

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047198**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.06.20

(21) Номер заявки
202290942

(22) Дата подачи заявки
2020.10.09

(51) Int. Cl. **C07D 307/93** (2006.01)
C07D 413/04 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **КОНЬЮГАТЫ ФОСФОЛИПИД-ФЛАВАГЛИН И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ
НАЦЕЛЕННОЙ ПРОТИВОРАКОВОЙ ТЕРАПИИ**

(31) **62/913,571**

(32) **2019.10.10**

(33) **US**

(43) **2022.07.05**

(86) **PCT/US2020/055121**

(87) **WO 2021/072300 2021.04.15**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**СЕЛЛЕКТАР БАЙОСАЙЕНСИЗ,
ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:
Лонгкор Джеррод (US)

(74) Представитель:
**Строкова О.В., Гизатуллин Ш.Ф.,
Гизатуллина Е.М., Прищепный С.В.,
Джермакян Р.В., Христофоров А.А.,
Угрюмов В.М., Костюшенкова М.Ю.
(RU)**

(56) **US-A1-20180086729
US-A1-20170348422
US-A1-20160136190
US-A1-20150093330
US-A1-20140255432**

(57) Изобретение относится к молекулам фосфолипидного эфира (PLE). Кроме того, настоящее изобретение относится к конъюгатам фосфолипид-флаваглин. Конъюгат фосфолипид-флаваглин может включать PLE, конъюгированный с флавагином посредством линкера. Кроме того, настоящее изобретение относится к способам лечения рака у субъекта и к способам нацеливания лекарственного средства на клетку опухоли или рака у субъекта.

B1

047198

047198

B1

Ссылка на родственные заявки

Согласно настоящей заявке испрашивается преимущество и приоритет в соответствии с предварительной заявкой на выдачу патента США № 62/913571, поданной 10 октября, 2019 г., полное содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

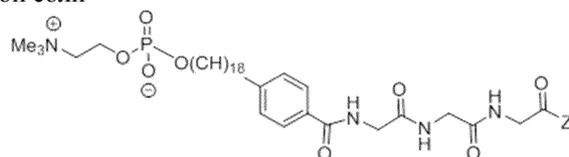
Область техники, к которой относится настоящее изобретение Настоящее изобретение относится к конъюгатам фосфолипид-флаваглин и видам нацеленной противораковой терапии.

Введение

Большинство противораковых лекарственных средств в клиническом применении имеют полезность, ограниченную их токсичностью по отношению ко всем пролиферирующим клеткам и/или неспособностью проявлять свой эффект по отношению ко всем клеткам опухолей. Продолжают разрабатывать новые средства с уникальными механизмами действия, предназначенные для обеспечения увеличенного нацеливания, однако, многие из этих соединений все еще лишены абсолютной избирательности для опухолей и продолжают оставаться ограниченными в своих терапевтических применениях из-за нецелевых эффектов. Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC) разработаны для связывания со специфическими эпитопами на поверхности клеток опухолей и предложены в качестве альтернативного способа для нацеливания на клетки опухолей в попытке уменьшения ассоциированной токсичности. Несмотря на то, что они являются высоко избирательными, очень немногие конъюгаты антитело-лекарственное средство являются терапевтически полезными, поскольку для них достигают только умеренное клеточное поглощение и ограниченную активность уничтожения клеток. Необходимы более эффективные платформы для нацеливания на опухоли.

Сущность настоящего изобретения

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к соединению формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли



(I),

где Z представляет собой аналог флаваглина.

Другой аспект настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение, как раскрыто в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

Другой аспект настоящего изобретения относится к способу лечения рака у субъекта, предусматривающему введение субъекту соединения, как раскрыто в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли.

Другой аспект настоящего изобретения относится к способу нацеливания лекарственного средства на клетку опухоли или рака у субъекта, предусматривающему введение субъекту соединения, как раскрыто в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединения, как раскрыто в настоящем документе, локализуются в или мигрируют к цитоплазме или органелле клетки опухоли или рака. Согласно некоторым вариантам осуществления, соединения являются избирательными для раковых клеток у субъекта. Согласно некоторым вариантам осуществления соединения включаются по меньшей мере приблизительно в 2 раза больше в клетки опухоли или рака, чем в здоровые клетки. Согласно некоторым вариантам осуществления рак представляет собой меланому, рак мозга, рак легкого, рак надпочечника, рак печени, ренальный рак или рак почки, рак поджелудочной железы, рак пищевода, гастральный рак, рак желудка, рак толстого кишечника, колоректальный рак, анальный рак, рак предстательной железы, рак яичника, рак молочной железы, рак шейки матки, лимфому, лейкоз, миелому, гематологический рак, гепатокарциному, ретинобластому, глиому, саркому, бластому, плоскоклеточную карциному, аденокарциному или их комбинацию. Согласно некоторым вариантам осуществления, субъект представляет собой человека.

Настоящее изобретение относится к другим аспектам и вариантам осуществления, которые станут очевидными в свете следующего подробного описания и сопутствующих фигур.

Краткое описание фигур

Фиг. 1A, фиг. 1B, фиг. 1C, фиг. 1D, фиг. 1E представляют собой изображения клеток опухолей с отмеченными липидными рафтами. Клетки опухолей имеют более высокую концентрацию липидных рафтов, по сравнению с нормальными клетками, фиг. 1F представляет собой изображение нормальных фибробластов и клеток опухолей Sak1-2 с CLR 1501 (соединением (1)). CLR 1501 являлось в высокой степени локализованным в клетках Sak1-2 и минимально - в нормальных фибробластах, фиг. 1G представляет собой изображение контрольных клеток A549 и фиг. 1H представляет собой изображение клеток A549, обработанных метил-β-циклодекстрином для разрушения липидных рафтов. Клетки как на

фиг. 1G, так и на фиг. 1H инкубировали с CLR 1501 (соединением (1)), и разрушение большинства липидных рафтов в клетках A549 приводило к уменьшению на 60% поглощения CLR 1501 (соединения (1)). Фиг. 1I, фиг. 1J и фиг. 1K представляют собой изображения клеток PC3, инкубированных с CLR 1501 (соединением (1)) и окрашенных по эндоплазматическому ретикулуму (ER). CLR 1501 (соединение (1)) являлось совместно локализованным с ER в злокачественных клетках, но не в нормальных клетках (не показано), фиг. 1L, фиг. 1M и фиг. 1N представляют собой изображения клеток PC3, инкубированных с CLR 1501 (соединением (1)) и окрашенных по ядру и митохондриям. CLR 1501 (соединение (1)) являлось совместно локализованным с митохондриями.

Фиг. 2 представляет собой изображение несущей колоректальную опухоль (HCT-116) мыши, подвергнутой инъекции CLR 1502 (соединения (2)), показывающее локализацию в опухоли.

Фиг. 3 представляет собой график цитотоксичности в зависимости от концентрации для цитотоксического соединения (FLV1), по сравнению с цитотоксическим соединением, конъюгированным с PLE (CLR 1865, соединением (8)), в клетках A549 (аденокарциномы легкого человека) или нормальных фибробластах кожи человека (NHDF).

Фиг. 4 представляет собой график кратности увеличения в зависимости от времени для поглощения PLE-конъюгата CLR 1852 (соединения (9)) в клетках A375 (меланомы человека) и HEK293 (эмбриональной почки человека).

Фиг. 5 представляет собой изображения модели рака молочной железы на мышах, показывающие поглощение *in vivo* CLR 1502 (соединения (2)).

Фиг. 6 представляет собой изображения линий клеток миеломы, показывающие поглощение CLR 1501 (соединения (1)).

Фиг. 7 представляет собой изображения стволовых раковых клеток, нормальной ткани головного мозга и нормальных стволовых клеток, показывающие специфическое поглощение CLR 1501 (соединения (1)) в раковых клетках.

Фиг. 8 представляет собой график процента цитотоксичности в зависимости от концентрации для CLR 1852 (соединения (9)), по сравнению с FLV3, в клетках A549 (аденокарциномы легкого человека) и нормальных фибробластах кожи человека (NHDF).

Фиг. 9 представляет собой график объема опухоли в зависимости от времени для носителя, по сравнению с CLR 1852 (соединением (9)), в модели опухоли HCT 116.

Фиг. 10 представляет собой график массы тела в зависимости от времени для носителя, по сравнению с CLR 1852 (соединением (9)), в модели опухоли HCT 116.

Фиг. 11 представляет собой график концентрации в зависимости от времени для FLV3, детектированного в цитозоле (нормализованной по цитозольному объему) в линиях клеток A375 (меланомы человека) и A549 (аденокарциномы легкого человека).

На фиг. 12 показаны репрезентативные результаты для изменений массы тела в модели на мышах после введения CLR 1899 (при 0,5, 1 и 2 мг/кг).

На фиг. 13 показаны репрезентативные результаты для эффективности *in vivo* CLR 1899 в модели ксенотрансплантата MCF-7 (10 мышей на группу дозирования).

Подробное описание настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к фосфолипидным соединениям и конъюгатам фосфолипид-флаваглин. На основании многочисленных опухолей животных и человека, содержащих более высокие концентрации природных липидов с простой эфирной связью, чем нормальные ткани, разработаны молекулы фосфолипидного эфира (PLE). Молекулы PLE, подробно раскрытые в настоящем документе, можно использовать в качестве платформы для нацеливания на опухоль для избирательной доставки лекарственных средств к клеткам опухолей и рака.

Как подробно раскрыто в настоящем документе, распределение в тканях молекул PLE проверяли в клетках более 100 различных опухолей, включая свежие образцы опухолей человека. Для молекул PLE показано увеличенное поглощение в ткани опухоли, по сравнению с нормальной тканью. Молекулы PLE могут являться конъюгированными с молекулами флаваглина и их производными посредством линкеров для формирования конъюгатов фосфолипид-флаваглин.

1. Определения

Если не определено иное, все технические и научные термины, применяемые в настоящем документе, имеют такое же значение, какое является общепринятым для специалиста в данной области. В случае противоречия настоящий документ, включая определения, имеет преимущество. Предпочтительные способы и материалы раскрыты ниже, хотя способы и материалы, сходные или эквивалентные с раскрытыми в настоящем документе, можно использовать в практическом осуществлении или тестировании настоящего изобретения. Полное содержание всех публикаций, патентных заявок, патентов и других ссылок, упомянутых в настоящем документе, включено в настоящий документ посредством ссылки. Материалы, способы и примеры, раскрытые в настоящем документе, являются только иллюстративными и не предназначены, чтобы являться ограничивающими.

Термины "содержит(ат)", "включает(ют)", "имеющий", "имеет", "может", "вмещает(ют)" и их варианты, в рамках изобретения, предназначены, чтобы представлять собой неограничивающие переходные

фразы, термины или слова, которые не препятствуют возможности дополнительных действий или структур. Формы единственного числа включают объекты ссылки множественного числа, если контекст явно не требует иного. Настоящее описание также предусматривает другие варианты осуществления, "содержащие", "состоящие из" и "по существу состоящие из" вариантов осуществления или элементов, представленных в настоящем документе, независимо от того, указаны они явно или нет.

Для перечисления числовых диапазонов в настоящем документе, каждое промежуточное количество между пределами явно предусмотрено с такой же степенью точности. Например, для диапазона 6-9, числа 7 и 8 предусмотрены в дополнение к 6 и 9, и для диапазона 6,0-7,0, числа 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 и 7,0 явно предусмотрены.

Термин "приблизительно", в рамках изобретения, как применимо к одному или более представляющим интерес значениям, относится к значению, которое является сходным с указанным эталонным значением. В конкретных аспектах, термин "приблизительно" относится к диапазону значений, попадающих в пределы 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или менее в каждом направлении (более чем или менее чем) от указанного эталонного значения, если не указано иное или иное не очевидно из контекста (за исключением того, когда такое количество может превышать 100% от возможного значения).

Определения конкретных функциональных групп и химических терминов более подробно раскрыты ниже. Для целей согласно настоящему изобретению, химические элементы идентифицированы в соответствии с Периодической Таблицей элементов, версии CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed., inside cover, и конкретные функциональные группы в общем определены, как раскрыто там. Кроме того, общие принципы органической химии, так же как специфические функциональные группы и реакционная способность, раскрыты в Organic Chemistry, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito, 1999; Smith and March March's Advanced Organic Chemistry, 7th Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, 2013; Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, Inc., New York, 1989; Carruthers, Some Modern Methods of Organic Synthesis, 3rd Edition, Cambridge University Press, Cambridge, 1987; полное содержание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

Термин "алкокси" или "алкоксил", в рамках изобретения, относится к алкильной группе, как определено в настоящем документе, присоединенной к родительской молекулярной группе через атом кислорода. К репрезентативным примерам алкокси относятся, но без ограничения, метокси, этокси, пропокси, 2-пропокси, бутокси и трет-бутокси.

Термин "алкил", в рамках изобретения, означает прямую или разветвленную, насыщенную углеводородную цепь, содержащую от 1 до 20 атомов углерода. Термин "низший алкил" или "C₁₋₆ алкил" означает углеводород с прямой или разветвленной цепью, содержащей от 1 до 6 атомов углерода. Термин "C₁₋₄ алкил" означает углеводород с прямой или разветвленной цепью, содержащей от 1 до 4 атомов углерода. Термин "C₁₋₃ алкил" означает углеводород с прямой или разветвленной цепью, содержащей от 1 до 3 атомов углерода. К репрезентативным примерам алкила относятся, но без ограничения, метил, этил, н-пропил, изо-пропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, неопентил, н-гексил, 3-метилгексил, 2,2-диметилпентил, 2,3-диметилпентил, н-гептил, н-октил, н-нонил и н-децил.

Термин "алкенил", в рамках изобретения, означает ненасыщенную углеводородную цепь, содержащую от 2 до 20 атомов углерода и по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь.

Термин "алкинил", в рамках изобретения, означает ненасыщенную углеводородную цепь, содержащую от 2 до 20 атомов углерода и по меньшей мере одну углерод-углеродную тройную связь.

Термин "алкоксиалкил", в рамках изобретения, относится к алкоксигруппе, как определено в настоящем документе, присоединенной к родительской молекулярной группе через алкиленовую группу, как определено в настоящем документе.

Термин "арилалкил", в рамках изобретения, относится к арильной группе, как определено в настоящем документе, присоединенной к родительской молекулярной группе через алкиленовую группу, как определено в настоящем документе.

Термин "алкиламино", в рамках изобретения, означает по меньшей мере одну алкильную группу, как определено в настоящем документе, присоединенную к родительской молекулярной группе через аминогруппу, как определено в настоящем документе.

Термин "алкилен" в рамках изобретения, относится к двухвалентной группе, полученной из углеводорода с прямой или разветвленной цепью из 1-10 атомов углерода, например, из 2-5 атомов углерода. К репрезентативным примерам алкилена относятся, но без ограничения, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂CH₂- и -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-.

Термин "амид", в рамках изобретения, означает -C(O)NR- или -NRC(O)-, где R может представлять собой водород, алкил, циклоалкил, арил, гетероарил, гетероцикл, алкенил или гетероалкил.

Термин "аминоалкил", в рамках изобретения, означает по меньшей мере одну аминогруппу, как определено в настоящем документе, присоединенную к родительской молекулярной группе через алкиленовую группу, как определено в настоящем документе.

Термин "амино", в рамках изобретения, означает -NR_xR_y, где R_x и R_y могут представлять собой водород, алкил, циклоалкил, арил, гетероарил, гетероцикл, алкенил или гетероалкил. В случае амина-

кильной группы или любой другой группы, где амино соединяет вместе две другие группы, амино может представлять собой $-NR_x-$, где R_x может представлять собой водород, алкил, циклоалкил, арил, гетероарил, гетероцикл, алкенил или гетероалкил.

Термин "арил", в рамках изобретения, относится к ароматической группе, такой как фенильная группа, или бициклическая конденсированная кольцевая система. Бициклические конденсированные кольцевые системы проиллюстрированы фенильной группой, присоединенной к родительской молекулярной группе и конденсированной с циклоалкильной группой, как определено в настоящем документе, фенильной группой, гетероарильной группой, как определено в настоящем документе, или гетероциклом, как определено в настоящем документе. К репрезентативным примерам арила относятся, но без ограничения, индолил, нафтил, фенил, хинолинил и тетрагидрохинолинил. "Арилалкил" относится к алкилу, как определено в настоящем документе, замещенному арильным радикалом.

"Арилен" относится к арилу, как определено в настоящем документе, имеющему два одновалентных радикальных центра, полученных в результате удаления двух атомов водорода от двух различных атомов углерода родительского арила. Типичные арильные радикалы включают, но без ограничения, фенилен и нафтилен. "Арилалкилен" относится к арилалкилу, как определено в настоящем документе, имеющему два одновалентных радикальных центра, полученных в результате удаления одного атома водорода из арильного радикала и удаления другого атома водорода из алкильного радикала группы.

Термин "карбоксил" в рамках изобретения означает карбоновую кислоту или $-COOH$.

Термин "циклоалкил" означает одновалентное насыщенное углеводородное кольцо или бициклическую группу. Циклоалкильные группы имеют нуль гетероатомов и нуль двойных связей. Циклоалкильные группы являются моноциклическими, или представляют собой конденсированные, спиро- или мостиковые бициклические кольцевые системы. Моноциклические циклоалкильные группы содержат 3-10 атомов углерода, предпочтительно 4-7 атомов углерода и более предпочтительно 5-6 атомов углерода в кольце. Бициклические циклоалкильные группы содержат 8-12 атомов углерода, предпочтительно 9-10 атомов углерода в кольце. Циклоалкильные группы могут являться замещенными или незамещенными. Циклоалкильные группы включают, например, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил и циклогептил.

Термин "циклоалкенил", в рамках изобретения, означает неароматическую моноциклическую или мультициклическую кольцевую систему, содержащую по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь и предпочтительно, имеющую от 5 до 10 атомов углерода на кольцо. Приведенные в качестве примера моноциклические циклоалкенильные кольца включают циклопентенил, циклогексенил и циклогептенил.

Термин "циклоалкинил" в рамках изобретения означает моноциклическую или мультициклическую кольцевую систему, содержащую по меньшей мере одну углерод-углеродную тройную связь и предпочтительно, имеющую от 5 до 10 атомов углерода на кольцо или более чем 10 атомов углерода на кольцо.

Термин "галоалкил", в рамках изобретения, означает алкильную группу, как определено в настоящем документе, в которой один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь атомов водорода замещены галогеном. К репрезентативным примерам галоалкила относятся, но без ограничения, 2-фторэтил, 2,2,2-трифторэтил, трифторметил, дифторметил, пентафторэтил и трифторпропил, такой как 3,3,3-трифторпропил.

Термин "галоген" или "гало", в рамках изобретения, означает Cl, Br, I или F.

Термин "гетероалкил", в рамках изобретения, означает алкильную группу, как определено в настоящем документе, в которой по меньшей мере один из атомов углерода алкильной группы замещен гетероатомом, таким как кислород, азот и сера. К репрезентативным примерам гетероалкилов относятся, но без ограничения, алкилэферы, вторичные и третичные алкиламины, амиды и алкилсульфиды.

Термин "гетероарил" в рамках изобретения, относится к ароматическому моноциклическому кольцу или ароматической бициклической кольцевой системе, содержащим по меньшей мере один гетероатом, независимо выбранный из группы, состоящей из N, O и S. Ароматические моноциклические кольца представляют собой пяти-или шестичленные кольца, содержащие по меньшей мере один гетероатом, независимо выбранный из группы, состоящей из N, O и S. Пятичленные ароматические моноциклические кольца имеют две двойные связи, и шестичленные ароматические моноциклические кольца имеют три двойные связи. Бициклические гетероарильные группы проиллюстрированы моноциклическим гетероарильным кольцом, присоединенным к родительской молекулярной группе и конденсированным с моноциклической циклоалкильной группой, как определено в настоящем документе, моноциклической арильной группой, как определено в настоящем документе, моноциклической гетероарильной группой, как определено в настоящем документе, или моноциклическим гетероциклом, как определено в настоящем документе. К репрезентативным примерам гетероарила относятся, но без ограничения, индолил, пиридинил (включая пиридин-2-ил, пиридин-3-ил, пиридин-4-ил), пиримидинил, пиазинил, пиридазинил, пирролил, бензопиразолил, 1,2,3-триазалил, 1,3,4-тиадиазолил, 1,2,4-тиадиазолил, 1,3,4-оксадиазолил, 1,2,4-оксадиазолил, имидазолил, тиазолил, изотиазолил, тиенил, бензимидазолил, бензотиазолил, бензоксазолил, бензоксадиазолил, бензотиенил, бензофуранил, изобензофуранил, фуранил, оксазолил, изоксазолил, пуринил, изоиндолил, хиноксалинил, индазолил, хиназолинил, 1,2,4-триазинил,

1,3,5-триазинил, изохинолинил, хинолинил, 6,7-дигидро-1,3-бензотиазолил, имидазо[1,2-а]пиридинил, нафтиридинил, пиридоимдазолил, тиазоло[5,4-б]пиридин-2-ил, тиазоло[5,4-д]пиримидин-2-ил.

Термин "гетероцикл" или "гетероциклический", или "гетероциклил", в рамках изобретения, означает моноциклический гетероцикл, бициклический гетероцикл (гетеробициклический) или трициклический гетероцикл. Моноциклический гетероцикл представляет собой трех-, четырех-, пяти-, шести-, семи- или восьмичленное кольцо, содержащее по меньшей мере один гетероатом, независимо выбранный из группы, состоящей из O, N и S. Трех- или четырехчленное кольцо содержит нуль или одну двойную связь, и один гетероатом, выбранный из группы, состоящей из O, N и S. Пятичленное кольцо содержит нуль или одну двойную связь и один, два или три гетероатома, выбранные из группы, состоящей из O, N и S. Шестичленное кольцо содержит нуль, одну или две двойных связи и один, два или три гетероатома, выбранные из группы, состоящей из O, N и S. Семи- и восьмичленные кольца содержат нуль, одну, две или три двойных связи и один, два или три гетероатома, выбранные из группы, состоящей из O, N и S. К репрезентативным примерам моноциклических гетероциклов относятся, но без ограничения, азетидинил, азепапил, азиридинил, диазепанил, 1,3-диоксанил, 1,3-диоксоланил, 1,3-дитиоланил, 1,3-дитианил, имидазолинил, имидазолидинил, изотиазолидинил, изотиазолидинил, изоксазолинил, изоксазолидинил, морфолинил, оксадиазолинил, оксадиазолидинил, оксазолинил, оксазолидинил, оксетанил, пиперазинил, пиперидинил, пиранил, пиразолинил, пиразолидинил, пирролинил, пирролидинил, тетрагидрофуранил, тетрагидропиранил, тетрагидропиридинил, тетрагидротииенил, тиадиазолинил, тиадиазолидинил, 1,2-тиазинанил, 1,3-тиазинанил, тиазолинил, тиазолидинил, тиоморфолинил, 1,1-диоксидотиоморфолинил (тиоморфолинсульфон), тиопиранил и тритианил. Бициклический гетероцикл представляет собой моноциклический гетероцикл, конденсированный с фенильной группой, или моноциклический гетероцикл, конденсированный с моноциклическим циклоалкилом, или моноциклический гетероцикл, конденсированный с моноциклическим циклоалкенилом, или моноциклический гетероцикл, конденсированный с моноциклическим гетероциклом, или соединенную мостиковой связью моноциклическую гетероциклическую кольцевую систему, в которой два несмежных атома кольца связаны алкиленовым мостиком из 1, 2, 3 или 4 атомов углерода, или алкениленовым мостиком из двух, трех или четырех атомов углерода. К репрезентативным примерам бициклических гетероциклов относятся, но без ограничения, бензопиранил, бензотииопиранил, хроманил, 2,3-дигидробензофуранил, 2,3-дигидробензотииенил, 2,3-дигидроизохинолин, азабицикло[2,2,1]гептил (включая 2-азабицикло[2,2,1]гепт-2-ил), 2,3-дигидро-1Н-индолил, изоиндолинил, октагидроциклопента[с]пирролил, октагидропирролопиридинил и тетрагидроизохинолинил. Трициклические гетероциклы проиллюстрированы бициклическим гетероциклом, конденсированным с фенильной группой, или бициклическим гетероциклом, конденсированным с моноциклическим циклоалкилом, или бициклическим гетероциклом, конденсированным с моноциклическим циклоалкенилом, или бициклическим гетероциклом, конденсированным с моноциклическим гетероциклом, или бициклическим гетероциклом, в котором два несмежных атома бициклического кольца связаны алкиленовым мостиком из 1, 2, 3 или 4 атомов углерода, или алкениленовым мостиком из двух, трех или четырех атомов углерода. К примерам трициклических гетероциклов относятся, но без ограничения, октагидро-2,5-эпоксипентален, гексагидро-2Н-2,5-метанциклопента[б]фуран, гексагидро-1Н-1,4-метанциклопента[с]фуран, азаадамтан(1-азатрицикло[3,3,1,1^{3,7}]декан) и оксаадамтан(2-оксатрицикло[3,3,1,1^{3,7}]декан). Моноциклические, бициклические и трициклические гетероциклы связаны с родительской молекулярной группой через любой атом углерода или любой атом азота, входящий в состав колец, и могут являться незамещенными или замещенными.

Термин "гетероарилалкил", в рамках изобретения, относится к гетероарильной группе, как определено в настоящем документе, присоединенной к родительской молекулярной группе через алкиленовую группу, как определено в настоящем документе.

Термин "гетероциклилалкил", в рамках изобретения, относится к гетероциклической группе, как определено в настоящем документе, присоединенной к родительской молекулярной группе через алкиленовую группу, как определено в настоящем документе.

Термин "гидроксил" или "гидрокси", в рамках изобретения, означает группу -ОН.

Термин "гидроксиалкил" в рамках изобретения означает по меньшей мере одну группу -ОН, присоединенную к родительской молекулярной группе через алкиленовую группу, как определено в настоящем документе.

В некоторых случаях количество атомов углерода в гидрокарбильном заместителе (например, алкиле или циклоалкиле) указано посредством приставки "C_{x-y}", где x представляет собой минимальное и y представляет собой максимальное количество атомов углерода в заместителе. Таким образом, например, "C₁₋₃ алкил" относится к алкильному заместителю, содержащему от 1 до 3 атомов углерода.

Термин "замещенный" относится к группе, которая может являться дополнительно замещенной одной или более отличными от водорода группами заместителей. Группы заместителей включают, но без ограничения, галоген, =O (оксо), =S (тиоксо), циано, нитро, фторалкил, алкоксифторалкил, фторалкокси, алкил, алкенил, алкинил, галоалкил, галоалкокси, гетероалкил, циклоалкил, циклоалкенил, арил, гетероарил, гетероцикл, циклоалкилалкил, гетероарилалкил, арилалкил, гидроксил, гидроксилалкил, алкокси, алкоксиалкил, алкилен, арилокси, фенокси, бензилокси, амино, алкиламино, ациламино, аминоалкил,

ариламино, сульфониламино, сульфиниламино, сульфонил, алкилсульфонил, арилсульфонил, аминоксульфонил, сульфинил, -COOH, кетон, амид, карбамат и ацил.

Термин "" обозначает одинарную связь (—) или двойную связь (=), или тройную связь (≡).

Для соединений, раскрытых в настоящем документе, их группы и заместители могут быть выбраны в соответствии с допустимой валентностью атомов и заместителей, так чтобы выбор и замещения приводили к получению стабильного соединения, например, которое не подвергается спонтанно трансформации, например, посредством реаранжировки, циклизации, уничтожения и т.д.

Термин "введение" или "осуществление введения", в рамках изобретения, относится к предоставлению, приведению в контакт и/или доставке соединения или конъюгата посредством подходящего способа для достижения желательного эффекта. Эти соединения или конъюгаты можно вводить субъекту различными способами, включая, но без ограничения, перорально, в глаза, назально, внутривенно, местно, в форме аэрозолей, суппозитория и т.д., и можно использовать в комбинации.

В рамках изобретения "рак" может включать любую клетку или ткань, происходящую из опухоли, неоплазии, рака, предрака, линии клеток, злокачественного новообразования или любого другого источника клеток, которые имеют потенциал к размножению и росту до неограниченной степени. Раковые клетки могут происходить из природных источников или могут быть получены искусственно. Раковые клетки могут также являться способными к инвазии в другие ткани и метастазированию. Раковые клетки кроме того, включают любые злокачественные клетки, подвергшиеся инвазии в другие ткани и/или метастазированию. Одна или более раковых клеток в контексте организма могут быть также названы раком, опухолью, неоплазией, ростом, злокачественным новообразованием или любым другим термином, используемым в данной области для описания клеток в раковом состоянии. Рак может включать, например, меланому, рак мозга, рак легкого, рак надпочечника, рак печени, ренальный рак или рак почки, рак поджелудочной железы, рак пищевода, гастральный рак, рак желудка, рак толстого кишечника, колоректальный рак, анальный рак, рак предстательной железы, рак яичника, рак молочной железы, рак шейки матки, лимфому, лейкоз, миелому, гематологический рак, гепатокарциному, ретинобластому, глиому, саркому, бластому, плоскоклеточную карциному и аденокарциному.

В рамках изобретения термин "раковая стволовая клетка" относится к раковой клетке, способной к самообновлению и дифференцировке в различные типы раковых клеток, обнаруженных в злокачественной опухоли.

Как правило, ссылка на "циркулирующую клетку опухоли" (СТС) предназначена для обозначения одиночной клетки, в то время как ссылка на "циркулирующие клетки опухолей" или "кластер циркулирующих клеток опухолей" предназначена для обозначения более чем одной раковой клетки. Однако, специалисту в данной области понятно, что ссылка на "циркулирующие клетки опухолей" предназначена для включения популяции циркулирующих клеток опухолей, включая одну или более циркулирующих клеток опухолей, в то время как ссылка на "циркулирующую клетку опухоли" может включать более чем одну циркулирующую клетку опухоли. Термин "циркулирующая клетка опухоли" или "циркулирующие клетки опухолей", в рамках изобретения, относится к любой раковой клетке или кластеру раковых клеток, обнаруженных в образце крови или сыворотки крови субъекта. СТС могут также содержать или состоять из раковой стволовой клетки или кластера раковых стволовых клеток, обнаруженных в образце крови или сыворотки крови субъекта.

Термины "контроль", "эталонный уровень" и "эталон" использованы в настоящем документе взаимозаменяемо. Эталонный уровень может представлять собой predetermined значение или диапазон, которые используют в качестве ориентира, против которого надлежит оценивать результат измерения. "Контрольная группа", в рамках изобретения, относится к группе контрольных субъектов. Предetermined уровень может представлять собой значение порога отсечения от контрольной группы. Предetermined уровень может представлять собой среднее из контрольной группы. Значения порогов отсечения (или predetermined значения порогов отсечения) можно определять посредством способа адаптивной индексной модели (AIM). Значения порогов отсечения (или predetermined значения порогов отсечения) можно определять посредством анализа кривой операционных характеристик приемника (ROC) для биологических образцов из группы пациентов. Анализ ROC, как в общем известно в области биологии, представляет собой определение способности теста отличать одно состояние от другого. Описание анализа ROC представлено в P.J. Heagerty et al. (Biometrics 2000, 56, 337-44), полное содержание которого, таким образом, включено в настоящий документ посредством ссылки. Альтернативно, значения порогов отсечения можно определять посредством анализа квартилей биологических образцов из группы пациентов. Например, значение порога отсечения можно определять посредством выбора значения, соответствующего любому значению в диапазоне 25-75-го перцентиля, предпочтительно значения, соответствующего 25-му перцентилю, 50-му перцентилю или 75-му перцентилю и более предпочтительно 75-му перцентилю. Такие статистические анализы можно проводить с использованием любого способа, известного в данной области, и можно воплощать посредством любого количества коммерчески доступных пакетов программного обеспечения (например, из Analyse-it Software Ltd., Leeds, UK; Stata-Corp LP, College Station, TX; SAS Institute Inc., Cary, NC). Здоровые или нормальные уровни или диапа-

зоны для мишени или для активности белка можно определять в соответствии со стандартной практикой. Контроль может представлять собой субъекта или образец от него, состояние заболевания которого является известным. Субъект, или образец от него, может являться здоровым, пораженным заболеванием, пораженным заболеванием до лечения, пораженным заболеванием во время лечения, пораженным заболеванием после лечения или здоровым после лечения, или представлять собой комбинацию этого. Термин "нормальный субъект" в рамках изобретения, означает здорового субъекта, т.е., субъекта, не имеющего клинических признаков или симптомов заболевания. Нормального субъекта клинически оценивают по не детектированным иным образом признакам или симптомам заболевания, где оценка может включать общепринятое физическое обследование и/или лабораторное тестирование. Согласно некоторым вариантам осуществления, контроль представляет собой здоровый контроль. Согласно некоторым вариантам осуществления контроль включает рак.

Термин "эффективная доза" или "терапевтическая доза", или "терапевтически эффективное количество", или "эффективное количество", в рамках изобретения, означает количество, достаточное для оказания терапевтического эффекта, или дозу лекарственного средства, эффективную в течение необходимых периодов времени, для достижения желательного терапевтического результата. Эффективную дозу может определять специалист в данной области, и она может меняться в соответствии с такими факторами, как состояние заболевания, возраст, пол и масса индивидуума, способ введения, стадия и тяжесть заболевания, общее состояние здоровья субъекта, решение лечащего терапевта и способность лекарственного средства вызывать желательный ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество также представляет собой количество, при котором терапевтически благоприятные эффекты вещества перевешивают его любые токсические или вредные эффекты. "Профилактически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в необходимых дозах и в течение необходимых периодов времени, для достижения желательного профилактического результата. Как правило, поскольку профилактическую дозу используют у субъектов до заболевания или на более ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество будет меньше, чем терапевтически эффективное количество.

Термины "ингибировать" или "ингибирующий" означают, что активность уменьшается или предотвращается в присутствии ингибитора, в отличие от отсутствия ингибитора. Термин "ингибирование" относится к уменьшению или понижающей регуляции процесса, или уничтожению стимула для процесса, что приводит к отсутствию или минимизации экспрессии или активности биомаркера или полипептида. Ингибирование может являться прямым или опосредованным. Ингибирование может являться специфическим, то есть, ингибитор ингибирует некоторый биомаркер или полипептид, а не другие.

"Образец" или "тестируемый образец", в рамках изобретения, может означать любой образец, в котором присутствие и/или уровень соединения или мишени надлежит детектировать или определять. Образцы могут включать жидкости, растворы, эмульсии, смеси или суспензии. Образцы могут включать медицинский образец. Образцы могут включать любую биологическую жидкость или ткань, такую как кровь, цельная кровь, фракции крови, такие как плазма и сыворотка, мононуклеарные клетки периферической крови (РВМС), мышца, интерстициальная жидкость, пот, слюна, моча, слезы, синовиальная жидкость, костный мозг, спинномозговая жидкость, носовой секрет, мокрота, амниотическая жидкость, жидкость бронхоальвеолярного лаважа, жидкость желудочного лаважа, рвота, каловые массы, ткань легкого, мононуклеарные клетки периферической крови, тотальные лейкоциты, клетки лимфатического узла, клетки селезенки, клетки миндалин, клетки рака, клетки опухолей, желчь, пищеварительный сок, кожу или их комбинации. Согласно некоторым вариантам осуществления, образец содержит аликвоту. В других вариантах осуществления, образец содержит биологическую жидкость. Образцы можно получать посредством любых способов, известных в данной области. Образец можно использовать непосредственно, как получено от пациента, или можно предварительно обрабатывать, например, посредством фильтрации, дистилляции, экстракции, концентрирования, центрифугирования, инактивации создающих помехи компонентов, добавления реагентов и т.п., для модификации характера образца некоторым образом, как обсуждают в настоящем документе, или иным образом, как известно в данной области. Образцы можно получать до диагностики, до лечения, во время лечения, после лечения или после диагностики, или в комбинации этого.

Термин "специфичность", в рамках изобретения, относится к количеству истинно отрицательных, деленному на количество истинно отрицательных плюс количество ложно положительных, где специфичность ("спец.") может лежать в диапазоне $0 < \text{спец.} < 1$. Таким образом, способ, имеющий как чувствительность, так и специфичность, равные одному, или 100%, является предпочтительным.

Под "специфически связывается", в общем понимают, что соединение или конъюгат связывается с мишенью, когда они связываются с этой мишенью более легко, чем они будут связываться со случайной, неродственной мишенью.

"Субъект" в рамках изобретения может означать млекопитающее, имеющее желание или необходимость использования раскрытых в настоящем документе соединений или способов. Субъект может представлять собой человека или не относящееся к человеку животное. Субъект может представлять собой млекопитающее. Млекопитающее может представлять собой примата или не примата. Млекопитающее может представлять собой примата, такого как человек; не примата, например такого как собака, кошка,

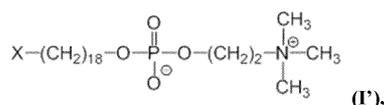
лошадь, корова, свинья, мышь, крыса, верблюд, лама, коза, кролик, овца, хомяк и морская свинка; или не относящегося к человеку примата, например, такого как обезьяна, шимпанзе, горилла, орангутанг и гиббон. Субъект может иметь любой возраст или стадию развития, например, такой как взрослый, подросток или младенец. Субъект может иметь мужской или женский пол. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект имеет специфический генетический маркер.

В рамках изобретения термин "токсичный" относится к количеству химического соединения, средства или вещества, которое может являться опасным для субъекта или вызывать какой-либо неблагоприятный эффект. Термин "нетоксичный" относится к веществу с относительно низкой степенью, до которой оно может наносить повреждение субъекту. "Цитотоксический" относится к химическому соединению, средству или веществу, которое является токсичным для клеток. Токсичность может относиться к эффекту на весь организм, такой как животное, бактерия, растение или другой субъект, как определено в настоящем документе, так же как эффект на подструктуру организма, такую как клетка (цитотоксичность) или орган (органотоксичность), такой как печень (гепатотоксичность). Центральной концепцией токсикологии является то, что эффекты являются зависимыми от дозы; даже вода может приводить к водной интоксикации при приеме в достаточно больших дозах, в то время как даже для очень токсичного вещества, такого как змеиный яд, существует доза, ниже которой не присутствует поддающегося детекции токсичного эффекта. Композиция или соединение, которые являются относительно нетоксичными, могут обеспечивать для более широкого ряда субъектов возможность безопасных манипуляций с композицией или соединением, без серьезных опасений или рисков, применительно к безопасности.

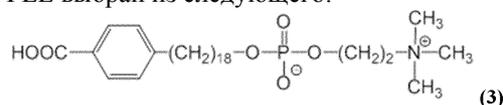
Термины "лечить", "подвергнутый лечению", или "лечение" в рамках изобретения относится к терапевтическому вмешательству, где целью является замедление (уменьшение) нежелательного физиологического состояния, нарушения или заболевания, или получение обеспечивающих преимущество или желательных клинических результатов. Для целей по этому изобретению, обеспечивающие преимущество или желательные клинические результаты включают, но без ограничения, облегчение симптомов; уменьшение степени состояния, нарушения или заболевания; стабилизацию (т.е., отсутствие ухудшения) состояния для состояния, нарушения или заболевания; задержку начала или замедление прогрессирования состояния, нарушения или заболевания; облегчение состояния для состояния, нарушения или заболевания; и ремиссию (либо частичную, либо полную), либо поддающуюся детекции, либо не поддающуюся детекции, или усовершенствование или улучшение состояния, нарушения или заболевания. Лечение также включает продление выживаемости, по сравнению с ожидаемой выживаемостью при отсутствии подвергания лечению. "Лечение" или "подвергание лечению", применительно к защите субъекта от заболевания, означает супрессию, подавление, облегчение или полное уничтожение заболевания. Предотвращение заболевания включает введение композиции согласно настоящему изобретению субъекту до начала заболевания. Супрессия заболевания включает введение композиции согласно настоящему изобретению субъекту после индукции заболевания, но до его клинического проявления. Подавление или облегчение заболевания включает введение композиции согласно настоящему изобретению субъекту после клинического проявления заболевания. Заболевание может включать рак.

2. Фосфолипидные эфиры

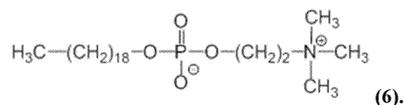
Настоящее изобретение относится к молекулам фосфолипидного эфира (PLE). PLE может соответствовать формуле (1') или ее соли



где X представляет собой водород, метил, или фенил, замещенный карбоксилем. Согласно некоторым вариантам осуществления PLE выбран из следующего:



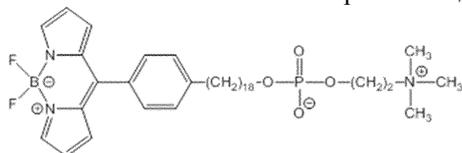
и



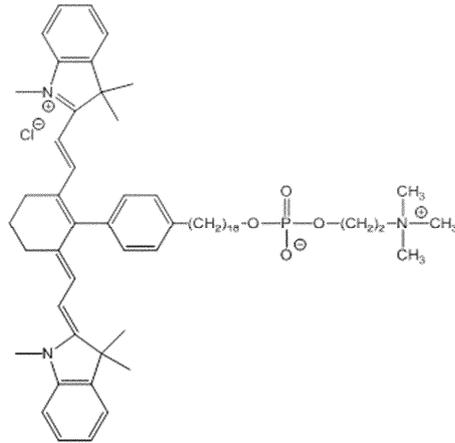
PLE может являться конъюгированным с поддающейся детекции меткой (также обозначенной как репортер или метка), например, такой как флуоресцентная молекула, хемилюминесцентная молекула, радиоактивная метка, магнитная метка, молекула с излучением в инфракрасном диапазоне или их комбинация. Магнитные метки представляют собой метящие группы, которые, при достаточном взаимодействии с датчиком присутствия магнитного поля, поддаются детекции посредством датчика присутствия магнитного поля и вынуждают датчик присутствия магнитного поля испускать сигнал. Магнитные метки могут включать один или более материалов, выбранных из парамагнитных, суперпарамагнитных, ферромагнитных, ферромагнитных, антиферромагнитных материалов, их комбинаций и т.п. Флуоресцент-

ные метки представляют собой метящие группы, которые поддаются детекции посредством флуоресцентного детектора. Пригодные флуоресцентные молекулы (флуорофоры) включают, но без ограничения, флуоресцеин, изотиоцианат флуоресцеина, сукцинимидиловые сложные эфиры карбоксифлуоресцеина, сукцинимидиловые сложные эфиры флуоресцеина, 5-изомер флуоресцеин-дихлортриазина, запертый карбоксифлуоресцеин-аланин-карбоксамид, орегонский зеленый 488, орегонский зеленый 514; Lucifer желтый, акридин оранжевый, родамин, тетраметилродамин, техасский красный, иодид пропидия, JC-1 (иодид 5,5',6,6'-тетрахлор-1,1',3,3'-тетраэтилбензимидазоилкарбоцианина), тетрабромродамин 123, родамин 6G, TMRM (метильный сложный эфир тетраметилродамина), TMRE (этиловый сложный эфир тетраметилродамина), тетраметилрозамин, родамин В и 4-диметиламинотетраметилрозамин, зеленый флуоресцентный белок, зеленый флуоресцентный белок с синим смещением, зеленый флуоресцентный белок с голубым смещением, зеленый флуоресцентный белок с красным смещением, зеленый флуоресцентный белок с желтым смещением, 4-ацетидамо-4'-изотиоцианатстильбен-2,2'-дисульфоновую кислоту; акридин и производные, такие как акридин, акридинизотиоцианат; 5-(2'-аминоэтил)аминонафталин-1-сульфоновою кислоту (EDANS); 4-амино-N-[3-винилсульфонил]фенил]нафталимид-3,5-дисульфат; N-(4-анилино-1-нафтил)малеинимид; антралиламид; 4,4-дифтор-5-(2-тиенил)-4-бора-3а,4а-диаза-5-индацен-3-пропионовою кислоту BODIPY; каскадный синий; бриллиантовый желтый; кумарин и производные: кумарин, 7-амино-4-метилкумарин (АМС, кумарин 120), 7-амино-4-трифторметилкумарин (кумарин 151); цианиновые красители; цианозин; 4',6-диаминидино-2-фенилиндол (DAPI); 5',5"-дибромпирогаллол-сульфонафталин (бромпирогаллол красный); 7-диэтиламино-3-(4'-изотиоцианатфенил)-4-метилкумарин; диэтилентриаминпентаацетат; 4,4'-диизотиоцианатдигидростильбен-2-,2'-дисульфоновую кислоту; 4,4'-диизотиоцианатстильбен-2,2'-дисульфоновую кислоту; 5-(диметиламино)нафталин-1-сульфонилхлорид (DNS, дансилхлорид); 4-диметиламинофенилазофенил-4'-изотиоцианат (DABITC); эозин и производные: эозина, изотиоцианат эозина, эритрозин и производные: эритрозин В, эритрозин, изотиоцианат; этидий; флуоресцеин и производные: 5-карбоксифлуоресцеин (FAM), 5-(4,6-дихлортриазин-2-ил)амино-1-флуоресцеин (DTAF), 2',7'-диметокси-4'5'-дихлор-6-карбоксифлуоресцеин (JOE), флуоресцеин, изотиоцианат флуоресцеина, QFITC, (XRITC); флуоресцамин; IR144; IR1446; изотиоцианат малахитового зеленого; 4-метилумбеллиферон, ортокрезолфалеин; нитротирозин; парарозанилин; фенол красный; В-фикоэритрин; о-фталдиальдегид; пирен и производные: пирен, пиренбутират, сукцинимидил-1-пирен; бутиратные квантовые точки; реактивный красный 4 (Cibacron™ бриллиантовый красный 3В-А) родамин и производные: 6-карбокси-Х-родамин (ROX), 6-карбоксиродамин (R6G), сульфонилхлорид лиссамин-родамина В, родамин (Rhod), родамин В, родамин 123, изотиоцианат родамина Х, сульфородамин В, сульфородамин 101, сульфонилхлоридное производное сульфородамина 101 (техасский красный); N,N,N',N'-тетраметил-6-карбоксиродамин (TAMRA); тетраметил родамин; изотиоцианат тетраметилродамина (TRITC); рибофлавин; 5-(2'-аминоэтил)аминонафталин-1-сульфоновою кислоту (EDANS), 4-(4'-диметиламинофенилазо)бензойную кислоту (DABCYL), розоловую кислоту; CAL Fluor оранжевый 560; производные хелата тербия; Су 3; Су 5; Су 5.5; Су 7; IRD 700; IRD 800; La Jolla синий; фталоцианин; и нафталоцианин, кумарины и родственные красители, ксантеновые красители, такие как родолы, резорурфины, биманы, акридины, изоиндолы, дансильные красители, аминифталевые гидразиды, такие как люминол, и производные изолюминола, аминифталимиды, аминафталимиды, аминобензофураны, аминохинолины, дицианогидрохиноны, флуоресцентные комплексы европия и тербия; их комбинации и т.п.

Поддающаяся детекции группа может являться ковалентно или с возможностью отщепления связанной с PLE. Например, меченый PLE может быть выбран из следующего:



CLR 1501 (1) и



CLR 1502 (2).

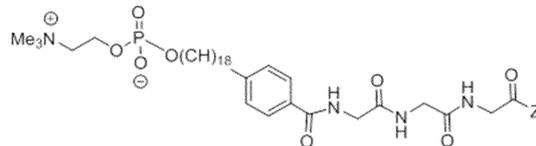
Вышеуказанное соединение (1) представляет собой PLE (3) с флуоресцентной группой, BODIPY, стабильно связанной с PLE, и может быть также обозначено как CLR 1501. Вышеуказанное соединение (2) представляет собой PLE (3) с молекулой с излучением в ближнем инфракрасном диапазоне, IR-775, стабильно связанной с PLE, и может быть также обозначено как CLR 1502. Соединения (1) и (2) могут быть также обозначены как конъюгат фосфолипид-лекарственное средство (PDC).

PLE, или его конъюгат, может являться специфическим для клетки опухоли или рака. После введения субъекту, PLE, или его конъюгат, может локализоваться в клетке опухоли или рака. PLE, или его конъюгат, может включаться в клетку опухоли или рака больше, чем в здоровую клетку. PLE, или его конъюгат, может включаться в по меньшей мере приблизительно 2 раза, по меньшей мере приблизительно 3 раза, по меньшей мере приблизительно 4 раза, по меньшей мере приблизительно 5 раз, по меньшей мере приблизительно 6 раз, по меньшей мере приблизительно 7 раз, по меньшей мере приблизительно 8 раз, по меньшей мере приблизительно 9 раз, по меньшей мере приблизительно 10 раз, по меньшей мере приблизительно 15 раз, по меньшей мере приблизительно 20 раз, по меньшей мере приблизительно 25 раз, по меньшей мере приблизительно 30 раз больше в клетки опухоли или рака, чем в здоровые клетки.

3. Соединения конъюгатов фосфолипид-флаваглин

PLE может являться конъюгированным посредством линкера с флаваглиновым соединением с формированием конъюгата фосфолипид-флаваглин (также обозначенного как конъюгат PLE-флаваглин).

Согласно одному аспекту, настоящее изобретение относится к соединению формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли

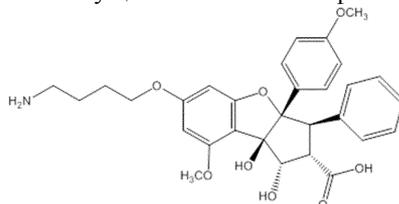


(I),

где Z представляет собой аналог флаваглина.

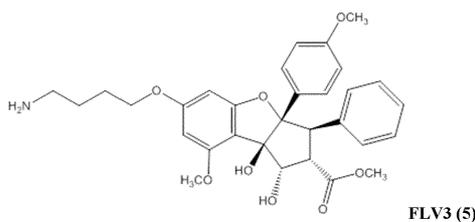
Флаваглины представляют собой семейство природных продуктов, обнаруженных в растениях рода *Aglaia* (Meliaceae). Флаваглины характеризуются циклопента[б]бензофурановым остовом. Флаваглины могут иметь сильную инсектицидную, противогрибковую, противовоспалительную, нейропротективную, кардиопротективную и противораковую активность. Флаваглины могут усиливать эффективность химиотерапевтических средств и/или смягчать неблагоприятный эффект химиотерапевтических средств на сердце. Пригодные аналоги флаваглинов включают, например, соединения, раскрытые в публикации заявки на выдачу патента США № 2018/0086729, полное содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки. Флаваглины могут включать, например, FLV1, FLV3, их производное или структурный аналог, или их комбинацию. В рамках изобретения, термин "аналог флаваглина" или "флаваглиновое противораковое лекарственное средство" включает все природные и синтетические флаваглиновые соединения, их производные и их структурные аналоги.

Согласно некоторым вариантам осуществления аналог флаваглина содержит FLV1 или его соль

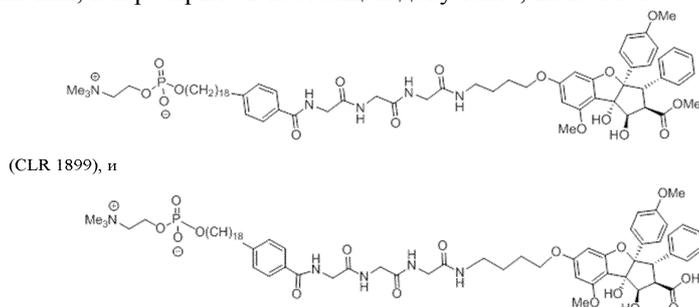


FLV1 (4)

Согласно некоторым вариантам осуществления аналог флаваглина содержит FLV3 или его соль:

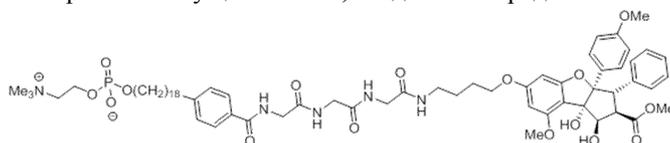


Пригодные соединения, как раскрыто в настоящем документе, включают



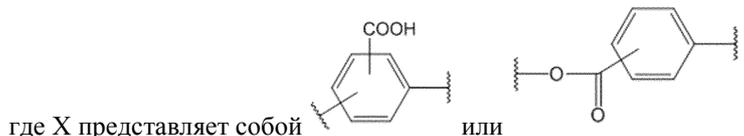
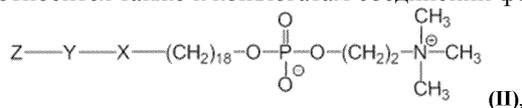
или их фармацевтически приемлемые соли.

Согласно некоторым вариантам осуществления, соединение представляет собой



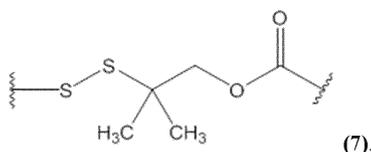
(CLR 1899) или его фармацевтически приемлемую соль.

Настоящее изобретение относится также к конъюгатам соединений формулы (II) или их солей

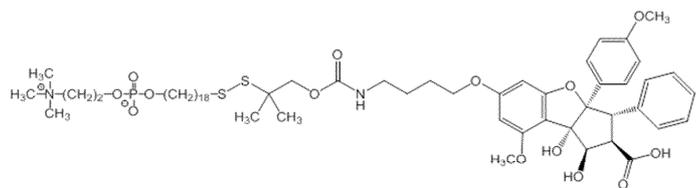


или метилен, или связь; Y представляет собой линкер, содержащий дисульфид; и Z представляет собой флаваглиновое противораковое лекарственное средство. Конъюгат соединения формулы (II) может быть также обозначен как конъюгат фосфолипид-лекарственное средство (PDC).

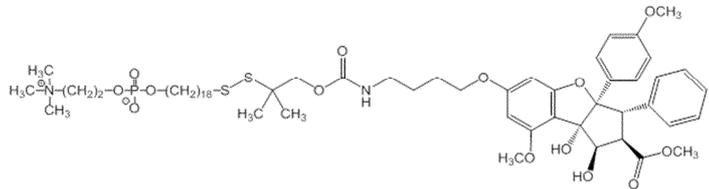
В формуле (II), линкер может представлять собой расщепляемый линкер, такой как дисульфид, и конкретно разработан для доставки флаваглина в клетку опухоли или рака. Согласно некоторым вариантам осуществления линкер содержит дисульфид. Согласно некоторым вариантам осуществления линкер содержит следующее:



Согласно некоторым вариантам осуществления, конъюгат фосфолипид-флаваглин соединение формулы (II) выбран из следующих, или их фармацевтически приемлемых солей:



CLR 1865 (с FLV1) (8), и



CLR 1852 (с FLV3) (9).

Соединения, как раскрыто в настоящем документе, могут существовать в форме стереоизомера, где присутствуют асимметрические или хиральные центры.

Сtereoизомер представляет собой "R" или "S", в зависимости от конфигурации заместителей вокруг хирального атома углерода. Термины "R" и "S", применяемые в настоящем документе, представляют собой конфигурации, как определено в IUPAC 1974 Recommendations for Section E, Fundamental Stereochemistry, in Pure Appl. Chem., 1976, 45, 13-30. Согласно настоящему изобретению предусмотрены различные стереоизомеры и их смеси, и они конкретно включены в объем настоящего изобретения. Стереоизомеры включают энантиомеры и диастереомеры, и смеси энантиомеров или диастереомеров. Индивидуальные стереоизомеры соединений можно получать синтетически из коммерчески доступных исходных материалов, которые содержат асимметрические или хиральные центры, или посредством получения рацемических смесей с последующим применением способов разделения, хорошо известных специалисту в данной области. К примерам этих способов разделения относятся (1) присоединение смеси энантиомеров к хиральному вспомогательному средству, разделение полученной смеси диастереомеров посредством перекристаллизации или хроматографии и, необязательно, освобождение оптически чистого продукта от вспомогательного средства, как раскрыто в Furniss, Hannaford, Smith, and Tatchell, "Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry", 5th edition (1989), Longman Scientific & Technical, Essex CM20 2JE, England, или (2) непосредственное разделение смеси оптических энантиомеров на хиральных хроматографических колонках, или (3) способы фракционной перекристаллизации. Следует понимать, что соединения, как раскрыто в настоящем документе, могут включать таутомерные формы, так же как геометрические изомеры, и что эти изомеры также составляют варианты осуществления настоящего изобретения. Соединения, как раскрыто в настоящем документе, могут существовать в форме рацемической смеси.

Настоящее изобретение относится также к меченному изотопом соединению, такому как меченный изотопом PLE, меченный изотопом флаваглин, меченный изотопом линкер или меченный изотопом конъюгат фосфолипид-флаваглин. Меченное изотопом соединение является идентичным соединениям, подробно раскрытым в настоящем документе, за исключением того факта, что один или более атомов заменены атомами, имеющими атомную массу или массовое число, отличные от атомной массы или массового числа, обычно обнаруживаемых в природе. К примерам изотопов, подходящих для включения в соединения по изобретению, относятся водород, углерод, азот, кислород, фосфор, сера, фтор и хлор, такие как, но без ограничения, ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F и ^{36}Cl соответственно. Замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий, т.е. ^2H , может обеспечивать определенные терапевтические преимущества, возникающие в результате большей метаболической стабильности, например, увеличение времени полужизни *in vivo* или уменьшение необходимой дозы и, таким образом, может являться предпочтительным в некоторых условиях. В соединение можно включать позитронно-активные изотопы для исследований медицинской визуализации и позитронно-эмиссионной томографии (PET) для определения распространенности рецепторов. Пригодные позитронно-активные изотопы, которые можно включать в соединения, представляют собой ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O и ^{18}F . Меченные изотопом соединения можно, как правило, получать посредством общепринятых способов, известных специалисту в данной области, или посредством способов, аналогичных раскрытым в сопутствующих примерах, с использованием подходящего меченного изотопом реагента вместо не меченного изотопом реагента.

Раскрытые PLE или конъюгат фосфолипид-флаваглин могут существовать в форме фармацевтически приемлемых солей. Термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к солям или цвиттер-ионам соединений, которые являются растворимыми или диспергируемыми в воде или масле, пригодными для лечения нарушений без излишних токсичности, раздражения и аллергических реакций, соответствующими разумному соотношению пользы/риска и эффективными для предназначенного для них применения. Соли можно получать в ходе конечного выделения и очистки соединений, или отдельно, посредством реакции аминогруппы соединений с подходящей кислотой. Например, соединение можно

растворять в подходящем растворителе, таком как, но без ограничения, метанол и вода, и обрабатывать по меньшей мере одним эквивалентом кислоты, подобной соляной кислоте. Полученную соль можно преципитировать и выделять посредством фильтрации, и сушить при пониженном давлении. Альтернативно, растворитель и избыток кислоты можно удалить при пониженном давлении для получения соли. Репрезентативные соли включают ацетат, адипат, альгинат, цитрат, аспартат, бензоат, бензолсульфонат, бисульфат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, диглюконат, глицерофосфат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, формат, изетионат, фумарат, лактат, малеат, метансульфонат, нафтиленсульфонат, никотинат, оксалат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, пикрат, оксалат, малеат, пивалат, пропионат, сукцинат, тартрат, трихлорацетат, трифторацетат, глутамат, пара-толуолсульфонат, ундеканат, соли соляной, бромистоводородной, серной, фосфорной кислот, и т.п. Аминогруппы соединений могут быть также кватернизованы с использованием алкилхлоридов, -бромидов и -иодидов, таких как метил-, этил-, пропил-, изопропил-, бутил-, лаурил-, миристил-, стеарил- и т.п.

Основно-аддитивные соли можно получать в ходе конечного выделения и очистки раскрытых соединений посредством реакции карбоксильной группы с подходящим основанием, таким как гидроксид, карбонат или бикарбонат катиона металла, такого как литий, натрий, калий, кальций, магний или алюминий, или органический первичный, вторичный или третичный амин. Можно получать соли четвертичного амина, такие как соли, полученные из метиламина, диметиламина, триметиламина, триэтиламина, диэтиламина, этиламина, трибутиламина, пиридина, N,N-диметиланилина, N-метилпиперидина, N-метилморфолина, дициклогексиламина, прокаина, дибензиламина, N,N-дибензилфенэтиламина, 1-эфенамина и N,N'-дибензилэтилендиамин, этилендиамин, этаноламина, диэтанолamina, пиперидина, пиперазина и т.п.

Соединения конъюгатов фосфолипид-флаваглин, как раскрыто в настоящем документе, могут являться специфическими для клетки опухоли или рака. После введения субъекту, соединения могут локализоваться в клетке опухоли или рака. Соединения могут локализоваться в или мигрировать к цитоплазме или органелле клетки опухоли или рака. Соединения может включаться в клетку опухоли или рака больше, чем в здоровую клетку. Соединения могут включаться в по меньшей мере приблизительно 2 раза, по меньшей мере приблизительно 3 раза, по меньшей мере приблизительно 4 раза, по меньшей мере приблизительно 5 раз, по меньшей мере приблизительно 6 раз, по меньшей мере приблизительно 7 раз, по меньшей мере приблизительно 8 раз, по меньшей мере приблизительно 9 раз, по меньшей мере приблизительно 10 раз, по меньшей мере приблизительно 15 раз, по меньшей мере приблизительно 20 раз, по меньшей мере приблизительно 25 раз, по меньшей мере приблизительно 30 раз больше в клетки опухоли или рака, чем в здоровые клетки.

Флаваглин или аналог флаваглина может отщепляться от соединений согласно настоящему изобретению, например, посредством отщепления *in vivo* после введения субъекту. Флаваглин или аналог флаваглина может локализоваться в или мигрировать к цитоплазме или органелле клетки опухоли или рака. Флаваглин или аналог флаваглина может включаться в клетку опухоли или рака больше, чем в здоровую клетку. Флаваглин или аналог флаваглина может включаться в по меньшей мере приблизительно 2 раза, по меньшей мере приблизительно 3 раза, по меньшей мере приблизительно 4 раза, по меньшей мере приблизительно 5 раз, по меньшей мере приблизительно 6 раз, по меньшей мере приблизительно 7 раз, по меньшей мере приблизительно 8 раз, по меньшей мере приблизительно 9 раз, по меньшей мере приблизительно 10 раз, по меньшей мере приблизительно 15 раз, по меньшей мере приблизительно 20 раз, по меньшей мере приблизительно 25 раз, по меньшей мере приблизительно 30 раз больше в клетки опухоли или рака, чем в здоровые клетки.

Соединения, как раскрыто в настоящем документе, можно синтезировать в соответствии со способом, раскрытым в примере 1, или другими способами, известными в данной области. Способ синтеза может включать стадии для получения группы PLE, группы аналога флаваглина и полного соединения, как показано в примере 1. Пригодные флаваглины включают коммерчески доступные продукты, например, продукты из Haoyuan Chemexpress Co. (Shanghai, China).

4. Фармацевтические композиции

Соединения, как раскрыто в настоящем документе, или их фармацевтически приемлемые соли, можно составлять в фармацевтические композиции в соответствии со стандартными способами, хорошо известными специалисту в области фармацевтики. Согласно одному аспекту, настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение, как раскрыто в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель. Термин "фармацевтически приемлемый носитель", в рамках изобретения, означает нетоксичный, инертный твердый, полутвердый или жидкий наполнитель, разбавитель, инкапсулирующий материал или вспомогательное вещество для получения состава любого типа.

Способ, посредством которого вводят соединения согласно настоящему изобретению, и форма композиции будут определять тип носителя, подлежащий использованию. Фармацевтическая композиция может находиться в нескольких формах, пригодных, например, для системного введения (например, перорального, ректального, подъязычного, буккального, имплантационного, интраназального, интравангинального, чрескожного, внутривенного, внутриартериального, внутриопухолевого, внутрибрюшинного

или парентерального) или местного введения (например, кожного, пульмонального, назального, ушного, глазного, посредством липосомных систем доставки или ионтофореза). Согласно некоторым вариантам осуществления, фармацевтическая композиция предназначена для введения в центральную нервную систему субъекта. Способы и составы в общем можно обнаружить в "Remington's Pharmaceutical Sciences", (Meade Publishing Co., Easton, Pa.). Фармацевтические композиции должны, как правило, являться стерильными и стабильными в условиях изготовления и хранения. Все носители являются необязательными в композициях.

Фармацевтически приемлемые носители включают, например, разбавители, смазывающие средства, связующие вещества, дезинтегрирующие средства, красители, ароматизаторы, подсластители, антиоксиданты, консерванты, вещества, способствующие скольжению, растворители, суспендирующие средства, увлажняющие средства, поверхностно-активные вещества, смягчающие средства, пропелленты, смачивающие средства, порошки, средства для доведения pH и их комбинации.

К некоторым примерам материалов, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, относятся, но без ограничения, ионообменники, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, сывороточные белки (такие как человеческий сывороточный альбумин), буферные вещества (такие как фосфаты), глицин, сорбиновая кислота или сорбат калия, смеси частичных глицеридов насыщенных растительных жирных кислот, вода, соли или электролиты (такие как сульфат протамина, гидрофосфат натрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка), коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, полиакрилаты, воски, блокполимеры полиэтилена-полиоксипропилена, шерстяной жир, сахара (такие как лактоза, глюкоза, и сахароза), крахмалы (такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал), целлюлоза и ее производные (такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы), порошкообразный трагакант, солод, желатин, тальк, наполнители (такие как масло какао и воски для суппозиторий), масла (такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло, соевое масло), гликоли (такие как пропиленгликоль или полиэтиленгликоль), сложные эфиры (такие как этилолеат и этиллаурат), агар, нетоксичные совместимые смазывающие средства (такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния), окрашивающие средства, осуществляющие высвобождение средства, покрывающие средства, эмульгаторы, подсластители, ароматизаторы, отдушки, консерванты, антиоксиданты также могут присутствовать в композиции, в соответствии с решением специалиста, осуществляющего формулирование композиции.

Несмотря на то, что количество компонентов в композициях может меняться, в зависимости от типа полученной композиции, как правило, системные композиции могут включать 0,01-50% соединения (такого как PLE или конъюгат фосфолипид-флаваглин) и 50-99,99% одного или более носителей. Композиции для парентерального введения могут, как правило, включать 0,1-10% соединения и 90-99,9% одного или более носителей. Пероральные лекарственные формы могут включать, например, по меньшей мере приблизительно 5%, или от приблизительно 25 до приблизительно 50% соединения. Композиции для перорального дозирования могут включать от приблизительно 50 до приблизительно 95% носителей или от приблизительно 50 до приблизительно 75% носителей. Количество носителя, используемого в сочетании с раскрытым соединением, является достаточным для предоставления практического количества композиции для введения на единичную дозу соединения. Способы и композиции для получения лекарственных форм, которые можно использовать в способах по этому изобретению, раскрыты в следующих ссылках: Modern Pharmaceutics, Chapters 9 and 10, Banker & Rhodes, eds. (1979); Lieberman et al., Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets (1981); и Ansel, Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 2nd Ed., (1976).

Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтическая композиция по существу состоит из терапевтически эффективного количества соединения, как раскрыто в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли.

Жидкие лекарственные формы включают, но без ограничения, фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Твердые лекарственные формы включают, но без ограничения, капсулы, таблетки, пилюли, порошки, цемент, мастику и гранулы. Лекарственные формы для местного или чрескожного введения соединений согласно настоящему изобретению включают, но без ограничения, мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, порошки, растворы, спреи, средства для ингаляции или пластыри.

Жидкий носитель или наполнитель может представлять собой растворитель или жидкую диспергирующую среду, содержащую, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкие полиэтиленгликоли и т.п.), растительные масла, нетоксичные глицерилэфиры и их пригодные смеси.

Фармацевтическая композиция может находиться в лекарственной форме, пригодной для инъекции или инфузии, такой как стерильные водные растворы или дисперсии, или стерильные порошки, содержащие активный ингредиент(ы), которые являются адаптированными для получения немедленного введения стерильных пригодных для инъекции или пригодных для инфузии растворов или дисперсий. Конечная лекарственная форма должна являться стерильной, текучей и стабильной в условиях изготовления и хранения. Стерильные пригодные для инъекции растворы можно получать посредством включе-

ния по меньшей мере соединения, как раскрыто в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли в необходимом количестве в подходящем растворителе с различными другими ингредиентами, по необходимости, необязательно, с последующей стерилизацией фильтрацией. В случае стерильных порошков для получения стерильных пригодных для инъекции растворов, способы получения могут включать способы вакуумной сушки и лиофилизации, приводящие к получению порошка активного ингредиента(ов) плюс любой дополнительный желательный ингредиент, присутствующий в стерильных растворах.

Согласно некоторым вариантам осуществления композиция представляет собой раствор, такой как раствор, пригодный для введения посредством инфузии или инъекции. Растворы можно получать в воде, необязательно, смешанной с нетоксичным поверхностно-активным веществом. Дисперсии можно также получать в глицерине, жидких полиэтиленгликолях, триацетине и их смесях, и в маслах. Эти препараты могут содержать консервант для предотвращения роста микроорганизмов. Предотвращение действия микроорганизмов можно осуществлять посредством различных антибактериальных и противогрибковых средств, например, парабен, хлорбутанола, фенола, сорбиновой кислоты, тимеросала и т.п.

Пригодные для инъекции формы можно получать посредством формирования микроинкапсулирующих матриц соединений(й), как раскрыто в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли, в биоразлагаемых полимерах, таких как полилактид-полигликолид. В зависимости от отношения соединения к полимеру и природы конкретного используемого полимера, скорость высвобождения лекарственного средства можно контролировать. К примерам других биоразлагаемых полимеров относятся поли(ортоэфир) и поли(ангидриды). Пригодные для инъекции составы также получают посредством заключения лекарственного средства в липосомы или микроэмульсии, которые являются совместимыми с тканями организма.

Согласно некоторым вариантам осуществления, композиция может содержать по меньшей мере одно соединение, как раскрыто в настоящем документе, и по меньшей мере одно дополнительное противораковое лекарственное средство. Противораковые лекарственные средства, которые можно использовать согласно настоящему изобретению, включают, но без ограничения, паклитаксел, иринотекан, топотекан, гемцитабин, цисплатин, гелданамицин, мертанзин, абиратерон, афатиниб, аминолевулиновую кислоту, апрепитант, акситиниб, азациитидин, белиностаг, бендамустин, бексаротен, блеомицин, бортезомиб, бозутиниб, бусульфид, кабацитаксел, кабозантиниб, капецитабин, карбоплатин, карфилзомиб, кармустин, церитиниб, цетуксимаб, хлорамбуцил, клофарабин, кризотиниб, циклофосфамид, цитарабин, дабрафениб, декарбазин, дактиномицин, дазатиниб, даунорубин, децитабин, деносуабу, дексразоксан, доцетаксел, доластатин (например, монометилауристин Е), доксорубин, энзалутамид, эпирубицин, мезилат эрибулина, эрлотиниб, этопозид, эверолимус, флоксурин, фосфат флударабина, фторурацил, ганетеспид, гифитиниб, гемтузуабу озогамин, гексаметилмеламин, гидроксимочевину, ибритутомабу труксетан, ибрутиниб, иделалисид, ифосфамид, иматиниб, ипилимумабу, иксабепилон, лапатиниб, лейковорин кальция, ломустин, майтанзиноиды, мехлорэтамин, мелфалан, меркаптопурин, месна, метотрексат, митомин С, митотан, митоксантрон, неларабин, нельфинавир, нилотиниб, обинтузуабу, офатумумабу, мелесуцинат омацетаксина, оксалиплатин, панитумумабу, пазопаниб, пегаспаргазу, пембролизумабу, пеметрексед, пентостатин, пертузуабу, пликанидин, помалидомид, гидрохлорид понатиниба, прелатрексад, прокарабазин, дихлорид радия 223, рамуциумабу, регорафениб, ретаспимицин, руксолитиниб, семустин, силтуксимабу, сорафениб, стрептозоцин, малат сунитиниба, танеспимицин, темозололомид, темсиrolimus, тенипозид, талидомид, тиогуанин, тиотепа, торемифен, траметиниб, трастузуабу, вандетаниб, вемурафениб, винбластин, винкрестин, винорелбин, висмодегид, вориностат и зив-афлиберцепт. Любые соединения, которые, как известно в настоящее время, действуют или являются способными действовать в качестве противораковых лекарственных средств, также можно использовать согласно настоящему изобретению.

5. Введение

Соединения, как раскрыто в настоящем документе, или их фармацевтически приемлемые соли, или фармацевтические композиции, как раскрыто в настоящем документе, можно вводить субъекту. Соединения и композиции можно вводить в дозах и посредством способов, известных специалисту в области медицины, принимая во внимание такие факторы, как возраст, пол, масса, и состояние конкретного субъекта, и способ введения.

Соединения и композиции согласно настоящему изобретению можно вводить профилактически или терапевтически. При профилактическом введении, соединения и композиции можно вводить в эффективном количестве для индукции профилактического ответа. При терапевтических применениях соединения и композиции можно вводить нуждающемуся в этом субъекту в эффективном количестве для вызова терапевтического эффекта.

Например, терапевтически эффективное количество соединения может составлять от приблизительно 1 до приблизительно 1000 мг/кг, от приблизительно 5 до приблизительно 950 мг/кг, от приблизительно 10 до приблизительно 900, от приблизительно 15 до приблизительно 850 мг/кг, от приблизительно 20 до приблизительно 800 мг/кг, от приблизительно 25 до приблизительно 750 мг/кг, от приблизительно 30 до приблизительно 700 мг/кг, от приблизительно 35 до приблизительно 650 мг/кг, от прибли-

зительно 40 до приблизительно 600 мг/кг, от приблизительно 45 до приблизительно 550 мг/кг, от приблизительно 50 до приблизительно 500 мг/кг, от приблизительно 55 до приблизительно 450 мг/кг, от приблизительно 60 до приблизительно 400 мг/кг, от приблизительно 65 до приблизительно 350 мг/кг, от приблизительно 70 до приблизительно 300 мг/кг, от приблизительно 75 до приблизительно 250 мг/кг, от приблизительно 80 до приблизительно 200 мг/кг, от приблизительно 85 до приблизительно 150 мг/кг и от приблизительно 90 до приблизительно 100 мг/кг.

Соединение можно вводить посредством способов, хорошо известных в данной области, как раскрыто в Donnelly et al. (Ann. Rev. Immunol. 1997, 75, 617-648); Feigner et al. (Патент США № 5580859, выданный 3 декабря 1996 г.); Feigner (Патент США № 5703055, выданный 30 декабря 1997 г.) и Carson et al. (Патент США № 5679647, выданный 21 октября 1997), полное содержание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки. Соединение можно включать в комплекс с частицами или бусинами, которые можно вводить индивидууму, например, с использованием вакцинной пушки. Специалисту в данной области известно, что выбор фармацевтически приемлемого носителя, включая физиологически приемлемое соединение, зависит, например, от способа введения.

Соединение можно доставлять посредством ряда способов. Типичные способы доставки предусматривают парентеральное введение, например, внутрикожную, внутримышечную или подкожную доставку. Другие способы предусматривают пероральное введение, интраназальный, интравагинальный, чрескожный, внутривенный, внутриартериальный, внутриопухолевый, внутрибрюшинный и эпидермальный способы. Согласно некоторым вариантам осуществления соединение вводят внутривенно, внутриартериально или внутрибрюшинно субъекту. Согласно некоторым вариантам осуществления соединение вводят субъекту внутривенно. Согласно некоторым вариантам осуществления, соединение вводят субъекту перорально.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединение вводят в составе для контролируемого высвобождения. Соединение можно высвобождать в кровоток, например. Согласно некоторым вариантам осуществления соединение можно высвобождать в течение периода по меньшей мере приблизительно 1 суток, по меньшей мере приблизительно 2 суток, по меньшей мере приблизительно 3 суток, по меньшей мере приблизительно 4 суток, по меньшей мере приблизительно 5 суток, по меньшей мере приблизительно 6 суток, по меньшей мере приблизительно 7 суток, по меньшей мере приблизительно 1 недели, по меньшей мере приблизительно 1,5 недели, по меньшей мере приблизительно 2 недели, по меньшей мере приблизительно 2,5 недели, по меньшей мере приблизительно 3,5 недели, по меньшей мере приблизительно 4 недели или по меньшей мере приблизительно 1 месяц.

Соединение можно вводить в однократной дозе или эпизодически, или в повторяющихся дозах. Например, соединение можно вводить один раз в каждые час, 2, 4, 8, 12, 25, 36 ч, 2 суток, 3 суток, 4 суток, 5 суток, 6 суток, 1 неделю, 2 недели, 3 недели или 4 недели.

6. Способы

Основанием для избирательного нацеливания на опухоль соединений, раскрытых в настоящем документе, являются различия между плазматическими мембранами раковых клеток, по сравнению с плазматическими мембранами большинства нормальных клеток. Молекулы фосфолипидного эфира (PLE) используют преимущество метаболического сдвига, которому подвергаются клетки опухолей, для получения энергии, необходимой для быстрого деления клеток. Опухоли усиливают использование бета-окислительного пути для превращения жирных кислот с длинной цепью (LCFA) в энергию. Для увеличения поглощения LCFA, клетки опухолей изменяют клеточную мембрану, формируя специализированные микродомены, известные как "липидные рафты". Липидные рафты формируются из-за метаболических сдвигов и нуждаются в фосфолипидах. В клетках опухолей эти области становятся избыточно представленными и стабилизированными, что позволяет им являться потенциальными специфическими для опухолей мишенями. Конкретно, мембраны раковых клеток являются высоко обогащенными липидными рафтами. В нормальной ткани присутствие липидных рафтов является ограниченным и временным (~2 наносекунды). В опухолях, липидные рафты имеют увеличенное присутствие и являются стабилизированными (вплоть до 10 суток). Раковые клетки имеют в пять - десять раз больше липидных рафтов, чем здоровые клетки. Кроме того, показано, что липидные рафты являются высоко представленными почти на всех типах опухолей и 100% индивидуальных тестированных раковых клетках. Липидные рафты представляют собой высоко организованные и специализированные области мембранного фосфолипидного бислоя, которые содержат высокие концентрации различных сигнальных молекул, сфинголипидов, гликофинголипидов и холестерина, и служат для организации сигнальных молекул клеточной поверхности и внутриклеточных сигнальных молекул (например, рецепторов факторов роста и цитокинов, пути выживания фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K)/Akt). Данные позволяют предполагать, что липидные рафты служат порталами входа для фосфолипидных эфиров. Заметную избирательность этих соединений для раковых клеток, по сравнению с нераковыми клетками, приписывают высокой аффинности PLE для холестерина и представленности богатых холестерином липидных рафтов в раковых клетках. Ключевую роль, играемую липидными рафтами, подчеркивает тот факт, что нарушение архитектуры липидного рафта супрессирует поглощение PLE в раковых клетках. Показано, что поглощение PLE уменьшено на 60%, когда блокировано формирование липидных рафтов. Эти признаки, в комбинации с тем, что липид-

ные рафты обеспечивают быструю интернализацию конъюгатов фосфолипид-лекарственное средство, делает их идеальной мишенью.

Соединения, как раскрыто в настоящем документе, такие как аналоги PLE, могут являться миметиками LCFA. Молекулы, как раскрыто в настоящем документе, подвергали обширному анализу взаимосвязи структуры и активности (SAR), связанному с нацеливанием на липидные рафты на клетках опухолей, и показали их специфическое связывание с этими областями. Молекулы, как раскрыто в настоящем документе, обеспечивают вход непосредственно в цитоплазму и миграцию к эндоплазматическому ретикулуму и митохондриям вдоль сети аппарата Гольджи внутри цитоплазмы клетки. Согласно некоторым вариантам осуществления, соединения, раскрытые в настоящем документе, включают фосфолипидный эфир уникального дизайна, конъюгированный с аналогом флаваглина (FLV). FLV являются сильными цитотоксинами, которые ингибируют трансляцию, прохождение клеточного цикла и индуцируют апоптоз.

Соединения, как раскрыто в настоящем документе, или их фармацевтически приемлемые соли, или композицию, содержащую соединение, как раскрыто в настоящем документе, можно использовать для лечения рака. Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способу лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, предусматривающему введение субъекту эффективного количества соединения, как раскрыто в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли, или композиции, содержащей соединение, как раскрыто в настоящем документе.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к соединениям или их фармацевтически приемлемым солям, как раскрыто в настоящем документе, для использования в лечении рака у нуждающегося в этом субъекта.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к применению соединений или их фармацевтически приемлемых солей, как раскрыто в настоящем документе, для изготовления лекарственного средства для лечения рака у нуждающегося в этом субъекта.

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способу нацеливания лекарственного средства на клетку опухоли или рака у субъекта, предусматривающему введение субъекту соединения, как раскрыто в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли, или композиции, содержащей соединение, как раскрыто в настоящем документе. Нацеливание может приводить к нацеленной доставке соединений согласно настоящему изобретению к раковой клетке и/или к нацеленной терапии рака.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединение или его фармацевтически приемлемая соль локализуется в или мигрирует к цитоплазме или органелле клетки опухоли или рака.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединение или его фармацевтически приемлемая соль, является избирательным для раковых клеток у субъекта.

Согласно некоторым вариантам осуществления, соединение или его фармацевтически приемлемая соль включается по меньшей мере приблизительно в 2 раза больше в клетки опухоли или рака, чем в здоровые клетки. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль может включаться по меньшей мере приблизительно в 2 раза, по меньшей мере приблизительно 3 раза, по меньшей мере приблизительно 4 раза, по меньшей мере приблизительно 5 раз, по меньшей мере приблизительно 6 раз, по меньшей мере приблизительно 7 раз, по меньшей мере приблизительно 8 раз, по меньшей мере приблизительно 9 раз, по меньшей мере приблизительно 10 раз, по меньшей мере приблизительно 15 раз, по меньшей мере приблизительно 20 раз, по меньшей мере приблизительно 25 раз, по меньшей мере приблизительно 30 раз больше в клетки опухоли или рака, чем в здоровые клетки.

Виды рака, которые можно лечить с использованием соединений, как раскрыто в настоящем документе, или их фармацевтически приемлемых солей, или композиции, содержащей соединение, как раскрыто в настоящем документе, включают, но без ограничения, рак молочной железы, включая рак молочной железы у мужчин; виды рака пищеварительного/желудочно-кишечного тракта, включая анальный рак, рак аппендикса, рак внепеченочного желчного протока, карциноидную опухоль желудочно-кишечного тракта, рак толстого кишечника, рак пищевода, рак желчного пузыря, рак желудка, стромальные опухоли желудочно-кишечного тракта ("gist"), опухоли из островковых клеток, первичный рак печени у взрослых, рак печени у детей, рак поджелудочной железы, рак прямой кишки, рак тонкого кишечника, и рак желудка (гастральный); виды эндокринного и нейроэндокринного рака, включая аденокарциному поджелудочной железы, аденокарциному, нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы, карциному из клеток Меркеля, мелкоклеточную нейроэндокринную опухоль легкого, мелкоклеточную нейроэндокринную опухоль легкого, рак паращитовидной железы, феохромоцитому, опухоль гипофиза и рак щитовидной железы; виды рака глаза, включая внутриглазную меланому и ретинобластому; рак мочеполовой системы, включая рак мочевого пузыря, рак почки (почечноклеточный), рак полового члена, рак предстательной железы, переходноклеточный рак почечной лоханки и мочеточника, рак яичка, рак мочеиспускательного канала и опухоль Вильмса; виды зародышевоклеточного рака, включая рак центральной нервной системы у детей, экстракраниальную зародышевоклеточную опухоль у детей, внегонадную зародышевоклеточную опухоль, зародышевоклеточную опухоль яичника и рак яичка; виды гинекологического рака, включая рак шейки матки, рак эндометрия, гестационную трофоб-

ластную опухоль, эпителиальный рак яичника, зародышевоклеточную опухоль яичника, саркому матки, рак влагалища и рак вульвы; виды рака головы и шеи, включая гипофарингеальный рак, рак гортани, губ и рак полости рта, метастазирующий плоскоклеточный рак шеи с неопределимой первичностью, рак полости рта, рак носоглотки, рак ротоглотки, околоносовых пазух и рак полости носа, рак паращитовидной железы, фарингеальный рак, рак слюнных желез и рак горла; лейкозы, включая острый лимфобластный лейкоз у взрослых, острый лимфобластный лейкоз у детей, острый миелоидный лейкоз у взрослых, острый миелоидный лейкоз у детей, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз и волосатоклеточный лейкоз; лимфомы, включая связанную со СПИД лимфому, Т-клеточную лимфому кожи, лимфому Ходжкина у взрослых, лимфому Ходжкина у детей, лимфому Ходжкина во время беременности, фунгоидный микоз, неходжкинскую лимфому у взрослых, неходжкинскую лимфому у детей, неходжкинскую лимфому во время беременности, первичную лимфому центральной нервной системы, синдром Сезари и макроглобулинемию Вальденстрема; виды рака скелетно-мышечной системы, включая саркому Юинга, остеосаркому и злокачественную фиброзную гистиоцитому кости, рабдомиосаркому и саркому мягких тканей у детей; виды неврологического рака, включая опухоль мозга у взрослых, опухоль мозга у детей, астроцитомы, глиому ствола головного мозга, атипичную тератоидную/рабдоидную опухоль центральной нервной системы, эмбриональные опухоли центральной нервной системы, краниофарингиому, эпендимому, нейробластому, первичную лимфому центральной нервной системы (ЦНС); виды рака органов дыхания/грудной клетки, включая немелкоклеточный рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, злокачественную мезотелиому, тимому и карциному тимуса; и виды рака кожи, включая саркому Капоши, меланому и плоскоклеточную карциному. В конкретных вариантах осуществления, рак может представлять собой меланому, рак легкого, колоректальный рак, рак молочной железы или их комбинацию.

Согласно некоторым вариантам осуществления рак представляет собой меланому, рак мозга, рак легкого, рак надпочечника, рак печени, ренальный рак или рак почки, рак поджелудочной железы, рак пищевода, гастральный рак, рак желудка, рак толстого кишечника, колоректальный рак, анальный рак, рак предстательной железы, рак яичника, рак молочной железы, рак шейки матки, лимфому, лейкоз, миелому, гематологический рак, гепатокарциному, ретинобластому, глиому, саркому, бластому, плоскоклеточную карциному, аденокарциному или их комбинацию. Согласно некоторым вариантам осуществления рак представляет собой меланому, рак легкого, колоректальный рак, рак молочной железы или их комбинацию.

Согласно некоторым вариантам осуществления рак может включать одну или более циркулирующих клеток опухолей. Например, одна или более циркулирующих клеток опухолей могут быть выбраны из группы, состоящей из рака молочной железы, рака легкого, рака щитовидной железы, рака шейки матки, меланомы, плоскоклеточной карциномы, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы, колоректального рака и раковой стволовой клетки, и злокачественной плазматической клетки.

Согласно некоторым вариантам осуществления рак может являться метастазирующим. Например, метастазирующий рак может быть выбран из группы, состоящей из рака молочной железы, рака легкого, меланомы и колоректального рака.

Согласно некоторым вариантам осуществления рак может включать раковую стволовую клетку. Например, раковая стволовая клетка может быть выбрана из группы, состоящей из рака молочной железы, рака легкого, меланомы и колоректального рака.

Согласно некоторым вариантам осуществления рак легкого может включать мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого или их комбинацию.

Согласно некоторым вариантам осуществления меланома может включать поверхностно распространяющуюся меланому, нодулярную меланому, меланому типа злокачественного лентигио, акральную лентигинозную меланому, амеланотическую меланому, невоидную меланому, шпицоидную меланому, десмопластическую меланому, или их комбинацию.

Согласно некоторым вариантам осуществления колоректальный рак может включать аденокарциному.

Согласно некоторым вариантам осуществления рак молочной железы может включать инвазивную карциному протоков молочной железы, метастазирующий рак молочной железы, воспалительный рак молочной железы, трижды отрицательный рак молочной железы, карциному протоков *in situ*, или их комбинацию. Согласно некоторым вариантам осуществления рак представляет собой рак молочной железы, субъект может являться положительным по рецептору эстрогенов, являться как отрицательным по рецептору эстрогенов, так и отрицательным по рецептору прогестеронов, экспрессировать HER2 (HER2+), не экспрессировать HER2 (HER2-), или иметь их комбинацию.

Согласно некоторым вариантам осуществления субъект представляет собой человека, такого как взрослый и младенец. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект представляет собой животное, такое как млекопитающее.

Способы могут включать введение соединений согласно настоящему изобретению или их фармацевтически приемлемых солей, в количествах, как раскрыто в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам осуществления способы предусматривают введение от приблизительно 0,0001 до при-

близительно 1000 мг/кг соединения, как раскрыто в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли. Дозы соединения(й), которые можно использовать, можно определять посредством сравнения их активности *in vitro* и активности *in vivo* в их моделях на животных. Способы экстраполяции доз, эффективных у грызунов, свиней и других животных, для человека известны в данной области; например, см. Патент США № 4938949.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединения или их фармацевтически приемлемые соли, или фармацевтические композиции, как раскрыто в настоящем документе, можно вводить посредством перорального введения или внутривенного введения. Как правило, однако, пригодная доза часто может лежать в диапазоне от приблизительно 0,0001 до приблизительно 1000 мг/кг, например от приблизительно 0,001 до приблизительно 10,0 мг/кг. Например, пригодная доза может лежать в диапазоне от приблизительно 0,001 до приблизительно 5,0 мг/кг массы тела в сутки, например, от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 1,0 мг/кг массы тела реципиента в сутки, от приблизительно 0,01 до приблизительно 3,0 мг/кг массы тела реципиента в сутки, от приблизительно 0,1 до приблизительно 5,0 мг/кг массы тела реципиента в сутки, приблизительно 0,2-4,0 мг/кг массы тела реципиента в сутки. Соединение можно вводить в единичной дозированной форме; например, содержащей 1-100 мг, 10-100 мг или 5-50 мг активного ингредиента на единичную дозированную форму.

Желательную дозу можно удобным образом представлять в однократной дозе или в форме дробных доз, вводимых с соответствующими интервалами, например, в форме двух, трех, четырех или более частей доз в сутки. Собственно часть дозы можно делить дополнительно, например, на несколько дискретных введений со свободными интервалами.

Подходящие дозы, подлежащие введению *in vivo*, и конкретный способ введения может меняться, в зависимости от возраста, массы, тяжести поражения и вида млекопитающего, подвергаемого лечению, конкретных используемых соединений, и конкретного применения, для которого используют эти соединения. Определение эффективных уровней доз для достижения желательного результата можно осуществлять посредством известных способов, например, клинических исследований для человека, исследований *in vivo* и исследований *in vitro*. Например, эффективные дозы соединений, раскрытых в настоящем документе, или их фармацевтически приемлемых солей, можно определять посредством сравнения их активности *in vitro*, и активности *in vivo* в моделях на животных. Такое сравнение можно осуществлять посредством сравнения с разработанным лекарственным средством.

Уровень и интервал дозирования можно корректировать индивидуально для обеспечения уровней в плазме активной группы, которые являются достаточными для поддержания модулирующих эффектов или минимальной эффективной концентрации (МЕС). МЕС будет меняться для каждого соединения, но может быть определена по данным *in vivo* и/или *in vitro*. Дозы, необходимые для достижения МЕС, будут зависеть от индивидуальных характеристик и способа введения. Однако, анализы FPLC или биоанализы можно использовать для определения концентраций в плазме. Интервалы дозирования также можно определять с использованием значения МЕС. Композиции следует вводить с использованием режима, который поддерживает уровни в плазме выше МЕС на протяжении 10-90% времени, предпочтительно между 30-90% и наиболее предпочтительно между 50-90%. В случае местного введения или избирательно-го поглощения, эффективная местная концентрация лекарственного средства может не является связанной с концентрацией в плазме.

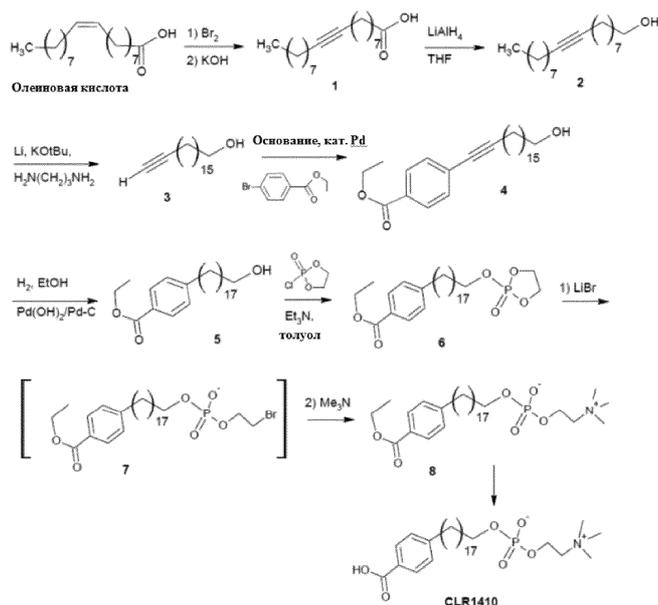
Композиции, раскрытые в настоящем документе, можно вводить с дополнительными композициями для продления стабильности, доставки и/или активности композиций, или в комбинации с дополнительными лекарственными средствами, или предоставлять до или после введения дополнительных лекарственных средств. Комбинированная терапия включает введение одного фармацевтического дозированного состава, содержащего одно или более соединений, раскрытых в настоящем документе, и одно или более дополнительных лекарственных средств, так же как введение соединений и каждого дополнительного лекарственного средства, в его собственном отдельном фармацевтическом дозированном составе. Например, соединения, как раскрыто в настоящем документе, можно вводить субъекту с дополнительным противораковым лекарственным средством, как раскрыто в настоящем документе.

7. Примеры

Пример 1. Химический синтез

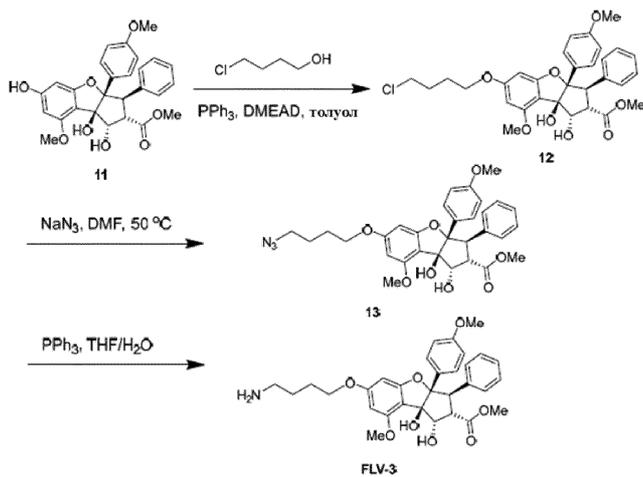
PLE. PLE получали синтетически, в соответствии со схемой 1 ниже:

Схема 1:



Флаваглины. Флаваглины являлись коммерчески доступными. FLV1 и FLV3 закуплены из Наоуан Chemexpress Co. (Shanghai, China). FLV1 и FLV3 альтернативно получали синтетически, в соответствии со схемой 2 ниже:

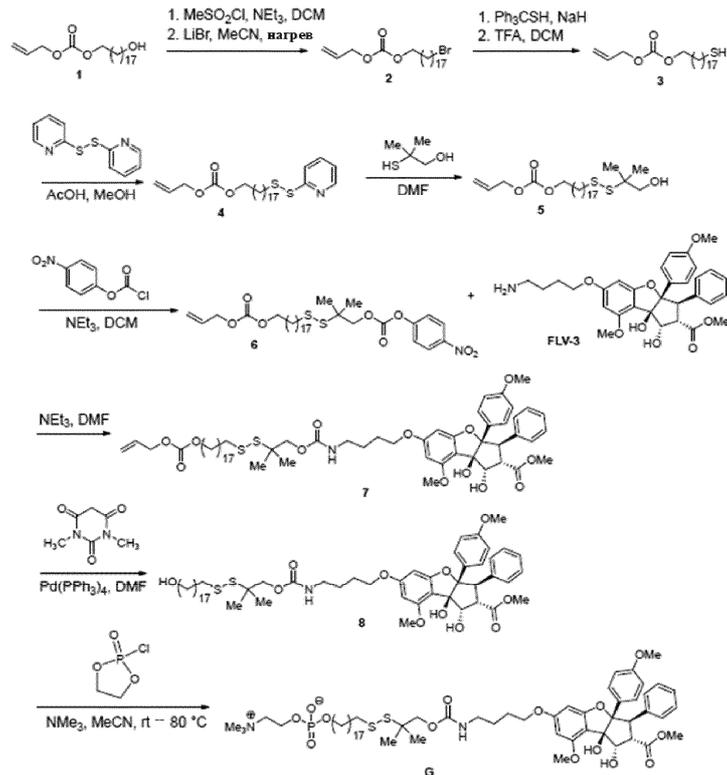
Схема 2:



Вход	SM	Масштаб	Продукт	Условия	Выход	Комментарии
1	13	0,317 г	FLV3	50°C, 10 час	0,235 г (78%)	Соответствует ¹ H ЯМР.
2	11	0,170 г	12	0°C - rt, O/N	--	Реакция в процессе.

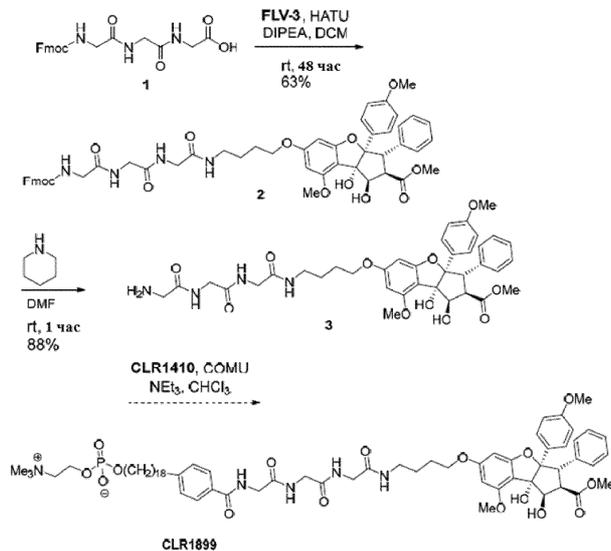
Конструкции PLE-флаваглин. CLR 1852 (соединение (9)) и CLR 1865 (соединение (8)) получали синтетически, в соответствии со схемой 3 ниже:

Схема 3:



Синтез CLR 1899. CLR 1899 синтезировали в соответствии со схемой 4. Структуры подтверждали по данным ЯМР и MS.

Схема 4:



Пример 2. Присутствие липидных рафтов на клетках опухолей

Более 100 линий клеток окрашивали с использованием субъединицы В холерного токсина, фиксировали 4% формальдегидом, и окрашивали с использованием филипина III в течение 30 мин. Как показано на фиг. 1A-1D, почти для каждого типа опухоли, который тестировали, показана высокая концентрация липидных рафтов в мембране клеток (более 100 линий клеток, свежие образцы от пациентов и т.д.). Как показано на фиг. 1E, клетки A549 совместно культивировали с клетками нормальными фибробластами в течение 48 ч и затем окрашивали с использованием субъединицы В холерного токсина, фиксировали 4% формальдегидом, и окрашивали с использованием филипина III в течение 30 мин. Эти результаты показали, что клетки опухолей имеют более высокую концентрацию липидных рафтов, чем нормальные клетки.

Пример 3. Избирательное поглощение PDC в клетках опухолей

Нормальные фибробласты и клетки опухолей Saki-2 (светлоклеточного почечноклеточного рака человека) рассеивали и совместно культивировали в течение ночи (фиг. 1F). Затем клетки инкубировали с 5 мкМ CLR 1501 (соединением (1)) в течение 24 ч при 37°C в полных средах. На следующие сутки клет-

ки промывали и совместно окрашивали с использованием красителя для ядер (Hoescht 33342). CLR 1501 возбуждали и затем детектировали с использованием фильтра для Alexa-Fluor 488. CLR 1501 являлось в высокой степени локализованным в клетках Caki-2 и минимально - в клетках нормальных фибробластах.

Пример 4. Разрушение липидных рафтов уменьшало поглощение PDC

Клетки A549 рассеивали на ночь в отдельные лунки. На следующие сутки клетки либо не обрабатывали (фиг. 1G), либо обрабатывали метил β -циклодекстрином (фиг. 1H), который, как показано, избирательно разрушает липидные рафты. Затем все клетки инкубировали в течение 24 ч с 5 мкМ CLR 1501 (соединением (1)). Разрушение большинства липидных рафтов в клетках A549 приводило к 60% уменьшению поглощения CLR 1501 (фиг. 1H), по сравнению с необработанными клетками (фиг. 1G).

Пример 5. PDC мигрируют к эндоплазматическому ретикулуму

Клетки аденокарциномы предстательной железы человека (PC3) рассеивали на ночь в микропланшет VI (Ibidi, Verona, WI) и затем инкубировали с 5 мкМ CLR 1501 (соединением (1)) в течение 24 ч при 37°C в полных средах. После промывки клетки совместно окрашивали с использованием ER-tracker® по протоколу и визуализировали с использованием конфокального оптического микроскопа Nikon A1R. CLR 1501 и ER возбуждали и детектировали с использованием Alexa-Fluor 488 с использованием стандартных фильтров для флуоресценции. CLR 1501 являлось совместно локализованным с ER в злокачественных (фиг. 1I-1K), но не в нормальных клетках (не показано).

Пример 6. PDC мигрируют к эндоплазматическому ретикулуму

Линии клеток PC3 (аденокарциномы предстательной железы человека, степени IV) культивировали в течение ночи на микрослайде VI (Ibidi, Verona, WI). На следующие сутки клетки инкубировали с 5 мкМ CLR 1501 (соединением (1)) в течение 24 ч при 37°C в полных средах. На следующие сутки после промывки с использованием PBS клетки совместно окрашивали с использованием красителя для ядер (Hoechst 33342) и маркера митохондрий (Mitotracker®) (Invitrogen, Carlsbad, CA). Клетки наблюдали с использованием конфокального микроскопа Nikon A1R. CLR 1501 возбуждали и детектировали с использованием фильтра для Alexa-Fluor 488, в то время как краситель для ядер и краситель для митохондрий возбуждали и детектировали с использованием фильтра для DAPI и фильтра для техасского-красного, соответственно. CLR 1501 являлось совместно локализованным с митохондриями (фиг. 1L-фиг. 1N).

Пример 7. PDC обеспечивают нацеленную доставку *in vivo*

Несущих колоректальную опухоль (HCT-116) мышей *nude* подвергали инъекции 1 мг CLR 1502 (соединения (2)) и визуализировали в системе для инфракрасной визуализации Pearl. Различный цвет отражает интенсивность CLR 1502 с течением времени. Приблизительно через 5,5 ч после инъекции, для опухоли все еще показывали красное окрашивание (отражающее наивысшее распределение CLR 1502) (фиг. 2). В пределах 24 ч получали максимальное распределение CLR 1502. Начальное нацеливание отмечали в пределах 30 мин (не показано).

Пример 8. Цитотоксические PDC обеспечивают нацеливание и потенциально улучшенный терапевтический индекс

Клетки A549 (аденокарциномы легкого человека) и нормальные фибробласты кожи человека (NHDF) рассеивали в 96-луночные планшеты на ночь. Все клетки обрабатывали с использованием увеличивающихся концентраций либо родительского цитотоксического соединения отдельно (FLV1 или FLV3), либо PDC (родительского цитотоксического соединения, конъюгированного с группой PLE с использованием расщепляемого линкера, CLR 1865 (соединения (8)) или CLR 1852 (соединения (9))). Для родительского цитотоксического соединения показана почти равная активность для клеток A549, как и для клеток NHDF. Однако для молекул PDC показана избирательность для клеток A549 (фиг. 3). Для молекул PDC почти не показано эффекта на клетки NHDF до наивысших концентраций и показана активность, почти сходная с родительской молекулой, в клетках A549. Различие между цитотоксичностью молекулы PDC для клеток опухолей и для нормальных клеток может указывать на потенциал для улучшения терапевтического индекса родительских молекул.

Пример 9. Цитотоксические PDC обеспечивают нацеливание

Оценивали поглощение CLR 1852 (соединения (9)) в клетках A375 (меланомы человека) и HEK293 (эмбриональной почки человека). Клетки инкубировали с CLR 1852 (соединением (9)) в течение 24 ч. Показано, что клетки опухолей имели где-то от 6 до 28-кратное увеличение уровней PDC, по сравнению с нормальными клетками, в пределах 24 ч обработки (фиг. 4).

Результаты из примеров 2-9 показали, что молекулы фосфолипидного эфира нацеливаются на клетки опухолей через липидные рафты. Для PDC показано значительное поглощение в клетках опухолей, по сравнению с нормальными клетками, даже в совместной культуре. После входа в клетки опухолей, PDC мигрировали к митохондриям и эндоплазматическому ретикулуму. *In vivo*, PDC как нацеливались на опухоль, так и быстро накапливались внутри нее. Цитотоксические PDC обеспечивали улучшенное нацеливание и потенциал для улучшенной безопасности.

Пример 10. Клеточное поглощение PLE

Различные линии клеток рака подвергали воздействию *in vitro* и *in vivo* флуоресцентно меченного

PLE (CLR 1501, соединения (1)). Поглощение клетками опухолей измеряли непрерывно в течение 24 часов. Результаты показаны в табл. 1 и на фиг. 5, 6 и 7. Соединение PLE являлось специфическим для клеток опухолей и рака.

Флуоресцентно меченное PLE (CLR 1501, соединение (1)) вводили в доброкачественные ткани, и поглощения не наблюдали (табл. 2).

Таблица 1. Клеточное поглощение PLE in vitro

Модель опухоли	Вид	Категория	Поглощение в опухоли	
1	Предстательной железы, PC-3	Мышь SCID	Аденокарцинома	Да
2	Легкого, A-549 (NSCLC)	Мышь SCID	Аденокарцинома	Да
3	Легкого, NCI H-69 (овсяноклеточная)	Мышь SCID	Аденокарцинома	Да
4	Надпочечника, H-295	Мышь SCID	Аденокарцинома	Да
5	Надпочечника, RL-251	Мышь SCID	Аденокарцинома	Да
6	Толстого кишечника, 51	Мышь SCID	Колоректальная аденокарцинома	Да
7	Толстого кишечника, LS180	Мышь SCID	Колоректальная аденокарцинома	Да
8	Толстого кишечника, DLD1	Мышь SCID	Колоректальная аденокарцинома	Да
9	Толстого кишечника, HT-29	Мышь SCID	Колоректальная аденокарцинома	Да
10	Толстого кишечника, LS-180	Мышь Nude	Аденокарцинома	Да
11	Меланома, A-375	Мышь Nude	Аденокарцинома	Да
12	Яичника, НТВ-77	Мышь Nude	Аденокарцинома	Да
13	Поджелудочной железы, ВХРС3	Мышь Nude	Аденокарцинома	Да
14	Поджелудочной железы, Саран-1	Мышь Nude	Аденокарцинома	Да
15	Почечноклеточная, Saki-2	Мышь Nude (ортотопическая)	Аденокарцинома	Да
16	Почечноклеточная, ACHN	Мышь Nude (ортотопическая)	Аденокарцинома	Да
17	SCC1	Мышь Nude	Плоскоклеточная карцинома	Да
18	SCC6	Мышь Nude	Аденокарцинома	Да
19	Предстательной железы, LnCap	Мышь	Аденокарцинома	Да
20	Предстательной железы, LuCap	Мышь	Аденокарцинома	Да
21	Молочной железы, MCF-7	Крыса	Аденокарцинома	Да
22	Молочной железы, 4T1	Эндогенная мышь (ортотопическая)	Аденокарцинома	Да
23	Предстательной железы, MatLyLu	Крыса	Аденокарцинома	Да
24	Walker-256	Крыса	Карциносаркома	Да
25	TRAMP, предстательной железы	Эндогенная мышь	Аденокарцинома	Да
26	Толстого кишечника, CT-26	Мышь SCID	Аденокарцинома	Да
27	Min. кишечника мыши	Эндогенная мышь	Аденокарцинома	Да
28	Меланома	Мышь	Аденокарцинома	Да
29	Молочной железы, SCC	Арс ^{Min/+} мышь	Плоскоклеточная карцинома	Да
30	Молочной железы, AC	Арс ^{Min/+} мышь	Аденокарцинома	Да
31	Печеночноклеточная карцинома	Эндогенная мышь	Аденокарцинома	Да
32	Глиома L9	Крыса, ксенотрансплантат	Глиома	Да
33	Глиома C6	Крыса, ксенотрансплантат	Глиома	Да
34	Глиома CNS1	Крыса, ксенотрансплантат	Глиома	Да
35	Глиома RG2	Крыса, ксенотрансплантат	Глиома	Да
36	Ретинобластома	Эндогенная мышь	Бластома	Да
37	Поджелудочной железы, с-пус	Эндогенная мышь	Аденокарцинома	Да
38	Поджелудочной железы Kras	Эндогенная мышь	Аденокарцинома	Да
39	Шейки матки	Эндогенная мышь	Аденокарцинома	Да
40	Саркома (Meth-A)	Мышь Nude	Фибросаркома	Да
41	Пищевода	Эндогенная мышь	Аденокарцинома	Да

Таблица 2. Поглощение CLR1404 в доброкачественных тканях

Модель опухоли	Вид	Категория	Поглощение в опухоли
1 Кишечный полип	Эндогенная мышь	Аденома (доброкачественная)	Нет
2 Альвеолярная гиперплазия молочной железы	Эндогенная мышь	Гиперплазия (доброкачественная)	Нет

Пример 11. Активность конъюгатов PLE-флаваглин в клетках рака

Конъюгаты PLE-флаваглин CLR 1852 (соединения (9)) и CLR 1865 (соединения (8)) вводили в линии клеток A375 (злокачественной меланомы человека), A549 (аденокарциномы легкого человека), HCT 116 (рака толстого кишечника человека) и NHDF (нормальных фибробластов кожи человека). Рассчитывали IC₅₀. Результаты показаны в табл. 3.

Таблица 3. IC₅₀ (мкМ/мл) в различных линиях клеток рака

Соединение	A375	A549	HCT 116	NHDF	Терапевтический индекс (ТИ)
FLV3	0,015	0,09	0,009	0,008	0,89
CLR 1852	0,9	0,02	0,06	7,2 (18,3)	360 (915)
CLR 1865	9,75	0,67	1,28	7,8 (25)	11,64 (37,3)

Цитотоксичность CLR 1852 определяли среди различных концентраций. Как показано на фиг. 8, для CLR 1852 показана умеренная потеря активности, по сравнению с FLV3 отдельно, возможно, из-за неполного высвобождения.

Проверяли стабильность CLR 1865 (соединения (8)), CLR 1852 (соединения (9)) и FLV3 в плазме, с использованием пропантелина в качестве контроля (табл. 4). Небольшое количество молекулы подвергали воздействию плазмы, и затем плазму анализировали посредством HPLC или MS для определения того, была ли молекула деградирована. Для CLR 1865 и CLR 1852 показана превосходная стабильность в плазме. CLR 1852 превосходило по активности CLR 1865 в плазме мыши. CLR 1865 являлось стабильным в плазме мыши только в течение 3,3 ч. CLR 1852 являлось стабильным в плазме в течение по меньшей мере 7 ч.

Таблица 4. Стабильность в плазме

Соединение	Время полужизни у человека (мин)	Время полужизни у мыши (мин)
CLR 1852	>400	>400
CLR 1865	>400	199
Пропантелин	54	85

Терапевтический индекс (ТИ) CLR 1865 и CLR 1852 проверяли у мышей (табл. 5). В табл. 5 перечислены дозы, вводимые мышам, и как много мышей являлись живыми после лечения ("3/3" показывает, что 3 из 3 мышей являлись живым). Как для CLR 1852, так и для CLR 1865, показано превосходное улучшение переносимости, по сравнению с FLV3 отдельно. Для CLR 1852 не достигли максимально переносимой дозы (MTD), возможно, из-за того, что его растворимость ограничивала большее дозирование. MTD для CLR 1865 составляла между 5 и 10 мг/кг. Терапевтический индекс *in vivo* составлял по меньшей мере 25 для CLR 1852 и 12,5 для CLR 1865.

Таблица 5. Терапевтический индекс *in vivo*

Доза (мг/кг)	FLV3	CLR 1852	CLR 1865
0,1	3/3	3/3	3/3
0,25	3/3	3/3	3/3
0,5	LD	3/3	3/3
1,0	n/a	3/3	3/3
5,0	n/a	3/3	3/3
10,0	n/a	3/3	2/3

Проверяли эффективность CLR 1852 в клетках HCT 116 (рака толстого кишечника человека). CLR 1852 вводили в клетки HCT 116 в трех дозах 1 мг/мг каждая. По сравнению с носителем, CLR 1852 уменьшало объем опухоли, начиная через приблизительно 27 суток (фиг. 9). По сравнению с носителем, CLR 1852 вызывало умеренную потерю массы, предположительно, из-за токсичности (фиг. 10). CLR 1852 обеспечивало по меньшей мере шестикратное увеличение переносимости, по сравнению с FLV3 отдельно (данные не представлены).

CLR 1852 и FLV3 отдельно вводили в клетки A375 и A549. Уровни FLV3 в лизате клеток и средах для роста измеряли с использованием LC/MS. Как показано на фиг. 11, высокие уровни FLV3 присутствовали в лизате клеток через 24 ч. Умеренные уровни FLV3 присутствовали в средах для роста через 24 ч. Уровни внутриклеточного FLV3, по-видимому, выходили на плато через 24 ч, в то время как внеклеточные уровни FLV3 продолжали увеличиваться.

Пример 12. Активность CLR 1899 в раковых клетках

CLR 1899 вводили в линии клеток A375 (злокачественной меланомы человека), A549 (аденокарциномы легкого человека), HCT 116 (рака толстого кишечника человека) и NHDF (нормальных фибробластов кожи человека). Результаты для цитотоксичности *in vitro* показаны в табл. 6.

Таблица 6

CLR1899	A375	A549	HCT116	MCF7	NHDF
Конц. при половине максимальной активности (мкМ)	0,205	0,656	0,545	1,051	0,186
Минимальный % жизнеспособности	0,671	7,101	13,331	30,253	41,728

Для определения того, является ли CLR 1899 переносимым *in vivo*, соединение вводили внутривенно здоровым мышам C57BL/6 при уровнях дозы 0,5, 1,0 или 2,0 мг/кг, и наблюдали изменения массы тела (фиг. 12). Для CLR 1899 не показано токсичности или неблагоприятных событий во время повторяющегося дозирования, как измерено посредством изменений массы. Эффективность *in vivo* CLR 1899 исследовали в модели ксенотрансплантата MCF-7 (фиг. 13, 10 мышей на группу дозирования). Регистрировали уменьшение объема опухоли. В этих исследованиях, для CLR 1899 показана активность, эквивалентная активности доцетаксела, для остановки или замедления роста опухоли.

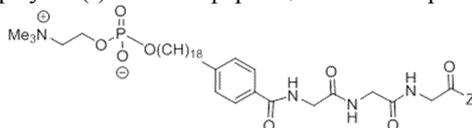
Приведенное выше описание конкретных аспектов будет настолько полно выявлять общий характер изобретения, что другие специалисты в данной области могут, посредством использования знаний в рамках компетенции в данной области, легко модифицировать и/или адаптировать для различных применений такие конкретные аспекты, без излишнего экспериментирования, без отклонения от общей концепции настоящего изобретения. Таким образом, такие адаптации и модификации предназначены, чтобы находиться в рамках значения и диапазона эквивалентов раскрытых аспектов, на основании объяснений и руководства, представленных в настоящем документе. Следует понимать, что фразеология или терминология в настоящем документе предназначена для цели описания, а не ограничения, так что терминологию или фразеологию из настоящего документа специалист в данной области должен интерпретировать в свете объяснений и руководства.

Широту и объем настоящего изобретения не следует ограничивать никаким из вышеописанных иллюстративных аспектов, но следует определять только в соответствии со следующими пунктами формулы изобретения и их эквивалентами.

Полное содержание всех публикаций, патентов, патентных заявок и/или других документов, процитированных в настоящем документе, включено посредством ссылки для всех целей, до такой же степени, как если бы было индивидуально указано, что содержание каждой индивидуальной публикации, патента, патентной заявки и/или другого документа, включено посредством ссылки для всех целей.

Для цели полноты, различные аспекты изобретения приведены в следующих пронумерованных вариантах осуществления:

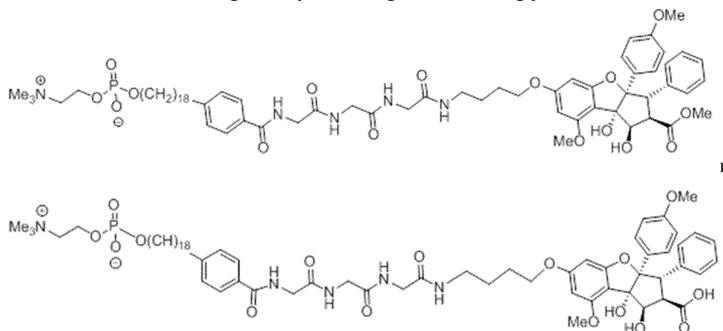
Вариант 1. Соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль



(I).

где Z представляет собой аналог флаваглина.

Вариант 2. Соединение согласно варианту 1, выбранное из группы, состоящей из



или его фармацевтически приемлемая соль.

Вариант 3. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение согласно любому из вариантов 1-2 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

Вариант 4. Способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, предусматривающий введение субъекту эффективного количества соединения согласно любому из вариантов 1-2 или его фармацевтически приемлемой соли.

Вариант 5. Способ нацеливания лекарственного средства на клетку опухоли или рака у субъекта, предусматривающий введение субъекту соединения согласно любому из вариантов 1-2 или его фарма-

цветически приемлемой соли.

Вариант 6. Способ согласно любому из вариантов 4-5, где соединение или его фармацевтически приемлемая соль локализуется в или мигрирует к цитоплазме или органелле клетки опухоли или рака.

Вариант 7. Способ согласно любому из вариантов 4-6, где соединение или его фармацевтически приемлемая соль являются избирательными для раковых клеток у субъекта.

Вариант 8. Способ согласно любому из вариантов 4-7, где соединение или его фармацевтически приемлемая соль включается по меньшей мере приблизительно в 2 раза больше в клетки опухоли или рака, чем в здоровые клетки.

Вариант 9. Способ согласно любому из вариантов 4-8, где рак представляет собой меланому, рак мозга, рак легкого, рак надпочечника, рак печени, ренальный рак или рак почки, рак поджелудочной железы, рак пищевода, гастральный рак, рак желудка, рак толстого кишечника, колоректальный рак, анальный рак, рак предстательной железы, рак яичника, рак молочной железы, рак шейки матки, лимфому, лейкоз, миелому, гематологический рак, гепатокарциному, ретинобластому, глиому, саркому, бластому, плоскоклеточную карциному, аденокарциному или их комбинацию.

Вариант 10. Способ согласно любому из вариантов 4-9, где рак представляет собой меланому, рак легкого, колоректальный рак, рак молочной железы или их комбинацию.

Вариант 11. Способ согласно любому из вариантов 4-10, где рак легкого включает мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого или их комбинацию;

меланома включает поверхностно распространяющуюся меланому, нодулярную меланому, меланому типа злокачественного лентиго, акральную лентигозную меланому, амеланотическую меланому, невоидную меланому, шпидоидную меланому, десмопластическую меланому или их комбинацию;

колоректальный рак включает аденокарциному или

рак молочной железы включает инвазивную карциному протоков молочной железы, метастазирующий рак молочной железы, воспалительный рак молочной железы, трижды отрицательный рак молочной железы, карциному протоков *in situ* или их комбинацию.

Вариант 12. Способ согласно любому из пунктов 4-11, где рак включает раковые стволовые клетки.

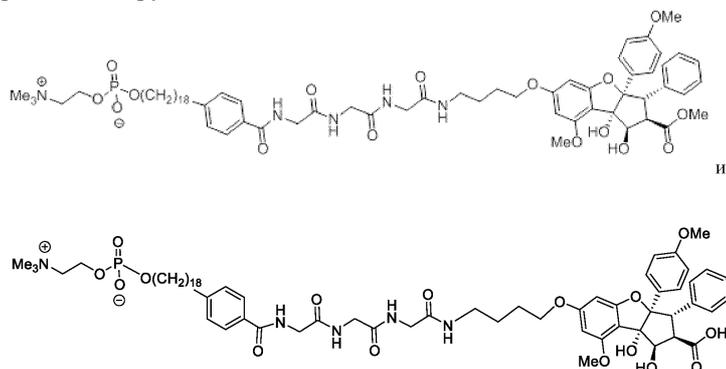
Вариант 13. Способ согласно любому из вариантов 4-12, где рак включает метастазирующие раковые клетки

Вариант 14. Способ согласно любому из вариантов 4-13, где рак включает циркулирующие клетки опухолей.

Вариант 15. Способ согласно любому из вариантов 4-14, где субъект представляет собой человека.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Конъюгат, выбранный из группы, состоящей из



или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат по п.1 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

3. Применение конъюгата по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли для лечения рака у субъекта.

4. Применение конъюгата по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли для нацеливания аналога флаваглина на клетку опухоли или рака у субъекта.

5. Применение по любому из пп.3, 4, в котором конъюгат или его фармацевтически приемлемая соль локализуется в или мигрирует к цитоплазме или органелле клетки опухоли или рака.

6. Применение по любому из пп.3-5, в котором конъюгат или его фармацевтически приемлемая соль являются избирательными для раковых клеток у субъекта.

7. Применение по любому из пп.3-6, в котором конъюгат или его фармацевтически приемлемая соль включается по меньшей мере приблизительно в 2 раза больше в клетки опухоли или рака, чем в

здоровые клетки.

8. Применение по любому из пп.3-7, в котором рак представляет собой меланому, рак мозга, рак легкого, рак надпочечника, рак печени, ренальный рак или рак почки, рак поджелудочной железы, рак пищевода, гастральный рак, рак желудка, рак толстого кишечника, колоректальный рак, анальный рак, рак предстательной железы, рак яичника, рак молочной железы, рак шейки матки, лимфому, лейкоз, миелому, гематологический рак, гепатокарциному, ретинобластому, глиому, саркому, бластому, плоскоклеточную карциному, аденокарциному или их комбинацию.

9. Применение по любому из пп.3-8, в котором рак представляет собой меланому, рак легкого, колоректальный рак, рак молочной железы или их комбинацию.

10. Применение по любому из пп.3-9, в котором

рак легкого включает мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого или их комбинацию;

меланома включает поверхностно распространяющуюся меланому, нодулярную меланому, меланому типа злокачественного лентиго, акральную лентигинозную меланому, амеланотическую меланому, невоидную меланому, шпидоидную меланому, десмопластическую меланому или их комбинацию;

колоректальный рак включает аденокарциному или

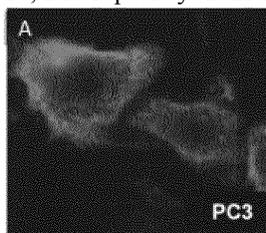
рак молочной железы включает инвазивную карциному протоков молочной железы, метастазирующий рак молочной железы, воспалительный рак молочной железы, трижды отрицательный рак молочной железы, карциному протоков *in situ* или их комбинацию.

11. Применение по любому из пп.3-10, в котором рак включает раковые стволовые клетки.

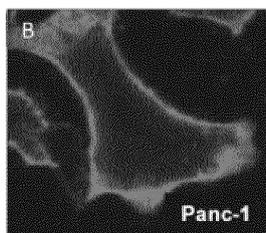
12. Применение по любому из пп.3-11, в котором рак включает метастазирующие раковые клетки.

13. Применение по любому из пп.3-12, в котором рак включает циркулирующие клетки опухолей.

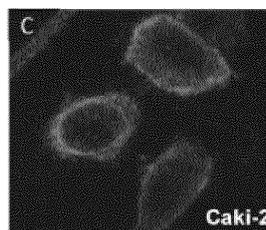
14. Применение по любому из пп.3-13, в котором субъект представляет собой человека.



Фиг. 1А



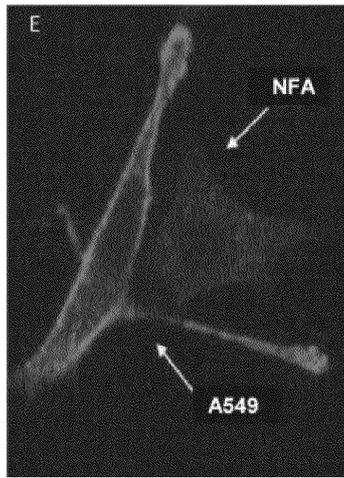
Фиг. 1В



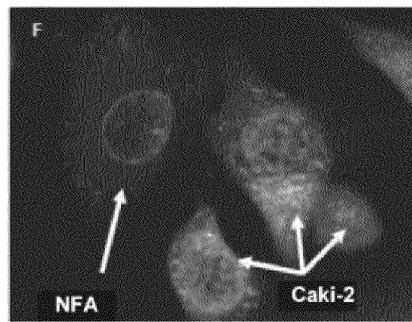
Фиг. 1С



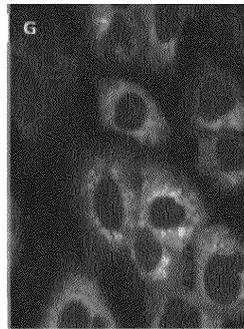
Фиг. 1D



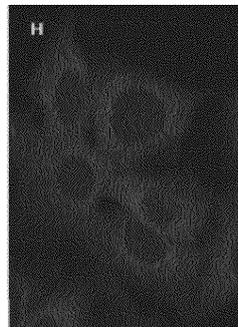
Фиг. 1Е



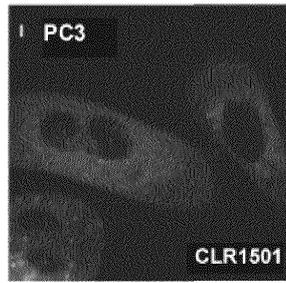
Фиг. 1F



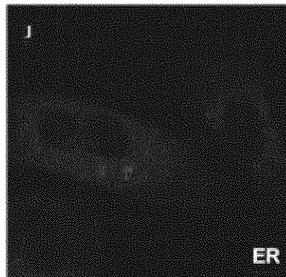
Фиг. 1G



Фиг. 1H



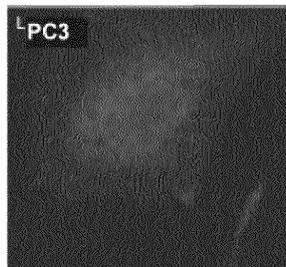
Фиг. 1I



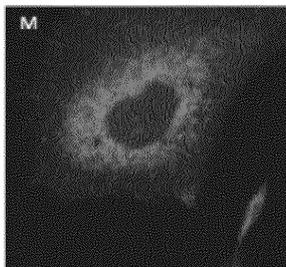
Фиг. 1J



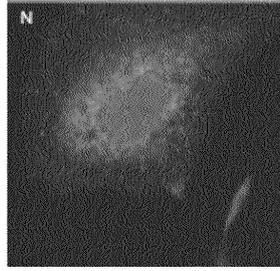
Фиг. 1K



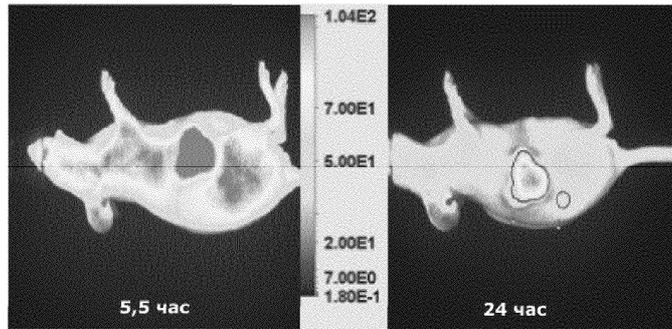
Фиг. 1L



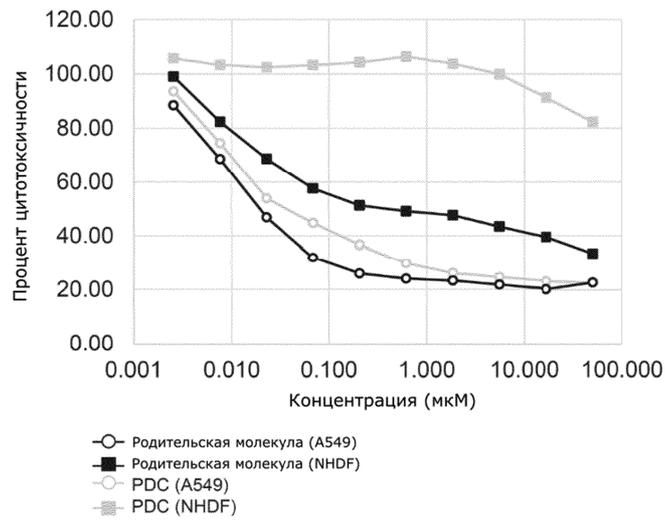
Фиг. 1M



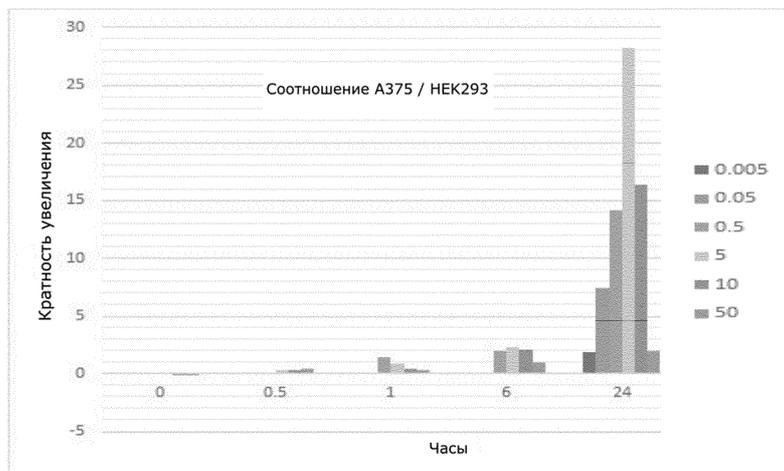
Фиг. 1N



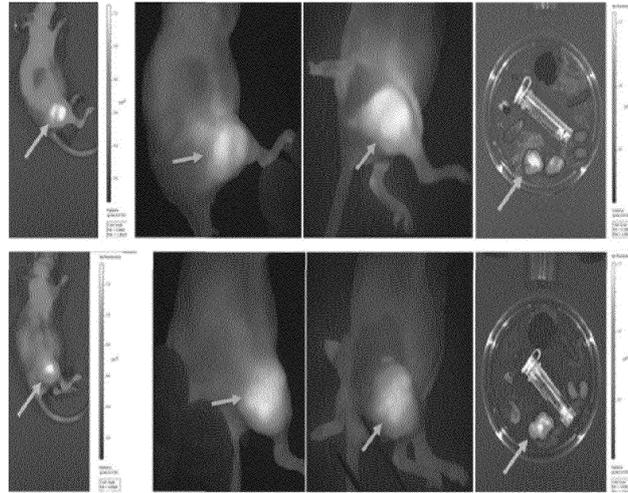
Фиг. 2



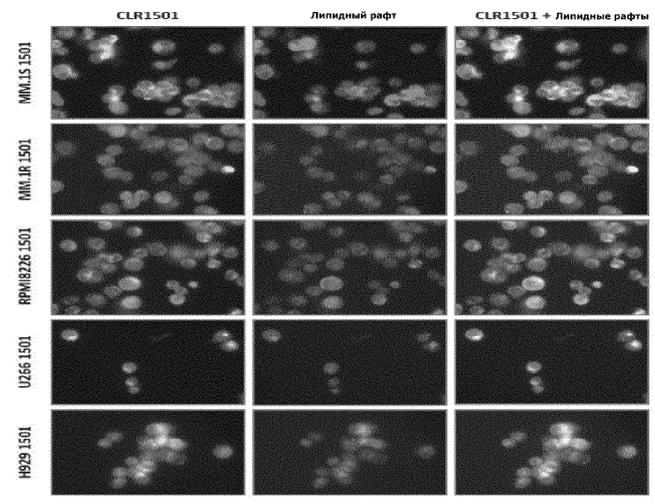
Фиг. 3



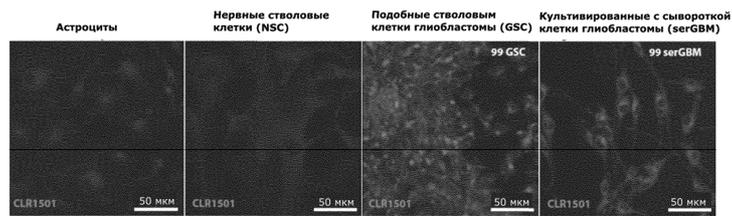
Фиг. 4



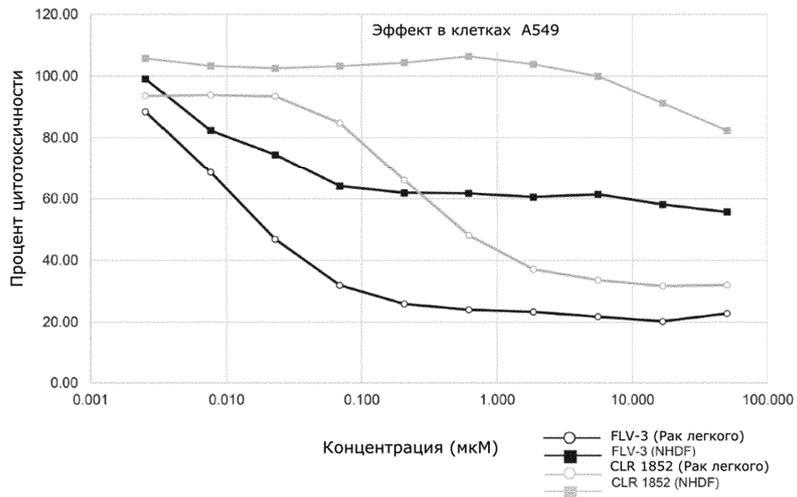
Фиг. 5



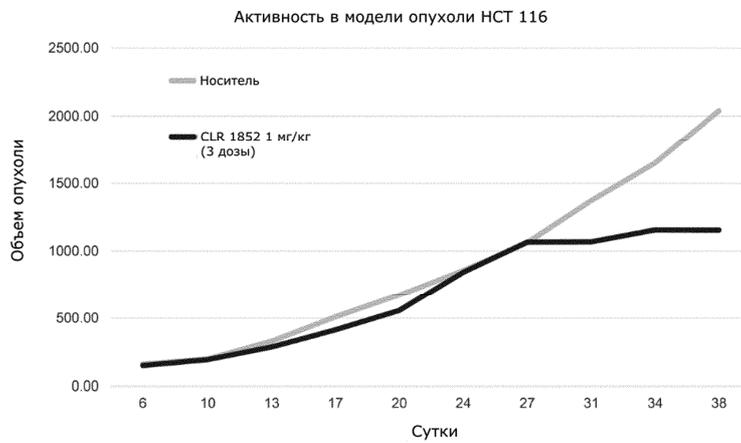
Фиг. 6



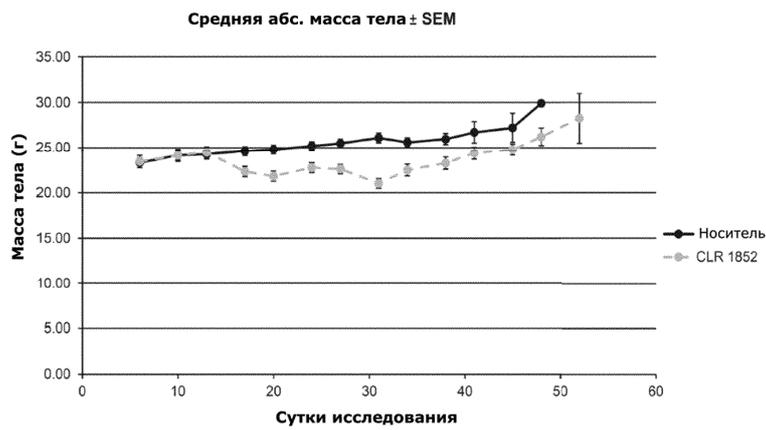
Фиг. 7



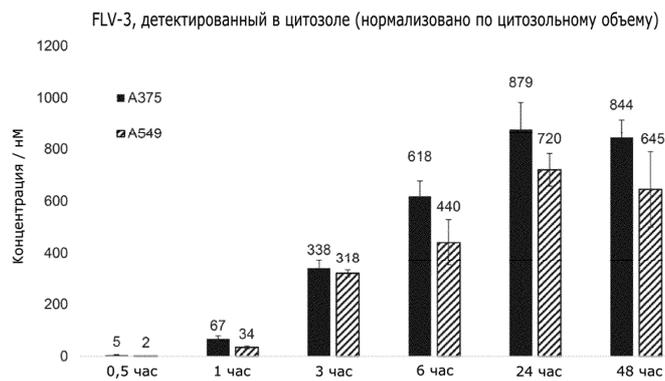
Фиг. 8



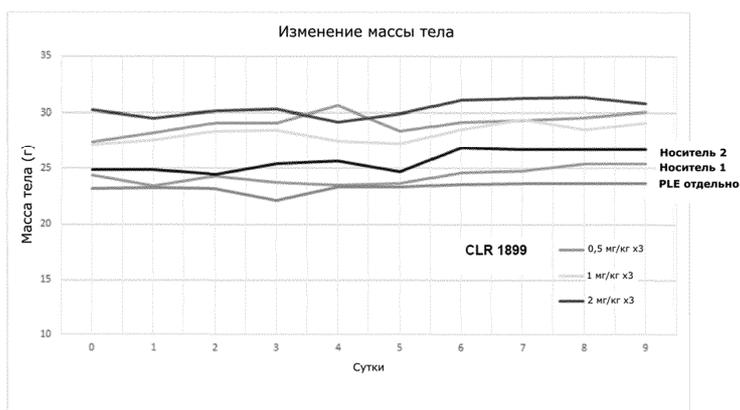
Фиг. 9



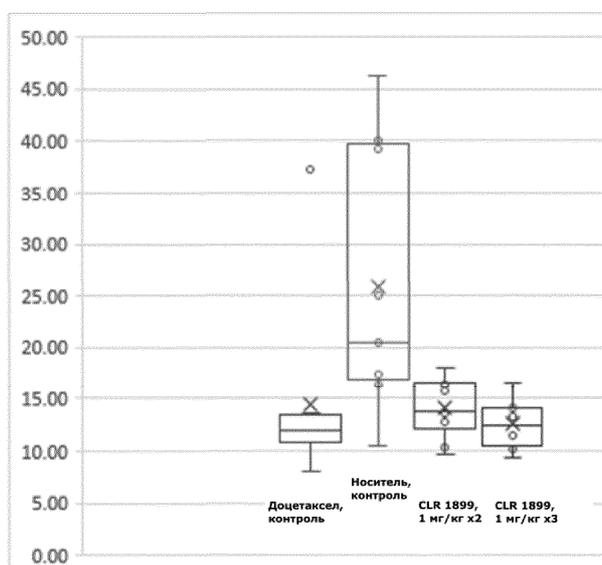
Фиг. 10



Фиг. 11



Фиг. 12



Фиг. 13

