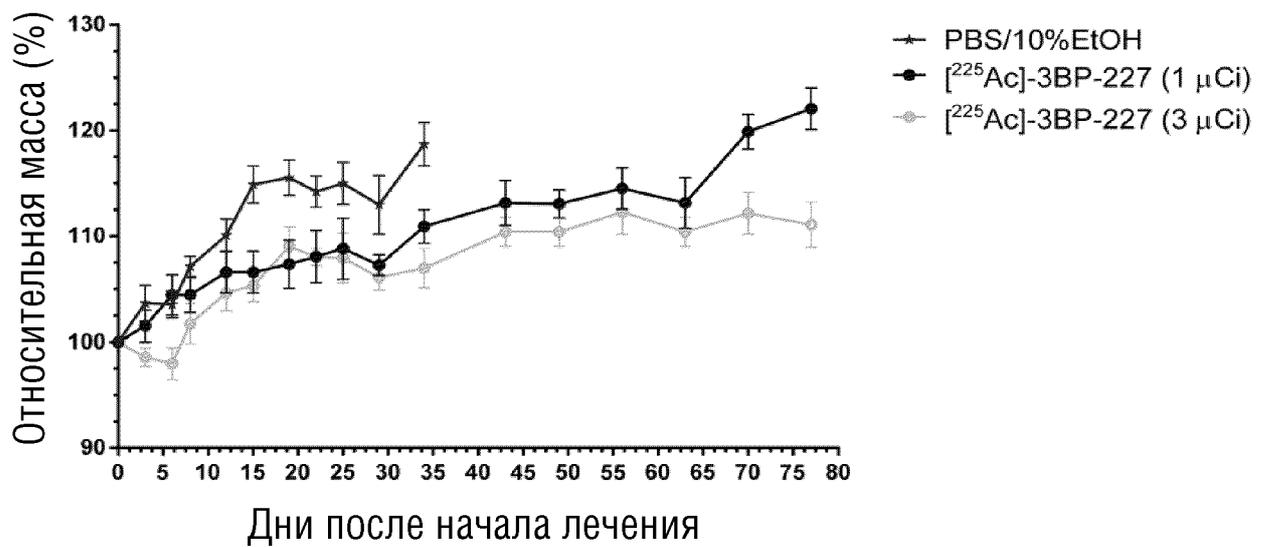
ФИГ.4



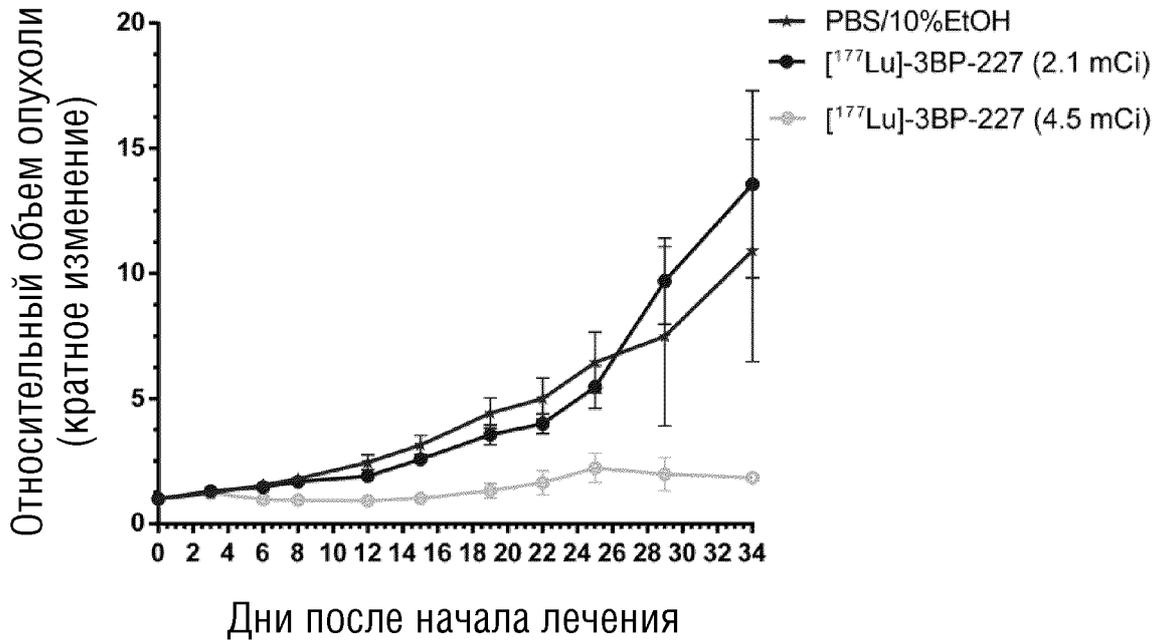
ФИГ.5



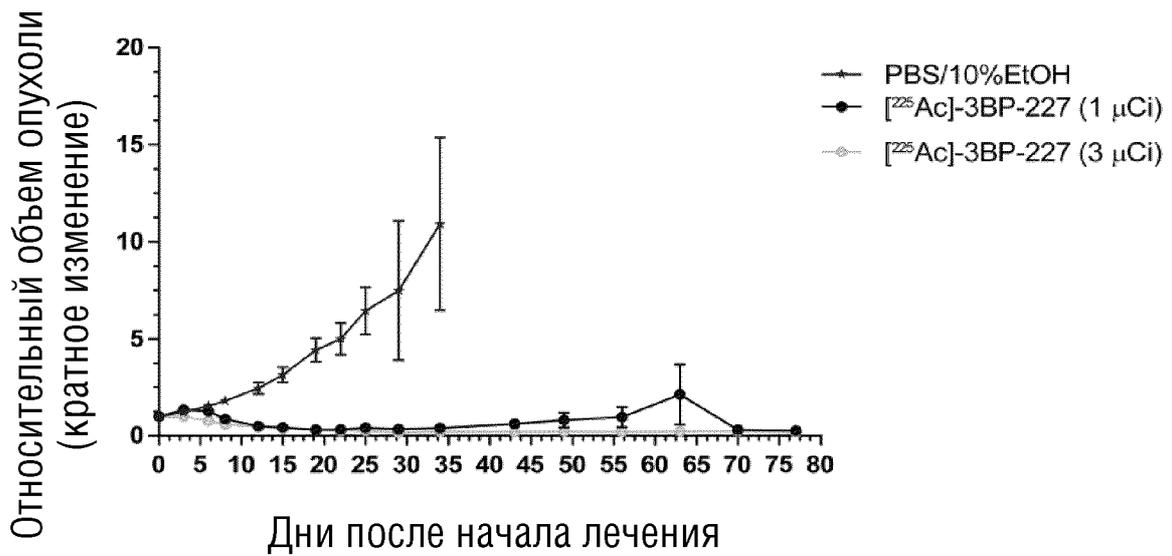
ФИГ.6



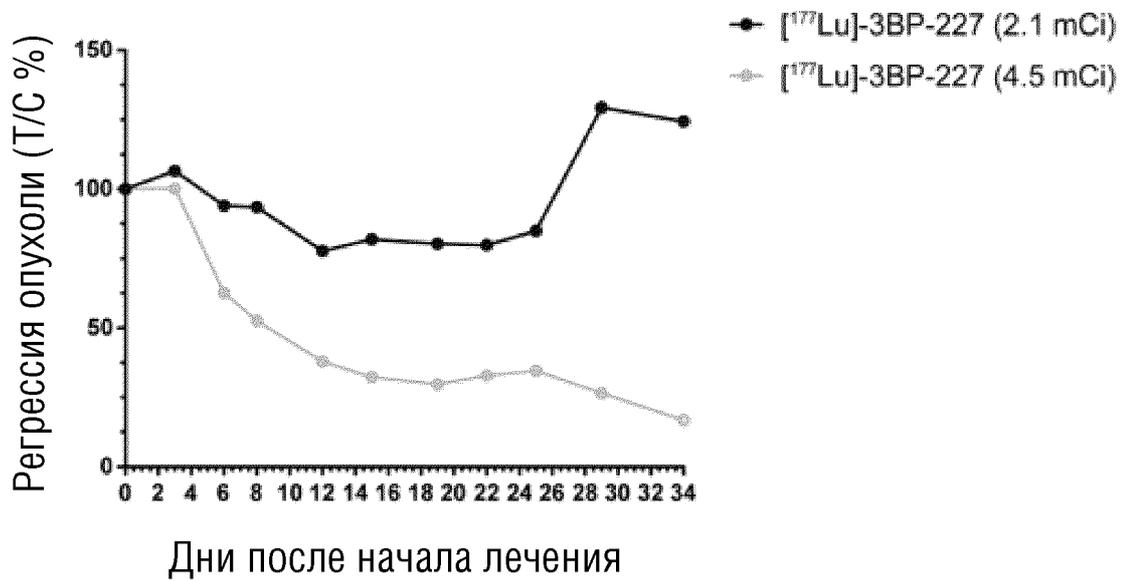
ФИГ.7



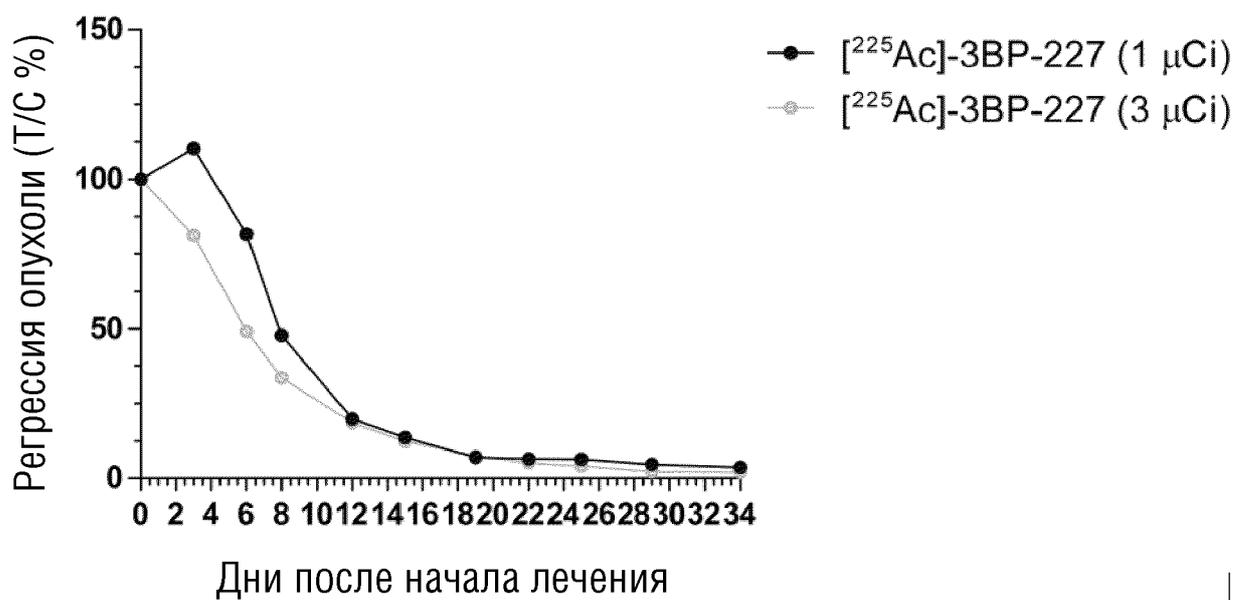
ФИГ.8



ФИГ.9



ФИГ.10



ФИГ.11

