

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491147 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.07.03

(51) Int. Cl. *A61K 51/10* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/26 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.11.02

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

(31) 63/274,802

(32) 2021.11.02

(33) US

(86) PCT/US2022/079137

(87) WO 2023/081698 2023.05.11

(71) Заявитель:

**ФБЮЖН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ
ИНК. (СА)**

(72) Изобретатель:

**Бьюрак Эрик С. (СА), О'Лири
Джеймс, Роден Джон (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Способы лечения состояний, например рака, с использованием холодной IGF-1R-нацеленной молекулы и радиоиммуноконъюгата, содержащего комплекс с металлом хелатообразующего фрагмента, линкер и IGF-1R-нацеленный фрагмент.

A1

202491147

202491147

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420- 581109EA/10

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет на основании предварительной патентной заявки США № 63/274802, поданной 2 ноября 2021 г., полное содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки для всех целей.

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Настоящая заявка содержит список последовательностей, поданный в электронном виде в формате XML, который включен в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки. Указанный файл в формате XML, созданный 1 ноября 2022 г., имеет название FPI_032_SL.xml и размер 14 килобайт.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1R) рассматривали в качестве потенциальной терапевтической мишени при лечении рака. Однако испытания монотерапии IGF-1R-нацеленными антителами или специфическими ингибиторами тирозинкиназы IGF-1R в целом оказались очень разочаровывающими в клинических условиях.

[0004] Таким образом, сохраняется потребность в улучшенных способах лечения рака с использованием терапевтических средств (например, противораковых терапевтических средств), которые могут воздействовать на IGF-1R.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] Настоящее изобретение относится к способам лечения рака с использованием радиоиммуноконъюгатов, нацеленных на IGF-1R (например, человеческий IGF-1R). В некоторых вариантах осуществления предложенные способы приводят к увеличению поглощения опухолью, снижению поглощения нормальной тканью(ями) и/или приводят к снижению токсичности. В некоторых вариантах осуществления способы, раскрытые в настоящем документе, могут позволить субъекту (например, пациенту) переносить более высокую дозу радиоактивности, чем другие способы с использованием радиоиммуноконъюгатов.

[0006] В одном аспекте предложены способы лечения пациента, страдающего от рака, включающие (а) введение пациенту, который нуждается в этом, эффективного количества радиоиммуноконъюгата или его фармацевтически приемлемой соли, где радиоиммуноконъюгат имеет следующую структуру:

A-L-B

Формула I,

где A представляет собой комплекс с металлом хелатообразующего фрагмента, B представляет собой IGF-1R-нацеленный фрагмент и L представляет собой линкер, и где пациенту одновременно вводят IGF-1R-нацеленную молекулу.

[0007] В некоторых вариантах осуществления переменная В представляет собой антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, способное связываться с IGF-1R. В некоторых вариантах осуществления холодная IGF-1R-нацеленная молекула представляет собой холодное анти-IGF-1R антитело или его IGF-1R-связывающий фрагмент.

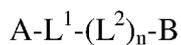
[0008] В некоторых вариантах осуществления холодное анти-IGF-1R антитело предварительно вводят пациенту перед введением радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления холодное анти-IGF-1R антитело вводят пациенту одновременно с введением радиоиммуноконъюгата.

[0009] В некоторых вариантах осуществления холодное анти-IGF-1R антитело предварительно вводят в дозе 0,1-10 мг/кг (например, 0,5-3 мг/кг) в зависимости от массы тела пациента.

[0010] В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгат вводят в дозе 10-100 кБк/кг (например, 15-80 кБк/кг) массы тела указанного пациента.

[0011] В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгат вводят с кумулятивной экспозицией 20-300 кБк/кг (например, 20-200 кБк/кг, 20-150 кБк/кг, 20-100 кБк/кг или 35-70 кБк/кг) массы тела указанного пациента.

[0012] В некоторых вариантах осуществления в формуле I переменная L имеет структуру $L^1-(L^2)_n$, представленную в формуле II:



Формула II,

где

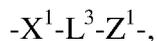
A представляет собой комплекс с металлом хелатообразующего фрагмента;

B представляет собой антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, способное связываться с IGF-1R;

L^1 представляет собой связь, C=O, C=S, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкил или необязательно замещенный арил или гетероарил;

n представляет собой целое число от 1 до 5 (включительно); и

каждый L^2 , независимо, имеет структуру:



где

X^1 представляет собой $-C(O)NR^1-*$, $-NR^1C(O)-*$, $-C(S)NR^1-*$, $-NR^1C(S)-*$, $-OC(O)NR^1-*$, $-NR^1C(O)O-*$, $-NR^1C(O)NR^1-$, $-CH_2-Ph-C(O)NR^1-*$, $-NR^1C(O)-Ph-CH_2-*$, $-CH_2-Ph-NH-C(S)NR^1-*$, $-NR^1C(S)-NH-Ph-CH_2-*$, -O- или $-NR^1-$, где «*» указывает точку присоединения к L^3 , и каждый R^1 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкил или необязательно замещенный арил или гетероарил;

L^3 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_{50} алкил или необязательно замещенный C_1-C_{50} гетероалкил; и

Z^1 представляет собой $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-OC(O)-\#$, $-C(O)O-\#$, $-NR^2C(O)-\#$, -

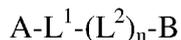
$C(O)NR^2-\#$ или $-NR^2-$, где «#» указывает точку присоединения к В, и каждый R^2 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил.

[0013] В некоторых вариантах осуществления переменная L^3 представляет собой $(CH_2CH_2O)_{2-20}$ или $(CH_2CH_2O)_{2-20} - C_1-C_6$ алкил.

[0014] В некоторых вариантах осуществления хелатообразующий фрагмент выбран из группы, состоящей из DOTA (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота), DOTMA (1R,4R,7R,10R)- $\alpha,\alpha',\alpha'',\alpha'''$ -тетраметил-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота), DOTAM (1,4,7,10-тетракис(карбамоилметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан), DO3AM-уксусной кислоты (2-(4,7,10-трис(2-амино-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)уксусная кислота), DOTP (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетра(метиленфосфоновая кислота)), DOTA-4AMP (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетракис(ацетамидометиленфосфоновая кислота), NOTA (1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триуксусная кислота) и HP-DO3A (10-(2-гидроксипропил)-1,4,7-тетраазациклододекан-1,4,7-триуксусная кислота).

[0015] В некоторых вариантах осуществления комплекс с металлом содержит радионуклид, выбранный из группы, состоящей из ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{55}Co , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{82}Rb , ^{86}Y , ^{87}Y , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{97}Ru , ^{99}Tc , ^{99m}Tc , ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}In , ^{117m}Sn , ^{149}Pm , ^{149}Tb , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{201}Tl , ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Th и ^{229}Th .

[0016] В некоторых вариантах осуществления в формуле I переменная L имеет структуру $-L^1-(L^2)_n-$, представленную в формуле II:



Формула II,

где:

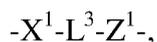
A представляет собой комплекс с металлом DOTA;

B представляет собой антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, способное связываться с IGF-1R;

L^1 представляет собой связь или C_1-C_6 алкил;

n равно 1; и

L^2 имеет структуру:

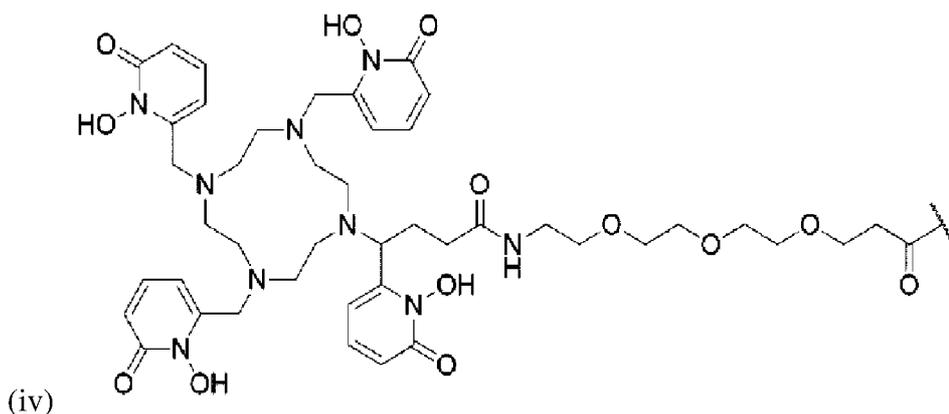


где:

X^1 представляет собой $-C(O)NR^1-*$, «*» указывает точку присоединения к L^3 и R^1 представляет собой H или C_1-C_6 алкил;

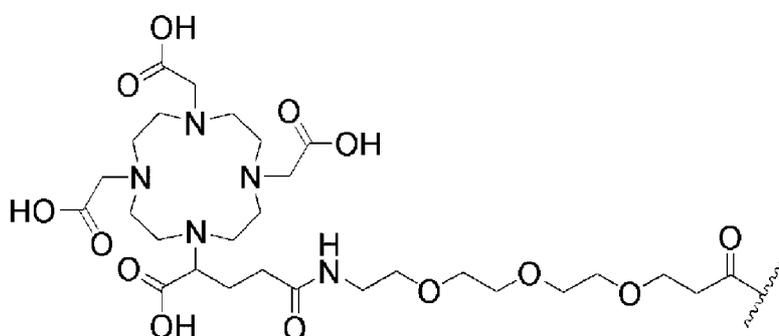
L^3 представляет собой $(CH_2CH_2O)_m(CH_2)_w$, m и w независимо представляют собой целое число от 0 до 10 (включительно) и по меньшей мере одно из m и w не равно 0; и

Z^1 представляет собой $-C(O)-$.



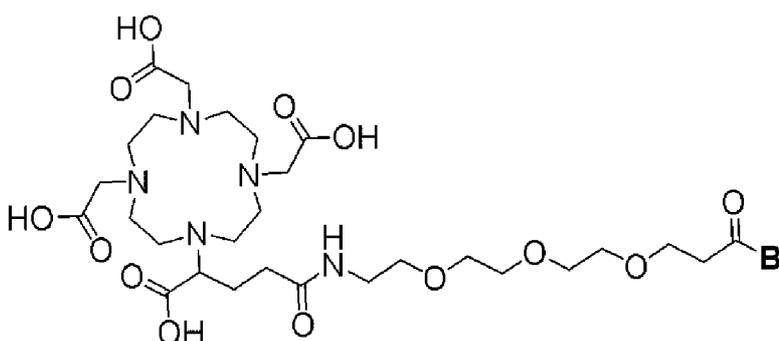
(Фрагмент 4).

[0018] В некоторых вариантах осуществления A-L- представляет собой комплекс с металлом фрагмента 1:



(Фрагмент 1).

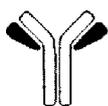
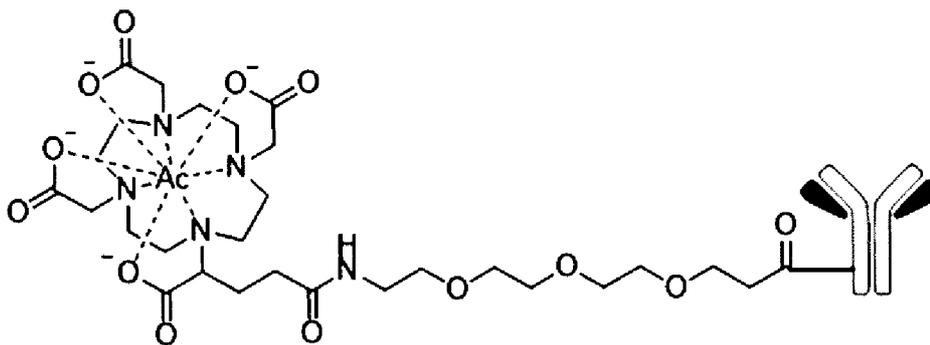
[0019] В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгат имеет следующую структуру:

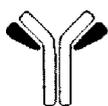


где B представляет собой антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, способное связываться с IGF-1R.

В некоторых вариантах осуществления комплекс с металлом содержит альфа-излучатель. В некоторых вариантах осуществления альфа-излучатель выбран из группы, состоящей из астата-211 (^{211}At), висмута-212 (^{212}Bi), висмута-213 (^{213}Bi), актиния-225 (^{225}Ac), радия-223 (^{223}Ra), свинца-212 (^{212}Pb), тория-227 (^{227}Th) и тербия-149 (^{149}Tb) или продуктов их распада. В некоторых вариантах осуществления комплекс с металлом содержит ^{225}Ac или продукт его распада.

[0020] В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгат имеет следующую структуру:



где  представляет собой анти-IGF-1R антитело AVE1642.

[0021] В некоторых вариантах осуществления способ по настоящему изобретению отличается тем, что холодная IGF-1R-нацеленная молекула представляет собой AVE1642 или его IGF-1R-связывающий фрагмент.

[0022] В некоторых вариантах осуществления способ по настоящему изобретению может быть использован для лечения рака, включая, но без ограничения, солидную раковую опухоль.

[0023] В некоторых вариантах осуществления солидная раковая опухоль выбрана из группы, состоящей из аденокарциномы эндометрия, саркомы Юинга, карциномы желчного пузыря, глиомы, рака головы и шеи, рака печени, рак легкого, нейробластомы, нейроэндокринного рака, рака яичников, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, почечно-клеточного рака, аденоидного кистозного рака слюнной железы, сперматоцитарной семиномы и увеальной меланомы.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0024] ФИГ. 1А представляет собой схему, изображающую общую структуру бифункционального хелата, содержащего хелат, линкер и сшивающую группу.

[0025] ФИГ. 1В представляет собой схему, изображающую общую структуру бифункционального конъюгата, содержащего хелат, линкер и нацеленный фрагмент.

[0026] ФИГ. 1С-1D представляют собой схемы, изображающие структуры $[^{111}\text{In}]$ -DOTA-анти-IGF-1R и $[^{225}\text{Ac}]$ -DOTA-анти-IGF-1R, двух иллюстративных радиоиммуноконъюгатов, раскрытых в настоящем документе.

[0027] ФИГ. 2 представляет собой схему, изображающую синтез бифункционального хелата, 4-[[11-оксо-11-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)ундецил]карбамоил]-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (соединение В). Синтез соединения В описан в примере 2.

[0028] ФИГ. 3 представляет собой схему, изображающую синтез бифункционального хелата, $4-\{[2-(2-\{2-[3-оксо-3-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пропокси]этокси\}этокси)этил]карбамоил\}-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (соединение С)$. Синтез соединения С описан в примере 3.

[0029] ФИГ. 4 представляет собой схему, изображающую синтез IGF-1R-нацеленного радиоиммуноконъюгата [^{225}Ac]-DOTA-анти-IGF-1R.

[0030] ФИГ. 5 показывает график фармакокинетики конъюгата [^{111}In]-DOTA-анти-IGF-1R с холодным анти-IGF-1R антителом и без него.

[0031] ФИГ. 6А-6Е показывает график поглощения радиоиммуноконъюгата в различных органах с помощью анализа изображений.

[0032] ФИГ. 7А-7Е показывает график поглощения радиоиммуноконъюгата опухолью относительно фона в различных органах с помощью анализа изображений.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0033] Радиоиммуноконъюгаты предназначены для воздействия на белок или рецептор, активация которого повышена при болезненном состоянии, с целью доставки радиоактивной нагрузки для повреждения и уничтожения интересующих клеток (радиоиммунотерапия). Процесс доставки такой полезной нагрузки за счет радиоактивного распада приводит к образованию альфа-, бета- или гамма-частиц, или оже-электронов, которые могут оказывать прямое воздействие на ДНК (например, вызывать одно- или двухцепочечные разрывы ДНК), либо не прямое воздействие, такое как абскопальные или перекрестные эффекты.

[0034] Радиоиммуноконъюгаты обычно содержат биологический нацеленный фрагмент (например, антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, которое способно специфически связываться с человеческим IGF-1R), радиоизотоп и молекулу, которая связывает их. Конъюгаты образуются, когда бифункциональный хелат присоединяется к биологической нацеленной молекуле с минимальными структурными изменениями, при сохранении сродства к мишени. После мечения радиоизотопом образуется конечный радиоиммуноконъюгат.

[0035] Бифункциональные хелаты структурно содержат хелат, линкер и сшивающую группу (Фиг. 1А). При разработке новых бифункциональных хелатов большинство усилий направлено на хелатообразующую часть молекулы. Описано несколько примеров бифункциональных хелатов с различными циклическими и ациклическими структурами, конъюгированными с целевой группой. [Bioconjugate Chem. 2000, 11, 510-519; Bioconjugate Chem. 2012, 23, 1029-1039; Mol Imaging Biol. 2011, 13, 215-221, Bioconjugate Chem. 2002, 13, 110-115.]

[0036] Одним из ключевых факторов разработки безопасных и эффективных радиоиммуноконъюгатов является максимизация эффективности при минимизации нецелевой токсичности в нормальных тканях. Хотя это утверждение является одним из основных принципов разработки новых лекарственных средств, его применение в

радиоиммунотерапии сопряжено с дополнительными проблемами. Чтобы иметь терапевтическую эффективность, радиоиммуноконъюгаты не должны блокировать рецептор, как это необходимо в случае терапевтического антитела, или высвободить цитотоксическую полезную нагрузку внутриклеточно, как это необходимо в случае конъюгата антитело-лекарственное средство. Однако в результате распада первого порядка (радиоактивного) происходит событие, заключающееся в эмиссии токсичных частиц, и оно может происходить случайно в любом участке тела после введения. После эмиссии может возникать повреждение окружающих клеток в пределах диапазона эмиссии, что может приводить к потенциальной нецелевой токсичности. Поэтому ограничение воздействия этих эмиссий на нормальные ткани является ключом к разработке новых лекарственных средств.

[0037] Одним из потенциальных методов снижения нецелевого воздействия является более эффективное удаление радиоактивности из организма (например, из нормальных тканей организма). Одним из механизмов является увеличение скорости клиренса биологического нацеленного средства. Этот подход, вероятно, требует выявления способов сокращения периода полувыведения биологического нацеленного средства, который недостаточно хорошо описан для биологических нацеленных средств. Независимо от механизма, увеличение клиренса лекарственного средства также будет отрицательно влиять на фармакодинамику/эффективность, поскольку более быстрое выведение лекарственного средства из организма будет снижать эффективную концентрацию в зоне его действия, что, в свою очередь, потребует более высокой общей дозы и не позволит достичь желаемых результатов по снижению общей радиоактивной дозы для нормальных тканей.

[0038] Усилия были также направлены на ускорение метаболизма той части молекулы, которая содержит радиоактивный фрагмент. С этой целью были предприняты некоторые усилия по увеличению скорости отщепления радиоактивного фрагмента от биологических нацеленных средств за счет использования так называемых «расщепляемых линкеров». Однако расщепляемые линкеры имеют разное значение в случае радиоиммуноконъюгатов. В публикации Cornelissen *et al.* описаны расщепляемые линкеры как те, с помощью которых бифункциональный хелат присоединяют к биологическому нацеленному средству через восстановленный остаток цистеина, тогда как другие авторы описывали использование расщепляемых ферментами систем, которые требуют одновременного введения радиоиммуноконъюгата с расщепляющим средством/ферментом для высвобождения [Mol Cancer Ther. 2013, 12(11), 2472-2482; Methods Mol Biol. 2009, 539, 191-211; Bioconjug Chem. 2003, 14(5), 927-33]. Эти методы либо изменяют природу биологического нацеленного фрагмента в случае цистеиновой связи, либо непрактичны с точки зрения разработки лекарственных средств (расщепляемые ферментами системы), поскольку в приведенных цитируемых публикациях необходимо введение двух средств.

[0039] Настоящее изобретение относится, среди прочего, к способам лечения рака с использованием радиоиммуноконъюгатов, что в различных вариантах осуществления приводит к повышенному поглощению опухолью, снижению поглощения нормальной тканью(ями) и/или приводит к снижению токсичности. В некоторых вариантах осуществления способы, раскрытые в настоящем документе, могут позволить субъекту (например, пациенту) переносить более высокую дозу радиоактивности, чем другие способы с использованием радиоиммуноконъюгатов.

[0040] Одной из уникальных особенностей настоящего изобретения является режим дозирования радиофармацевтического средства (визуализирующего или терапевтического средства), например, радиоиммуноконъюгата, в сочетании с холодным антителом, то есть, нерадиоактивным антителом, нацеленным на ту же мишень. Введение нерадиоактивного антитела замедляет клиренс радиофармпрепарата и изменяет его биораспределение и кинетику. Эти эффекты приводят к увеличению системного воздействия радиофармпрепарата и благоприятным изменениям в оценках дозы радиации, поглощаемой в лезии/нормальных органах, на основе визуализации и дозиметрии пациента, что позволяет пациентам получать более низкие дозы радиофармпрепарата при одновременном увеличении дозы радиации, поглощаемой в лезиях.

[0041] Кумулятивное количество радиофармпрепарата, которое можно вводить, ограничено пределами для нормальных органов (например, Международная комиссия по радиологической защите, или ICRP, 2012 ICRP Statement on Tissue Reactions/Early and Late Effects of Radiation in Normal Tissues and Organs - Threshold Doses for Tissue Reactions in a Radiation Protection Context. ICRP Publication 118. Ann. ICRP 41(1/2)). Добавление нерадиоактивных антител к режиму дозирования улучшает соотношение поглощения опухолью/нормальным органом, позволяя доставлять к опухоли большее кумулятивное количество радиации в пределах, определенных для нормальных органов. Ожидается, что доставка большего количества радиоактивности в опухоль может повышать противоопухолевую эффективность.

Определения

[0042] Используемый в настоящем документе термин «примерно», или «приблизительно», применительно к количественному значению включает само указанное количественное значение, если специально не указано иное. Используемый в настоящем документе термин «примерно», или «приблизительно», также относится к отклонению $\pm 10\%$ от указанного количественного значения, если иное не указано или не следует из контекста.

[0043] Используемый в настоящем документе термин «антитело» относится к полипептиду, аминокислотная последовательность которого включает иммуноглобулины и их фрагменты, которые специфически связываются с указанным антигеном или его фрагментами. Антитела по настоящему изобретению могут относиться к любому типу (например, IgA, IgD, IgE, IgG или IgM) или подтипу (например, IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4). Специалистам в данной области будет понятно, что характерная

последовательность или часть антитела может включать аминокислоты, встречающиеся в одной или более областях антитела (например, вариабельной области, гипервариабельной области, константной области, тяжелой цепи, легкой цепи и их сочетании). Кроме того, специалисты в данной области поймут, что характерная последовательность или часть антитела может включать одну или более полипептидных цепей и может включать элементы последовательности, встречающиеся в одной и той же полипептидной цепи или в разных полипептидных цепях.

[0044] Используемый в настоящем документе термин «антигенсвязывающий фрагмент» относится к части антитела, которая сохраняет характеристики связывания исходного антитела.

[0045] В настоящем документе термин «связанность», или «связывание», нацеленного фрагмента означает по меньшей мере временное взаимодействие или ассоциацию с молекулой-мишенью, например, с человеческим IGF-1R, как описано в настоящем документе.

[0046] Используемый в настоящем документе термин «бифункциональный хелат» относится к соединению, которое содержит хелат, линкер и сшивающую группу. См. например, Фиг. 1А. «Сшивающая группа» представляет собой реакционноспособную группу, которая способна соединять две или более молекул, например, соединять бифункциональный хелат и нацеленный фрагмент, посредством ковалентной связи.

[0047] Используемый в настоящем документе термин «бифункциональный конъюгат» относится к соединению, которое содержит хелат или его комплекс с металлом, линкер и нацеленный фрагмент, например антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. См. например, формулу I или ФИГ. 1В.

[0048] Термин «рак» относится к раку любого вида, вызванному пролиферацией злокачественных неопластических клеток, такому как опухоли, новообразования, карциномы, саркомы, лейкозы и лимфомы. «Солидная раковая опухоль» представляет собой рак, включающий аномальную массу ткани, например саркомы, карциномы и лимфомы.

[0049] Используемые в настоящем документе выражения «совместное введение», «введение в сочетании» или «комбинированное введение» означают, что два или более средств вводят субъекту одновременно или в пределах такого временного интервала, что может иметь место перекрывание эффектов каждого средства на субъекта. Таким образом, нет необходимости в совместном введении двух или более средств, которые вводят в сочетании, хотя это возможно. Например, одно средство можно вводить предварительно до введения другого средства. В некоторых вариантах осуществления два или более средств вводят в пределах 24 часов (например, 12, 6, 5, 4, 3, 2 часов или 1 часа друг от друга или в пределах примерно 60, 30, 15, 10, 5 минут или 1 минуты друг от друга). В некоторых вариантах осуществления два или более средств вводят совместно, например, в одном и том же препарате или, например, в разных препаратах, но в одно и то же время.

[0050] Используемый в настоящем документе термин «холодное» применительно к средству (например, нацеленному фрагменту, такому как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент) означает, что средство не является радиоактивным, например, не мечено радионуклидом. «Холодное» средство может быть, или не быть, конъюгировано с другим фрагментом или модифицировано каким-либо образом при условии, что холодное средство не является радиоактивным.

[0051] Используемый в настоящем документе термин «хелат» относится к органическому соединению, или его части, которое может быть связано с центральным атомом металла или радиоактивного металла в двух или более точках.

[0052] Используемый в настоящем документе термин «конъюгат» относится к молекуле, которая содержит хелатообразующую группу или ее комплекс с металлом, группу линкера и которая, необязательно, содержит нацеленный фрагмент, например антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0053] Используемый в настоящем документе термин «соединение» должен охватывать все стереоизомеры, геометрические изомеры и таутомеры изображенных структур.

[0054] Соединения, перечисленные или описанные в настоящем документе, могут быть асимметричными (например, иметь один или более стереоцентров). Охвачены все стереоизомеры, такие как энантиомеры и диастереомеры, если не указано иное. Соединения, обсуждаемые в настоящем описании, которые содержат асимметрично замещенные атомы углерода, могут быть выделены в оптически активных или рацемических формах. В данной области известны способы получения оптически активных форм из оптически активных исходных материалов, например, путем разделения рацемических смесей или путем стереоселективного синтеза.

[0055] Используемый в настоящем документе термин «детектируемое средство» относится к молекуле или атому, которые можно использовать при диагностике заболевания путем обнаружения клеток, содержащих антиген. В данной области известны различные способы мечения полипептидов детектируемыми средствами. Примеры детектируемых средств включают, но не ограничиваются ими, радиоизотопы и радионуклиды, красители (например, комплекс биотин-стрептавидин), контрастные вещества, люминесцентные средства (например, изотиоцианат флуоресцеина или FITC, родамин, лантанидные люминофоры, цианин и красители для ближней ИК области спектра), а также магнитные средства, такие как хелаты гадолиния.

[0056] Используемый в настоящем документе термин «радионуклид» относится к атому, способному подвергаться радиоактивному распаду (например, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{35}S , ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{55}Co , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{89}Zr , ^{86}Y , ^{87}Y , ^{90}Y , ^{97}Ru , ^{99}Tc , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}In , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{149}Pm , ^{149}Tb , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Th , ^{229}Th , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{82}Rb , $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{201}Tl). Термины «радиоактивный нуклид», «радиоизотоп» или «радиоактивный изотоп» также могут быть использованы для описания радионуклида. Радионуклиды могут быть

использованы в качестве детектируемых средств, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления радионуклид может представлять собой альфа-излучающий радионуклид.

[0057] Используемый в настоящем документе термин «эффективное количество» средства (например, любого из вышеуказанных конъюгатов) означает количество, достаточное для достижения полезных или желаемых результатов, таких как клинические результаты, и, следовательно, «эффективное количество» зависит от контекста, в котором его используют. Например, в терапевтических целях «эффективное количество» может представлять собой количество, достаточное для лечения или по меньшей мере частичного купирования симптомов заболевания и его осложнений и/или для существенного ослабления по меньшей мере одного симптома, связанного с заболеванием или медицинским состоянием. Например, при лечении рака средство или соединение, которое уменьшает, предотвращает, задерживает, подавляет или купирует любой симптом заболевания или состояния, будет терапевтически эффективным. Терапевтически эффективное количество средства или соединения не обязательно должно излечивать заболевание или состояние, но может, например, обеспечивать лечение заболевания или состояния, так что происходит задержка, затруднение или предотвращение возникновения заболевания или состояния, например ослабление симптомов заболевания или состояния, или изменение течения заболевания или состояния. Например, заболевание или состояние может стать менее тяжелым и/или выздоровление человека ускорится. Эффективное количество можно вводить путем введения одной дозы или нескольких (например, по меньшей мере двух, по меньшей мере трех, по меньшей мере четырех, по меньшей мере пяти или по меньшей мере шести) доз.

[0058] Используемый в настоящем документе термин «иммуноконъюгат» относится к конъюгату, который включает нацеленный фрагмент, такой как антитело (или его антигенсвязывающий фрагмент), нанотело, аффитело или консенсусную последовательность из домена фибронектина типа III. В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат содержит в среднем по меньшей мере 0,10 конъюгата на нацеленный фрагмент (например, в среднем по меньшей мере 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 4, 5 или 8 конъюгатов на нацеленный фрагмент).

[0059] Используемый в настоящем документе термин «радиоконъюгат» относится к любому конъюгату, который включает радиоизотоп или радионуклид, такой как любой из радиоизотопов или радионуклидов, описанных в настоящем документе.

[0060] Используемый в настоящем документе термин «радиоиммуноконъюгат» относится к любому иммуноконъюгату, который включает радиоизотоп или радионуклид, такой как любой из радиоизотопов или радионуклидов, описанных в настоящем документе. Радиоиммуноконъюгат, предложенный по настоящему изобретению, обычно представляет собой бифункциональный конъюгат, который содержит комплекс с металлом, образованный из радиоизотопа или радионуклида.

[0061] Используемый в настоящем документе термин «радиоиммуноterapia» относится к способу применения радиоиммуноконъюгата для получения терапевтического эффекта. В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноterapia может включать введение радиоиммуноконъюгата субъекту, который нуждается в этом, причем введение радиоиммуноконъюгата вызывает терапевтический эффект у субъекта. В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноterapia может включать введение радиоиммуноконъюгата в клетку, причем введение радиоиммуноконъюгата убивает клетку. В некоторых вариантах осуществления в случаях, когда радиоиммуноterapia включает избирательное уничтожение клетки, клетка представляет собой раковую клетку у субъекта, страдающего от рака.

[0062] Используемый в настоящем документе термин «фармацевтическая композиция» относится к композиции, содержащей описанный в настоящем документе радиоиммуноконъюгат, составленный с фармацевтически приемлемым наполнителем. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию производят или продают с одобрения государственного регулирующего органа как часть терапевтической схемы лечения заболевания у млекопитающего. Фармацевтические композиции могут быть составлены, например, для перорального введения в стандартной лекарственной форме (например, таблетке, капсуле, каплете, желатиновой капсуле или сиропе); для местного применения (например, в виде крема, геля, лосьона или мази); для внутривенного введения (например, в виде стерильного раствора, не содержащего твердых эмболов, и в системе растворителей, подходящей для внутривенного применения); или в любом другом препарате, описанном в настоящем документе.

[0063] Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемый эксципиент» относится к любому ингредиенту, отличному от соединений, описанных в настоящем документе (например, носителю, способному суспендировать или растворять активное соединение), и являющемуся нетоксичным и невоспалительным для пациента. Эксципиенты могут включать, например: антиадгезивы, антиоксиданты, связывающие вещества, покрытия, добавки для прессования, разрыхлители, красители (окрашивающие вещества), смягчающие средства, эмульгаторы, наполнители (разбавители), пленкообразователи или покрытия, вкусо-ароматические добавки, ароматизаторы, средства, способствующие скольжению (усилители текучести), смазочные вещества, консерванты, печатные краски, радиозащитные средства, сорбенты, суспендирующие или диспергирующие средства, подсластители или воду для гидратации. Примеры эксципиентов включают, но не ограничиваются ими: аскорбиновую кислоту, гистидин, фосфатный буфер, бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), карбонат кальция, фосфат кальция (двухосновный), стеарат кальция, кроскармеллозу, сшитый поливинилпирролидон, лимонную кислоту, кросповидон, цистеин, этилцеллюлозу, желатин, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, лактозу, стеарат магния, мальтитол, маннит, метионин, метилцеллюлозу, метилпарабен, микрокристаллическую целлюлозу, полиэтиленгликоль, поливинилпирролидон, повидон,

прежелатинизированный крахмал, пропилпарабен, ретинилпальмитат, шеллак, диоксид кремния, карбоксиметилцеллюлозу натрия, цитрат натрия, натрия крахмал гликолят, сорбит, крахмал (кукурузный), стеариновую кислоту, сахарозу, тальк, диоксид титана, витамин А, витамин Е, витамин С и ксилит.

[0064] Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к тем солям соединений, описанных в настоящем документе, которые, в рамках здравого медицинского заключения, подходят для использования в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения или аллергической реакции. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области. Например, фармацевтически приемлемые соли описаны в: Berge *et al.*, J. *Pharmaceutical Sciences* 66:1-19, 1977 и в *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (Eds. P.H. Stahl and C.G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008. Соли могут быть получены *in situ* во время окончательного выделения и очистки соединений, описанных в настоящем документе, или отдельно путем взаимодействия группы свободного основания с подходящей органической кислотой.

[0065] Соединения по изобретению могут иметь ионизируемые группы, чтобы их можно было получать в виде фармацевтически приемлемых солей. Эти соли могут представлять собой соли присоединения кислоты, включающие неорганические или органические кислоты, или в случае кислотных форм соединений по изобретению соли могут быть получены из неорганических или органических оснований. Часто соединения получают или используют в виде фармацевтически приемлемых солей, полученных как продукты присоединения фармацевтически приемлемых кислот или оснований. Подходящие фармацевтически приемлемые кислоты и основания хорошо известны в данной области, например, соляная, серная, бромистоводородная, уксусная, молочная, лимонная или винная кислоты для образования солей присоединения кислоты, а также гидроксид калия, гидроксид натрия, гидроксид аммония, кофеин, различные амины для образования солей присоединения основания. Способы получения соответствующих солей хорошо известны в данной области.

[0066] Типичные соли присоединения кислоты включают ацетат, адипат, альгинат, аскорбат, аспартат, бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, фумарат, глюкогептонат, глицерофосфат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, гидробромид, гидрохлорид, гидроиодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пикрат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, толуолсульфонат, ундеканат, валерат и другие. Типичные соли щелочных или щелочноземельных металлов включают соли натрия, лития, калия, кальция и магния, а также нетоксичные соли катионов аммония, четвертичного аммония и амина, включая, но без ограничения, соли аммония, тетраметиламмония,

тетраэтиламмония, метиламина, диметиламина, триметиламина, триэтиламина и этиламина.

[0067] Используемый в настоящем документе термин «полипептид» относится к цепи, состоящей из по меньшей мере двух аминокислот, присоединенных друг к другу пептидной связью. В некоторых вариантах осуществления полипептид может содержать по меньшей мере 3-5 аминокислот, каждая из которых присоединена к другим посредством по меньшей мере одной пептидной связи. Специалисты в данной области поймут, что полипептиды могут содержать одну или более «неприродных» аминокислот или других соединений, которые, тем не менее, способны интегрироваться в полипептидную цепь. В некоторых вариантах осуществления полипептид может быть гликозилированным, например, полипептид может содержать один или более ковалентно связанных сахарных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления один «полипептид» (например, полипептид антитела) может содержать две или более отдельных полипептидных цепей, которые в некоторых случаях могут быть связаны друг с другом, например, одной или более дисульфидными связями или другими способами.

[0068] Под «субъектом» подразумевают человека или животного, не являющегося человеком (например, млекопитающее).

[0069] Используемые в настоящем документе термины «существенная идентичность» или «в значительной степени идентичная» относятся к полипептидной последовательности, которая имеет ту же полипептидную последовательность, соответственно, что и эталонная последовательность, или имеет указанный процент аминокислотных остатков, соответственно, которые являются такими же в соответствующих участках внутри эталонной последовательности, когда две последовательности оптимально выровнены. Например, аминокислотная последовательность, которая «в значительной степени идентична» эталонной последовательности, имеет по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность с эталонной аминокислотной последовательностью. Для полипептидов длина последовательностей сравнения обычно составляет по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 50, 75, 90, 100, 150, 200, 250, 300 или 350 смежных аминокислот (например, полноразмерная последовательность). Идентичность последовательностей можно измерять с помощью программного обеспечения для анализа последовательностей с настройками по умолчанию (например, пакета программ для анализа последовательностей Компьютерной группы генетики, Биотехнологического центра Университета Висконсина, 1710 University Avenue, Madison, WI 53705). Такое программное обеспечение может сопоставлять сходные последовательности, присваивая степени гомологии различным заменам, делециям и другим модификациям.

[0070] Используемый в настоящем документе термин «нацеленный фрагмент» относится к любой молекуле или любой части молекулы, которая способна связываться с заданной мишенью. Термин «IGF-1R-нацеленный фрагмент» относится к нацеленному

фрагменту, который способен связываться с молекулой IGF-1R, например, IGF-1R человека.

[0071] В настоящем документе и, как хорошо известно в данной области, термины «лечить» состояние или «лечение» состояния (например, описанных в настоящем документе состояний, таких как рак) относятся к подходу для достижения полезных или желаемых результатов, таких как клинические результаты. Полезные или желаемые результаты могут включать, но без ограничения, облегчение или ослабление одного или более симптомов или состояний; уменьшение степени тяжести заболевания, нарушения или состояния; стабилизацию (то есть, отсутствие ухудшения) заболевания, нарушения или состояния; предотвращение распространения заболевания, нарушения или состояния; задержку или замедление прогрессирования заболевания, нарушения или состояния; облегчение или ослабление заболевания, нарушения или состояния; а также ремиссию (частичную или полную), выявляемую или не выявляемую. «Ослабление» заболевания, нарушения или состояния означает, что степень тяжести и/или нежелательные клинические проявления заболевания, нарушения или состояния уменьшаются и/или динамика прогрессирования замедляется или удлиняется в сравнении со степенью тяжести или динамикой в отсутствие лечения.

Способы лечения

[0072] В одном аспекте предложены способы лечения рака, включающие этап введения субъекту (например, пациенту), который нуждается в этом, фармацевтической композиции, содержащей эффективное количество радиоиммуноконъюгата, описанного далее в настоящем документе (например, радиоиммуноконъюгата, содержащего IGF-1R-нацеленный фрагмент), и при этом субъекту одновременно вводят холодную IGF-1R-нацеленную молекулу.

[0073] Используемый в настоящем документе термин «холодная IGF-1R-нацеленная молекула» означает, что IGF-1R-нацеленная молекула не является радиоактивной, например, не является меченой радионуклидом. Используемый в настоящем документе термин «IGF-1R-нацеленная молекула» относится к молекуле, содержащей IGF-1R-нацеленный фрагмент, например, любой IGF-1R-нацеленный фрагмент, описанный в настоящем документе. Например, в некоторых вариантах осуществления холодная IGF-1R-нацеленная молекула представляет собой антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, которое способно связываться с IGF-1R. В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгат и холодная IGF-1R-нацеленная молекула способны связывать один и тот же эпитоп на IGF-1R.

Введение

[0074] «Совместное введение» означает, что радиоиммуноконъюгат и холодную IGF-1R-нацеленную молекулу вводят субъекту одновременно или в течение определенного временного интервала, так что может наблюдаться перекрывание эффектов каждого средства на субъекта. Радиоиммуноконъюгат и холодную IGF-1R-нацеленную молекулу не обязательно вводить совместно, хотя это возможно. Например, одно средство

можно вводить предварительно до введения другого средства. Например, в контексте раскрытых в настоящем документе способов холодная IGF-1R-нацеленная молекула может быть введена предварительно перед введением радиоиммуноконъюгата. Например, в некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгат и холодную IGF-1R-нацеленную молекулу вводят в пределах 24 часов (например, 12, 6, 5, 4, 3, 2 часов или 1 часа друг от друга или в пределах примерно 60, 30, 15, 10, 5 минут или 1 минуты друг от друга). В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгат и холодную IGF-1R-нацеленную молекулу вводят совместно, например, в одном и том же препарате или, например, в разных препаратах, но в одно и то же время.

[0075] «Предварительное введение» означает, что холодную IGF-1R-нацеленную молекулу вводят до введения радиоиммуноконъюгата. Например, в некоторых вариантах осуществления IGF-1R-нацеленную молекулу вводят менее чем за 5 часов, менее чем за 4 часа, менее чем за 3 часа, менее чем за 2 часа, менее чем за 1 час или менее чем за 30 минут до введения радиоиммуноконъюгата.

[0076] В некоторых вариантах осуществления холодную IGF-1R-нацеленную молекулу вводят предварительно перед введением радиоиммуноконъюгата.

[0077] Радиоиммуноконъюгаты и их фармацевтические композиции, раскрытые в настоящем документе, можно вводить любым из множества путей введения, включая системные и местные пути введения.

[0078] Системные пути введения включают парентеральные пути и энтеральные пути. В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгаты или их фармацевтические композиции вводят парентеральным путем, например, внутривенно, внутриартериально, внутрибрюшинно, подкожно или внутривожно. В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгаты или их фармацевтические композиции вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгаты или их фармацевтические композиции вводят энтеральным путем введения, например, желудочно-кишечным или пероральным путем введения.

[0079] Местные пути введения включают, но не ограничиваются ими, инъекции в окружающие опухоль ткани и в опухоль.

Дозы

[0080] Радиоиммуноконъюгаты или содержащие их фармацевтические композиции можно вводить для планирования лучевой терапии, диагностики и/или терапевтического лечения. При введении для планирования лучевой терапии или в диагностических целях радиоиммуноконъюгат можно вводить субъекту в диагностически эффективной дозе и/или количестве, эффективном для определения терапевтически эффективной дозы. При терапевтическом применении фармацевтические композиции можно вводить субъекту (например, пациенту), уже страдающему от заболевания (например, рака), в количестве, достаточном для лечения или по меньшей мере частичного купирования симптомов заболевания и его осложнений. Количество, достаточное для достижения этой цели, определяют как «терапевтически эффективное количество», количество соединения,

достаточное для существенного облегчения по меньшей мере одного симптома, связанного с заболеванием или медицинским состоянием. Например, при лечении рака средство или соединение, которое уменьшает, предотвращает, задерживает, подавляет или купирует какой-либо симптом заболевания или состояния, будет терапевтически эффективным. Терапевтически эффективное количество средства или соединения не обязательно должно излечивать заболевание или состояние, но может, например, обеспечивать лечение заболевания или состояния, так что происходит задержка, затруднение или предотвращение возникновения заболевания или состояния, например ослабление симптомов заболевания или состояния, или изменение течения заболевания или состояния. Например, заболевание или состояние может стать менее тяжелым и/или выздоровление человека ускорится. В некоторых вариантах осуществления субъекту вводят первую дозу радиоиммуноконъюгата или композиции в количестве, эффективном для планирования лучевого лечения, затем вводят вторую дозу или набор доз радиоиммуноконъюгата или композиции в терапевтически эффективном количестве.

[0081] Эффективные количества могут зависеть от тяжести заболевания или состояния и других характеристик субъекта (например, массы тела). Терапевтически эффективные количества раскрытых радиоиммуноконъюгатов и композиций для субъектов (например, млекопитающих, таких как человек) могут быть определены специалистом средней квалификации с учетом индивидуальных различий (например, различий в возрасте, массе тела и состоянии здоровья субъекта).

[0082] В некоторых вариантах осуществления субъекту (например, пациенту) предварительно или одновременно вводят дозу 0,1-10 мг/кг (например, 0,2-8 мг/кг, 0,3-7 мг/кг, 0,4-6 мг/кг, 0,5-5 мг/кг, 0,5-4 мг/кг, 0,5-3 мг/кг, 0,5-2 мг/кг или 0,5-1 мг/кг) холодной IGF-1R-нацеленной молекулы (например, анти-IGF-1R антитела). В некоторых вариантах осуществления пациенту предварительно или одновременно вводят примерно 0,2 мг/кг, примерно 0,3 мг/кг, примерно 0,4 мг/кг, примерно 0,5 мг/кг, примерно 0,6 мг/кг, примерно 0,7 мг/кг, примерно 0,8 мг/кг, примерно 0,9 мг/кг, примерно 1,0 мг/кг, примерно 1,5 мг/кг, примерно 2,0 мг/кг, примерно 2,5 мг/кг, примерно 3,0 мг/кг, примерно 4,0 мг/кг, примерно 5,0 мг/кг, примерно 6,0 мг/кг, примерно 7,0 мг/кг, примерно 8,0 мг/кг, примерно 9,0 мг/кг или примерно 10 мг/кг холодного анти-IGF-1R антитела. В некоторых вариантах осуществления пациенту предварительно вводят дозу от 0,5 до 3 мг/кг (например, 0,5 мг/кг или 1,5 мг/кг) холодной IGF-1R-нацеленной молекулы (например, анти-IGF-1R антитела).

[0083] В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгат вводят в дозе 10-100 кБк/кг (например, 15-80 кБк/кг, 20-60 кБк/кг, 25-50 кБк/кг, 30-40 кБк/кг, 25-40 кБк/кг, 20-40 кБк/кг или 15-40 кБк/кг) массы тела указанного пациента. В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгат вводят в дозе 15-40 кБк/кг (например, примерно 15 кБк/кг, примерно 20 кБк/кг, примерно 25 кБк/кг, примерно 30 кБк/кг, примерно 35 кБк /кг, примерно 40 кБк/кг) массы тела указанного пациента.

[0084] В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгат вводят с кумулятивной экспозицией 20-300 кБк/кг (например, 20-200 кБк/кг, 20-150 кБк/кг, 20-100 кБк/кг, 25-50 кБк/кг, 30-60 кБк/кг, 35-70 кБк/кг или 35-80 кБк/кг) массы тела указанного пациента.

[0085] Для применения на практике способов по настоящему изобретению либо радиоиммуноконъюгат, нацеленный на IGF-1R, либо холодную IGF-1R-нацеленную молекулу можно вводить в виде однократной дозы или нескольких доз (например, два, три или четыре раза в рамках любого конкретного лечения).

[0086] Однократное или многократное введение радиоиммуноконъюгатов, описанных в настоящем документе, включая эффективное количество, можно выполнять с использованием уровней доз и схем введения, выбранных лечащим врачом. Доза и схема введения могут быть определены и скорректированы в зависимости от тяжести заболевания или состояния у субъекта, которую можно контролировать на протяжении всего курса лечения способами, обычно практикуемыми клиницистами, или способами, описанными в настоящем документе. Что касается доз радиоактивности, в качестве неограничивающего примера в некоторых вариантах осуществления субъекту (например, пациенту) предварительно вводят примерно 0,5-3 мг/кг (например, 0,5 мг/кг или 1,5 мг/кг) холодного анти-IGF-1R антитела, с последующим введением IGF-1R-нацеленного радиоиммуноконъюгата в дозе примерно 15-40 кБк/кг (например, 15 кБк/кг или 30 кБк/кг).

Функциональные результаты

[0087] В некоторых вариантах осуществления у субъекта, которого лечили способом, раскрытым в настоящем документе, наблюдается одна или более улучшенных характеристик, измеренных относительно эталонного уровня. Используемый в настоящем документе термин «эталонный уровень» означает уровень, определенный с помощью контрольного метода в экспериментальной модели на животных или в клиническом исследовании. В некоторых вариантах осуществления «эталонный уровень» означает уровень, наблюдаемый у субъекта, которому вводили тот же радиоиммуноконъюгат (и в некоторых вариантах осуществления с использованием того же протокола дозирования, включая дозу радиоактивности), но без одновременного введения холодной IGF-1R-нацеленной молекулы.

[0088] В некоторых вариантах осуществления у субъекта, которого лечили способом, раскрытым в настоящем документе, наблюдается повышенное поглощение радиоиммуноконъюгата опухолью относительно контрольного уровня, например, по меньшей мере в 1,2 раза выше, по меньшей мере в 1,5 раза выше, по меньшей мере в 2,0 раза выше, по меньшей мере в 2,5 раза выше или по меньшей мере в 3 раза выше, чем эталонный уровень, через 24 часа после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта, которого лечили способом, раскрытым в настоящем документе, в опухоли наблюдается уровень, по меньшей мере в 1,2 раза превышающий, по меньшей мере в 1,5 раза превышающий, по меньшей мере в 2,0 раза превышающий, по меньшей мере в 2,5 раза превышающий или по меньшей мере в 3 раза превышающий

эталонный уровень, через 48 ч после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта, которого лечили способом, раскрытым в настоящем документе, в опухоли наблюдается уровень, по меньшей мере в 1,2 раза превышающий, по меньшей мере в 1,5 раза превышающий, по меньшей мере в 2,0 раза превышающий, по меньшей мере в 2,5 раза превышающий или по меньшей мере в 3 раза превышающий эталонный уровень, через 96 часов после введения радиоиммуноконъюгата.

[0089] В некоторых вариантах осуществления у субъекта в опухоли наблюдается %ИД/г более 10%, более 15% или более 20% через 24 часа после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта в опухоли наблюдается %ИД/г более 10%, более 15%, более 20%, более 25%, более 30%, более 35%, более 40% или более 45% через 96 ч после введения радиоиммуноконъюгата.

[0090] В некоторых вариантах осуществления у субъекта, которого лечили способом, раскрытым в настоящем документе, наблюдается пониженное поглощение радиоиммуноконъюгата в одной или более нормальных (неопухолевых) тканях относительно эталонного уровня, например, 90% или менее, 85% или менее, 80% или менее, 75% или менее, 70% или менее, 65% или менее, 60% или менее, 65% или менее, или 50% или менее от эталонного уровня в одной или более нормальных тканях через 24 часа после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается 90% или менее, 85% или менее, 80% или менее, 75% или менее, 70% или менее, 65% или менее, 60% или менее, 65% или менее, или 50% или менее от эталонного уровня в одной или более нормальных тканях через 48 часов после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается 90% или менее, 85% или менее, 80% или менее, 75% или менее, 70% или менее, 65% или менее, 60% или менее, 65% или менее, или 50% или менее от эталонного уровня в одной или более нормальных тканях через 96 часов после введения радиоиммуноконъюгата.

[0091] В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается %ИД/г менее 10% во внутреннем органе (например, кишечнике, почках, надпочечниках, печени, желчном пузыре, легких, селезенке, коже и/или мочевом пузыре) через 4 часа после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается %ИД/г менее 10% во внутреннем органе (например, кишечнике, почках, надпочечниках, печени, желчном пузыре, легких, селезенке, коже и/или мочевом пузыре) через 24 часа после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается %ИД/г менее 10% во внутреннем органе (например, кишечнике, почках, надпочечниках, печени, желчном пузыре, легких, селезенке, коже и/или мочевом пузыре) через 48 часов после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается %ИД/г менее 10% во внутреннем органе (например, кишечнике, почках, надпочечниках, печени, желчном пузыре, легких, селезенке, коже и/или мочевом пузыре) через 96 часов после введения радиоиммуноконъюгата.

[0092] В некоторых вариантах осуществления у субъекта, которого лечили способом, раскрытым в настоящем документе, наблюдается пониженный клиренс радиоиммуноконъюгата из крови относительно эталонного уровня, например, о чем свидетельствует более высокое значение %ИД/г в крови.

[0093] В некоторых вариантах осуществления у субъекта, которого лечили способом, раскрытым в настоящем документе, наблюдаются по меньшей мере в 5 раз, по меньшей мере в 10 раз, по меньшей мере в 20 раз или по меньшей мере в 30 раз более высокие уровни радиоактивности в крови, чем эталонный уровень, через 24 ч после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта, которого лечили способом, раскрытым в настоящем документе, наблюдаются по меньшей мере в 5 раз, по меньшей мере в 10 раз, по меньшей мере в 20 раз или по меньшей мере в 30 раз более высокие уровни радиоактивности в крови, чем эталонный уровень, через 48 ч после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта, которого лечили способом, раскрытым в настоящем документе, наблюдаются по меньшей мере в 5 раз, по меньшей мере в 10 раз, по меньшей мере в 20 раз или по меньшей мере в 30 раз более высокие уровни радиоактивности в крови, чем эталонный уровень, через 96 ч после введения радиоиммуноконъюгата.

[0094] В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается %ИД/г более 10%, более 15%, более 20% или более 25% в крови через 24 часа после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается %ИД/г более 10%, более 12,5%, более 15% или более 17,5% в крови через 48 часов после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается %ИД/г более 10%, более 12,5% или более 15% в крови через 96 часов после введения радиоиммуноконъюгата.

[0095] В некоторых вариантах осуществления у субъекта, которого лечили способом, раскрытым в настоящем документе, наблюдается пониженное выведение радиоиммуноконъюгата с мочой в сравнении с эталонным уровнем, например, о чем свидетельствует более низкое значение %ИД/г в моче.

[0096] В некоторых вариантах осуществления у субъекта, которого лечили способом, раскрытым в настоящем документе, наблюдается менее 75%, менее 70%, менее 65%, менее 60%, менее 55%, менее 50%, менее 45%, менее 40%, менее 35%, менее 30% или менее 25% уровня радиоактивности в моче в сравнении с эталонным уровнем через 24 ч после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта, которого лечили способом, раскрытым в настоящем документе, наблюдается менее 75%, менее 70%, менее 65%, менее 60%, менее 55%, менее 50%, менее 45%, менее 40%, менее 35%, менее 30% или менее 25% уровня радиоактивности в моче в сравнении с эталонным уровнем через 48 ч после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта, которого лечили способом, раскрытым в настоящем документе, наблюдается менее 75%, менее 70%, менее 65%, менее 60%, менее 55%, менее 50%, менее 45%, менее 40%, менее 35%, менее 30% или менее 25% уровня

радиоактивности в моче в сравнении с эталонным уровнем через 96 ч после введения радиоиммуноконъюгата.

[0097] В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается %ИД/г менее 10%, менее 8% или менее 6% в моче через 24 часа после введения радиоиммуноконъюгата. В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается %ИД/г менее 10% в моче через 96 часов после введения радиоиммуноконъюгата.

[0098] В некоторых вариантах осуществления у субъекта, которого лечили способом, раскрытым в настоящем документе, наблюдается пониженная токсичность в сравнении с эталонным уровнем. В некоторых вариантах осуществления токсичность оценивают на основании одного или более клинических наблюдений (например, степени тяжести и/или частоты побочных эффектов), потребления пищи, массы тела, офтальмологического обследования, гематологического, клинического биохимического анализа, анализа мочи и исследования полученной при биопсии ткани.

[0099] В некоторых вариантах осуществления применение способа, раскрытого в настоящем документе, позволяет субъекту переносить более высокую дозу радиоактивности, чем в способе, в котором субъекту предварительно или одновременно не вводят холодную IGF-1R-нацеленную молекулу.

Субъекты

[00100] В некоторых раскрытых способах субъект получает терапию (например, включающую терапевтическое средство). В некоторых вариантах осуществления субъект является пациентом.

[00101] В некоторых вариантах осуществления субъект страдает от рака или имеет риск развития рака. Например, у субъекта мог быть диагностирован рак. Например, рак может представлять собой первичный рак или метастатический рак. Субъекты могут иметь любую стадию рака, например стадию I, стадию II, стадию III или стадию IV, с поражением лимфатических узлов или без него, а также с метастазами или без них. Предлагаемые радиоиммуноконъюгаты и композиции могут предотвращать или уменьшать дальнейшее развитие рака и/или иным образом улучшать течение рака (например, предотвращать или уменьшать метастазы). В некоторых вариантах осуществления субъект не имеет рака, но было установлено, что он подвержен риску развития рака, например, из-за присутствия одного или более факторов риска, таких как воздействие окружающей среды, наличие одной или более генетических мутаций или вариантов, семейный анамнез и так далее. В некоторых вариантах осуществления у субъекта не был диагностирован рак.

[00102] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой солидную раковую опухоль, например саркому или карциному.

[00103] В некоторых вариантах осуществления солидная раковая опухоль представляет собой аденокарциному, рак мочевого пузыря (например, уротелиальную карциному), рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы или ТНРМЖ), рак шейки матки, колоректальный рак, аденокарциному

эндометрия, саркому Юинга, карциному желчного пузыря, глиому (например, мультиформную глиобластому), рак головы и шеи (например, плоскоклеточную карциному головы и шеи или ПККГШ), рак печени, рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого или немелкоклеточный рак легкого, или аденокарциному легкого), нейробластому, нейроэндокринный рак, рак яичников, рак поджелудочной железы (например, экзокринную карциному поджелудочной железы), рак предстательной железы, почечно-клеточную карциному, аденоидный кистозный рак слюнной железы, сперматоцитарную семиному или увеальную меланому.

[00104] В некоторых вариантах осуществления рак выбран из группы, состоящей из рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака головы и шеи, рака печени и рака легкого. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак печени. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой неоперабельную или метастатическую солидную опухоль, которая представляет собой солидную опухоль с высокой микросателлитной нестабильностью (MSI-H) или с дефицитом системы репарации неспаренных оснований (dMMR).

Радиоиммуноконъюгаты

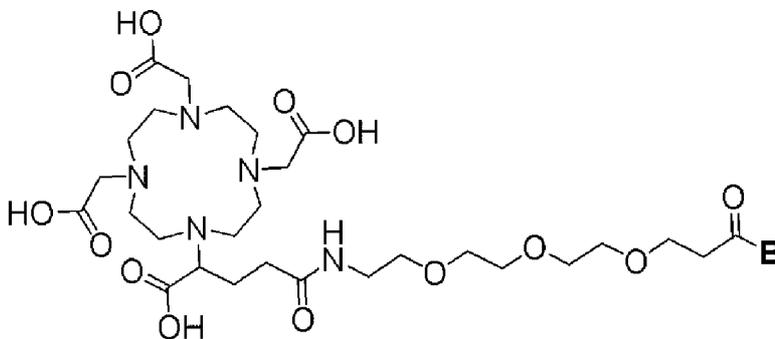
[00105] Радиоиммуноконъюгаты, используемые в способах, раскрытых в настоящем документе, как правило, имеют структуру формулы I:

A-L-B

Формула I,

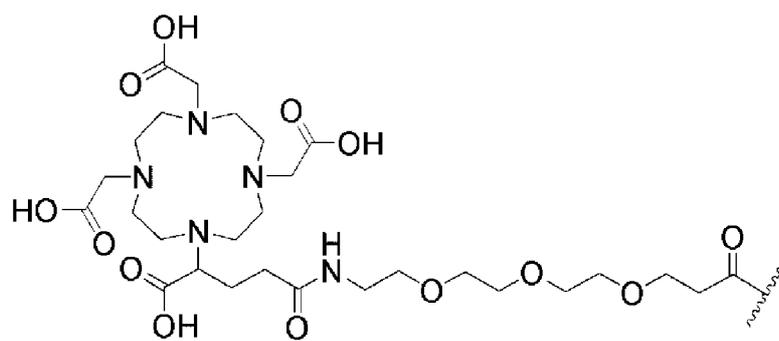
где A представляет собой хелатообразующий фрагмент или его комплекс с металлом, B представляет собой IGF-1R-нацеленный фрагмент и L представляет собой линкер.

[00106] В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгат имеет или содержит структуру, представленную ниже:

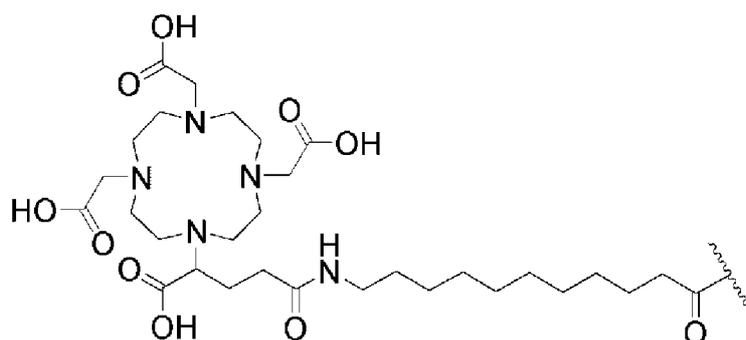


где B представляет собой IGF-1R-нацеленный фрагмент.

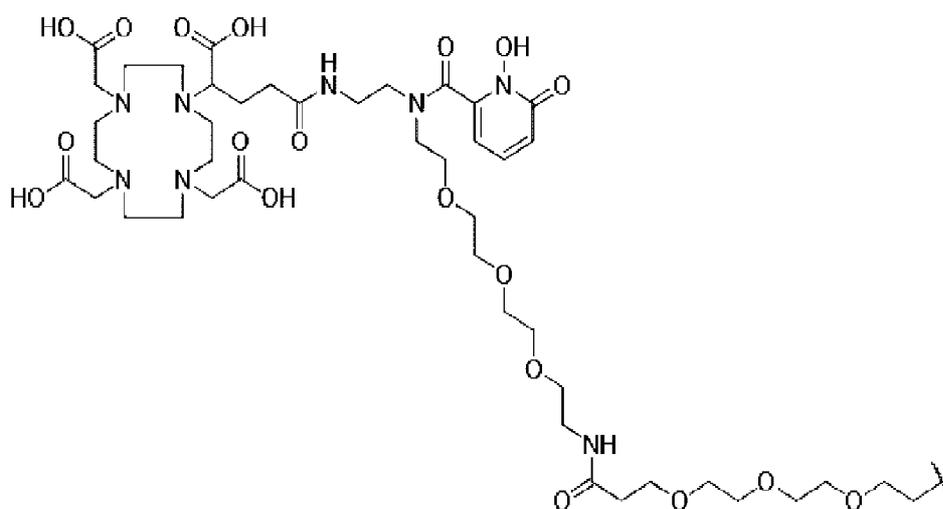
[00107] В некоторых вариантах осуществления A-L- представляет собой комплекс с металлом фрагмента, выбранного из группы, состоящей из



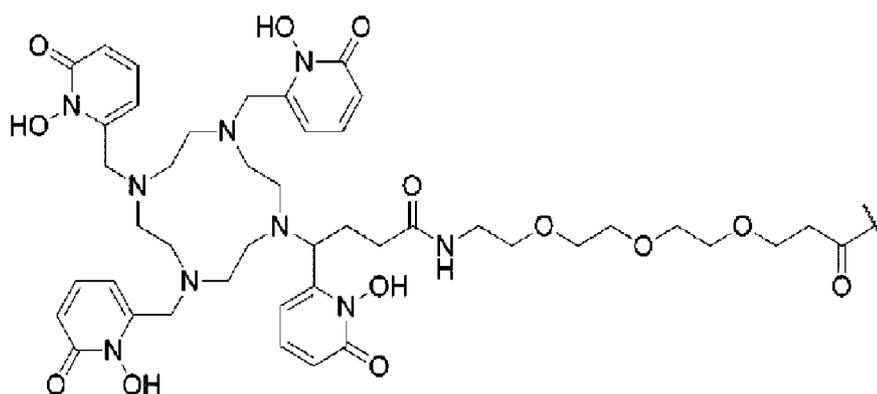
(i)

(Фрагмент 1),

(ii)

(Фрагмент 2),

(iii)

(Фрагмент 3) и

(iv)

(Фрагмент 4).

[00108] В некоторых вариантах осуществления, дополнительно описанных в настоящем документе, радиоиммуноконъюгат содержит хелатообразующий фрагмент или его комплекс с металлом, где комплекс с металлом может содержать радионуклид. В некоторых таких радиоиммуноконъюгатах среднее соотношение или медианное соотношение хелатообразующего фрагмента и IGF-1R-нацеленного фрагмента составляет восемь или менее, семь или менее, шесть или менее, пять или менее, четыре или менее, три или менее, два или менее или примерно единицу. В некоторых радиоиммуноконъюгатах среднее соотношение или медианное соотношение хелатообразующего фрагмента и IGF-1R-нацеленного фрагмента составляет примерно единицу.

[00109] В некоторых вариантах осуществления после введения радиоиммуноконъюгата пациенту доля радиации (от общего количества введенной радиации), которая выводится кишечным путем, почками или обоими способами, превышает долю радиации, которая выводится у сопоставимого пациента, которому вводили эталонный радиоиммуноконъюгат. Используемый в настоящем документе термин «эталонный иммуноконъюгат» означает известный радиоиммуноконъюгат, который отличается от радиоиммуноконъюгата, описанного в настоящем документе, по меньшей мере тем, что (1) имеет другой линкер; (2) имеет нацеленный фрагмент другого размера и/или (3) не имеет нацеленного фрагмента. В некоторых вариантах осуществления эталонный радиоиммуноконъюгат выбран из группы, состоящей из [^{90}Y]-ибритумомаба тиуксетана (зевалин (^{90}Y)) и [^{111}In]-ибритумомаба тиуксетана (зевалин (^{111}In)).

[00110] В некоторых вариантах осуществления доля радиации, выводимой данным путем или совокупностью путей, на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% превышает долю радиации, выводимой тем же путем(ями) у сопоставимого пациента, которому вводили эталонный радиоиммуноконъюгат. В некоторых вариантах осуществления доля выводимой радиации по меньшей мере в 1,5 раза, по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 2,5 раза, по меньшей мере в 3 раза, по меньшей мере в 3,5 раза, по меньшей мере в 4 раза, по меньшей мере в 4,5 раза, по меньшей мере в 5 раз, по меньшей мере в 6 раз, по меньшей мере в 7 раз, по меньшей мере в 8 раз, по меньшей мере в 9 раз или по меньшей мере в 10 раз превышает долю радиации, выводимой у сопоставимого пациента, которому вводили эталонный радиоиммуноконъюгат. Степень выведения может быть измерена методами, известными в данной области, например, путем измерения радиоактивности в моче и/или фекалиях,

и/или путем измерения общей радиоактивности тела за определенный период времени. Смотри также, например, международную патентную публикацию WO 2018/024869.

[00111] В некоторых вариантах осуществления степень выведения измеряют в период времени, составляющий по меньшей мере или примерно 12 часов после введения, по меньшей мере или примерно 24 часа после введения, по меньшей мере или примерно 2 дня после введения, по меньшей мере или примерно 3 дня после введения, по меньшей мере или примерно 4 дня после введения, по меньшей мере или примерно 5 дней после введения, по меньшей мере или примерно 6 дней после введения, или по меньшей мере или примерно 7 дней после введения.

[00112] В некоторых вариантах осуществления после введения радиоиммуноконъюгата пациенту радиоиммуноконъюгат проявляет сниженные эффекты нецелевого связывания (например, токсичность) в сравнении с эталонным конъюгатом (например, эталонным иммуноконъюгатом, таким как эталонный радиоиммуноконъюгат). В некоторых вариантах осуществления этот сниженный эффект нецелевого связывания является особенностью радиоиммуноконъюгата, который также отличается более высокой скоростью выведения, как описано в настоящем документе.

Нацеленные фрагменты

[00113] Нацеленные фрагменты включают любую молекулу или любую часть молекулы, способную связываться с конкретной мишенью, например, IGF-1R. В некоторых вариантах осуществления нацеленный фрагмент представляет собой белок или полипептид. В некоторых вариантах осуществления нацеленный фрагмент выбран из группы, состоящей из антител или их антигенсвязывающих фрагментов, нанотел, аффител и консенсусных последовательностей из доменов фибронектина типа III (например, центринов или аднектинов). В некоторых вариантах осуществления фрагмент представляет собой как нацеленный, так и терапевтический фрагмент, то есть, фрагмент способен связываться с конкретной мишенью, а также обеспечивает терапевтический эффект. В некоторых вариантах осуществления нацеленный фрагмент представляет собой малую молекулу.

Антитела и антигенсвязывающие фрагменты

[00114] Антитела, как правило, содержат две идентичные легкие полипептидные цепи и две идентичные тяжелые полипептидные цепи, связанные между собой дисульфидными связями. Первый домен, расположенный на амино-конце каждой цепи, представляет собой переменную аминокислотную последовательность, которая обеспечивает специфичность связывания каждого отдельного антитела. Они известны как переменные области тяжелых (VH) и переменные области легких (VL) цепей. Остальные домены каждой цепи относительно инвариантны по аминокислотной последовательности и известны как константные области тяжелых (CH) и константные области легких (CL) цепей. Легкие цепи, как правило, содержат одну переменную область (VL) и одну константную область (CL). Тяжелая цепь IgG включает переменную область (VH), первую константную область (CH1), шарнирную область, вторую

константную область (СН2) и третью константную область (СН3). В антителах IgE и IgM тяжелая цепь включает дополнительную константную область (СН4).

[00115] Антитела, подходящие для использования по настоящему изобретению, могут включать, например, моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела, человеческие антитела, гуманизированные антитела, антитела верблюдовых, химерные антитела, одноцепочечные Fv (scFv), Fv с дисульфидной связью (sdFv) и антиидиотипические (анти-Id) антитела, а также антигенсвязывающие фрагменты любого из вышеперечисленных. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является химерным. Антитела могут относиться к любому типу (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), классу (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подклассу.

[00116] Используемый в настоящем документе термин «антигенсвязывающий фрагмент» антитела относится к одному или более фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином «антигенсвязывающий фрагмент» антитела, включают Fab-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, Fd-фрагмент, Fv-фрагмент, scFv-фрагмент, dAb-фрагмент (Ward *et al.*, (1989) Nature 341:544-546) и выделенную определяющую комплементарность область (CDR). В некоторых вариантах осуществления «антигенсвязывающий фрагмент» содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи. Эти фрагменты антител можно получать с использованием обычных методов, известных специалистам в данной области, и можно проводить скрининг фрагментов на предмет полезности таким же образом, как и интактных антител.

[00117] Антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в настоящем документе, могут быть получены любым способом, известным в области синтеза антител (See, e.g., Harlow *et al.*, Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2-е издание, 1988); Brinkman *et al.*, 1995, J. Immunol. Methods 182:41-50; WO 92/22324; WO 98/46645). Химерные антитела могут быть получены способами, описанными, например, в публикации Morrison, 1985, Science 229:1202, а гуманизированные антитела способами, описанными, например, в патенте США № 6180370.

[00118] Дополнительные антитела, описанные в настоящем документе, представляют собой биспецифические антитела и поливалентные антитела, описанные, например, в публикациях Segal *et al.*, J. Immunol. Methods 248:1-6 (2001); и Tutt *et al.*, J. Immunol. 147: 60 (1991), или любые из молекул, описанных в настоящем документе.

[00119] Используемый в настоящем документе термин «авимер» относится к мультимерному связывающему белку или пептиду, сконструированному с использованием, например, перетасовки экзонов *in vitro* и фагового дисплея.

Множественные связывающие домены связаны, что приводит к большей аффинности и специфичности в сравнении с доменами иммуноглобулина для одного эпитопа.

[00120] «Нанотела» представляют собой фрагменты антител, состоящие из одного мономерного переменного домена антитела. Нанотела также могут быть названы однодоменными антителами. Как и антитела, нанотела способны избирательно связываться со специфическим антигеном. Нанотела могут представлять собой переменные домены тяжелой цепи или домены легкой цепи. Нанотела могут существовать в природе или быть продуктом биологической инженерии. Нанотела могут быть биологически сконструированы путем сайт-направленного мутагенеза или мутагенного скрининга (например, фагового дисплея, дрожжевого дисплея, бактериального дисплея, мРНК дисплея, рибосомного дисплея). «Аффитела» представляют собой полипептиды или белки, сконструированные для связывания со специфическим антигеном. Таким образом, можно считать, что аффитела имитируют определенные функции антител.

[00121] Аффитела могут представлять собой сконструированные варианты В-домена в иммуноглобулин-связывающей области стафилококкового белка А. Аффитела могут представлять собой сконструированные варианты Z-домена, В-домена, который имеет более низкую аффинность к Fab-области. Аффитела могут быть биологически сконструированы путем сайт-направленного мутагенеза или мутагенного скрининга (например, фагового дисплея, дрожжевого дисплея, бактериального дисплея, мРНК дисплея, рибосомного дисплея).

[00122] Были созданы молекулы аффител, демонстрирующие специфическое связывание с различными белками (например, инсулином, фибриногеном, трансферрином, фактором некроза опухолей α , IL-8, gp120, CD28, человеческим сывороточным альбумином, IgA, IgE, IgM, HER2 и EGFR), которые проявляют аффинность (Kd) в диапазоне от мкМ до пМ. «Диатела» представляют собой фрагменты антител с двумя антигенсвязывающими сайтами, которые могут быть двухвалентными или биспецифическими. Смотри, например, Hudson *et al.* (2003). Одноцепочечные антитела представляют собой фрагменты антитела, содержащие весь или часть переменного домена тяжелой цепи, или весь или часть переменного домена легкой цепи антитела. Фрагменты антител могут быть получены различными методами, включая, но без ограничения, протеолитическое расщепление интактного антитела, а также продуцирование рекомбинантными хозяевами (например, *E. coli* или фагом), как описано в настоящем документе.

[00123] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является мультиспецифическим, например биспецифическим. Мультиспецифические антитела (или их антигенсвязывающие фрагменты) включают моноклональные антитела (или их антигенсвязывающие фрагменты), которые обладают специфичностью связывания для по меньшей мере двух разных сайтов.

[00124] В некоторых вариантах осуществления предусмотрены варианты аминокислотных последовательностей антител или их антигенсвязывающих фрагментов; например, варианты, которые способны связываться с человеческим IGF-1R. Например, может быть желательным усиление аффинности связывания и/или других биологических свойств антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Варианты аминокислотной последовательности антитела или его антигенсвязывающего фрагмента могут быть получены путем введения соответствующих модификаций в нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или путем пептидного синтеза. Такие модификации включают, например, делеции и/или вставки, и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Для получения конечной конструкции можно использовать любое сочетание делеции, вставки и замены при условии, что конечная конструкция обладает желаемыми характеристиками, например связыванием антигена.

[00125] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой ингибирующее антитело (также называемое «антителом-антагонистом») или его антигенсвязывающий фрагмент, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по меньшей мере частично ингибирует одну или более функций молекулы-мишени (например, IGF-1R), как описано далее в настоящем документе.

[00126] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антитело-агонист (также известное как стимулирующее антитело).

[00127] Примеры антител или их антигенсвязывающих фрагментов, способных связываться с IGF-1R, включают, но не ограничиваются ими, фигитумумаб, циксутумумаб, далотузумаб, ганитумаб, AVE1642 (также известное как гуманизированное EM164 и huEM164), ВПВ002, робатумумаб и тепротумумаб, а также их антигенсвязывающие фрагменты. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой AVE1642 или его IGF-1R-связывающий фрагмент.

[00128] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит специфические определяющие комплементарность области тяжелой цепи CDR-H1, CDR-H2 и/или CDR-H3, описанные в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления определяющие комплементарность области (CDR) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента фланкированы каркасными областями. Тяжелая или легкая цепь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащая три CDR, обычно содержит четыре каркасные области.

[00129] В некоторых вариантах осуществления области CDR варибельной области легкой цепи AVE1642 имеют последовательности:

SEQ ID NO: 1 (CDR-L1) RSSQSIVHSNVNTYLE

SEQ ID NO: 2 (CDR-L2) KVSNRFS

SEQ ID NO: 3 (CDR-L3) FQGSHPPT

[00130] В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи AVE1642 имеет последовательность:

SEQ ID NO: 9

DVVMQTPLSLPVS LGDPASISCRSSQSIVHSNVNTYLEWYLQKPGQSPRLLIYKV
SNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLRISRVEAEDLGIYYCFQGSHPPTFGGGTKLEIKR

[00131] В некоторых вариантах осуществления легкая цепь AVE1642 содержит последовательность:

SEQ ID NO: 4

DVVMQTPLSLPVS LGDPASISCRSSQSIVHSNVNTYLEWYLQKPGQSPRLLIYKV
SNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLRISRVEAEDLGIYYCFQGSHPPTFGGGTKLEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK

[00132] В некоторых вариантах осуществления области CDR вариабельной области тяжелой цепи AVE1642 имеют последовательности:

SEQ ID NO: 5 (CDR-H1) SYWMH

SEQ ID NO: 6 (CDR-H2) EINPSNGRTNYNQKFQG

SEQ ID NO: 7 (CDR-H3) GRPDYYGSSKWYFDV

[00133] В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи AVE1642 имеет последовательность:

SEQ ID NO: 10

QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGGLWIGEINP
SNGRTNYNQKFQGGKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYFARGRPDYYGSSKWYF
DVWGQGTITVTVSS

[00134] В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь AVE1642 содержит последовательность:

SEQ ID NO: 8

QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGGLWIGEINP
SNGRTNYNQKFQGGKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYFARGRPDYYGSSKWYF
DVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG

[00135] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельный домен легкой цепи, включающий по меньшей мере одну, две или все три определяющие комплементарность области (CDR), выбранные из:

(a) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1;

(b) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; и

(c) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3.

[00136] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельный домен тяжелой цепи, включающий по меньшей мере одну, две или все три области CDR, выбранные из:

- (a) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5;
- (b) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; и
- (c) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7.

[00137] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, включающие по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или все шесть областей CDR, выбранных из:

- (a) CDR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1;
- (b) CDR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2;
- (c) CDR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3;
- (d) CDR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5;
- (e) CDR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; и
- (f) CDR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7.

[00138] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент отличается тем, что переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

[00139] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент отличается тем, что переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9.

[00140] Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент может представлять собой любое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент природного и/или синтетического происхождения, например антитело млекопитающих. В некоторых вариантах осуществления константный домен, при наличии, представляет собой человеческий константный домен. В некоторых вариантах осуществления переменный домен представляет собой переменный домен млекопитающих, например, гуманизированный или человеческий переменный домен.

[00141] В некоторых вариантах осуществления антитела, используемые по настоящему изобретению, представляют собой моноклональные антитела. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой рекомбинантные мышинные антитела, химерные, гуманизированные или полностью человеческие антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела) или их антигенсвязывающие фрагменты.

Полипептиды

[00142] Полипептиды включают, например, любые гематологические средства (включая, например, эритропоэтин, факторы свертывания крови и так далее), интерфероны, колониестимулирующие факторы, антитела, ферменты и гормоны. Природа конкретного полипептида не должна ограничивать настоящее изобретение, и любой представляющий интерес полипептид может быть полипептидом в настоящих способах.

[00143] Эталонный полипептид, описанный в настоящем документе, может включать мишень-связывающий домен, который способен связываться с интересующей

мишенью (например, способен связываться с антигеном, например, IGF-1R). Например, полипептид, такой как антитело, может связываться с трансмембранным полипептидом (например, рецептором) или лигандом (например, фактором роста).

Модифицированные полипептиды

[00144] Полипептиды, подходящие для использования с композициями и способами по настоящему изобретению, могут иметь модифицированную аминокислотную последовательность. Модифицированные полипептиды могут быть в значительной степени идентичны соответствующему эталонному полипептиду (например, аминокислотная последовательность модифицированного полипептида может иметь по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности с эталонным полипептидом). В некоторых вариантах осуществления модификация существенно не разрушает желаемую биологическую активность (например, связывание с IGF-1R). Модификация может уменьшать (например, по меньшей мере на 5%, 10%, 20%, 25%, 35%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 90% или 95%), может не оказывать эффекта или может увеличивать (например, по меньшей мере, на 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, 200%, 500% или 1000%) биологическую активность исходного полипептида. Модификация полипептида может придавать или может оптимизировать характеристики полипептида, такие как стабильность *in vivo*, биодоступность, токсичность, иммунологическая активность, иммунологическая идентичность и свойства конъюгации.

[00145] Модификации включают модификации, возникающие в результате естественных процессов, таких как посттрансляционный процессинг, или в результате химического модифицирования методами, известными в данной области. Модификации могут иметь место в любом участке полипептида, включая каркас полипептида, боковые цепи аминокислот и амино- или карбоксильный конец. Модификации одного и того же типа могут присутствовать в одинаковой или различной степени в нескольких сайтах конкретного полипептида, и полипептид может иметь модификации более одного типа. Полипептиды могут быть разветвленными в результате убиквитинирования и могут быть циклическими, с разветвлением или без него. Циклические, разветвленные и разветвленные циклические полипептиды могут возникать в результате посттрансляционных естественных процессов или могут быть получены синтетическим путем. Другие модификации включают пегилирование, ацетилирование, ацилирование, добавление ацетомидометильной (Acм) группы, АДФ-рибозилирование, алкилирование, амидирование, биотинилирование, карбамоилирование, карбоксиэтилирование, этерификацию, ковалентное присоединение к флавину, ковалентное присоединение к фрагменту гема, ковалентное присоединение нуклеотида или производного нуклеотида, ковалентное присоединение лекарственного средства, ковалентное присоединение маркера (например, флуоресцентного или радиоактивного), ковалентное присоединение липида или производного липида, ковалентное присоединение фосфатидилинозитола, сшивание, циклизацию, образование дисульфидной связи, деметилирование, образование

ковалентных сшивок, образование цистина, образование пироглутамата, формилирование, гамма-карбоксилрование, гликозилирование, образование якоря GPI, гидроксилрование, йодирование, метилирование, миристоилирование, окисление, протеолитический процессинг, фосфорилирование, пренилирование, рацемизацию, селеноилирование, сульфатирование, опосредованное транспортной РНК добавление аминокислот к белкам, такое как аргинилирование и убиквитинирование.

[00146] Модифицированный полипептид может также иметь вставку, делецию или замену аминокислот, консервативную или неконсервативную (например, D-аминокислоты, дезаминокислоты) в последовательности полипептида (например, когда такие изменения существенно не изменяют биологическую активность полипептида). В частности, добавление одного или более остатков цистеина к амино- или карбоксильному концу полипептида по настоящему изобретению может облегчать конъюгацию этих полипептидов, например, посредством дисульфидной связи. Например, полипептид можно модифицировать, включая в него один остаток цистеина на амино-конце или один остаток цистеина на карбоксильном конце. Аминокислотные замены могут быть консервативными (то есть, когда остаток заменяется другим остатком того же общего типа или группы) или неконсервативными (то есть, когда остаток заменяется аминокислотой другого типа). Кроме того, встречающаяся в природе аминокислота может быть заменена на аминокислоту неприродного происхождения (то есть, консервативная замена аминокислотой неприродного происхождения или неконсервативная замена аминокислотой неприродного происхождения).

[00147] Полипептиды, полученные синтетическим путем, могут иметь замены на аминокислоты, не кодируемые ДНК естественным образом (например, неприродные или неестественные аминокислоты). Примеры неприродных аминокислот включают D-аминокислоты, N-защищенные аминокислоты, аминокислоту, имеющую ацетиламинометильную группу, присоединенную к атому серы цистеина, пегилированную аминокислоту, омега-аминокислоты формулы $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, где n равно 2-6, нейтральные неполярные аминокислоты, такие как саркозин, трет-бутилаланин, трет-бутилглицин, N-метилизолейцин и норлейцин. Фенилглицин может заменять Trp, Tyr или Phe; цитруллин и сульфоксид метионина являются нейтральными неполярными аминокислотами, цистеиновая кислота - кислотой, а орнитин - основной аминокислотой. Пролин может быть заменен гидроксипролином, с сохранением свойств, придающих конформацию.

[00148] Аналоги могут быть получены путем заместительного мутагенеза и сохраняют биологическую активность исходного полипептида. Примеры замен, обозначенных как «консервативные замены», приведены в Таблице 1. Если такие замены приводят к нежелательным изменениям, тогда используют замены другого типа, обозначенные как «типичные замены» в Таблице 1, или как описано далее в настоящем документе в отношении классов аминокислот, и проводят скрининг продуктов.

[00149] Таблица 1. Аминокислотные замены

Исходный остаток	Типичная замена	Консервативная замена
Ala (A)	Val, Leu, Ile	Val
Arg (R)	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn (N)	Gln, His, Lys, Arg	Gln
Asp (D)	Glu	Glu
Cys (C)	Ser	Ser
Gln (Q)	Asn	Asn
Glu (E)	Asp	Asp
Gly (G)	Pro	Pro
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe, норлейцин	Leu
Leu (L)	Норлейцин, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys (K)	Arg, Gln, Asn	Arg
Met (M)	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala	Leu
Pro (P)	Gly	Gly
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr	Tyr
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val (V)	Ile, Leu, Met, Phe, Ala, норлейцин	Leu

[00150] Существенные изменения функции или иммунологической идентичности достигаются путем выбора замен, которые существенно отличаются по своему влиянию на поддержание (а) структуры полипептидного каркаса в области замены, например, в виде листовой или спиральной конформации, (b) заряда или гидрофобности молекулы в сайте-мишени и/или (с) объема боковой цепи.

Хелатообразующий фрагмент или его комплекс с металлом

Хелатообразующие фрагменты

[00151] Примеры подходящих хелатообразующих фрагментов включают, но не ограничиваются ими, DOTA (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота), DOTMA (1R,4R,7R,10R)- $\alpha,\alpha',\alpha'',\alpha'''$ -тетраметил-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота), DOTAM (1,4,7,10-тетракис(карбамоилметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан), DO3AM-уксусную кислоту (2-(4,7,10-трис(2-амино-2-оксоэтил)-

1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)уксусная кислота), DOTP (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетра(метиленфосфоновая кислота)), DOTA-4AMP (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетракис (ацетамидометиленфосфоновая кислота), NOTA (1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триуксусная кислота) и HP-DO3A (10-(2-гидроксипропил)-1,4,7-тетраазациклододекан-1,4,7-триуксусная кислота).

[00152] В некоторых вариантах осуществления хелатообразующий фрагмент представляет собой DOTA.

[00153] В некоторых вариантах осуществления хелатообразующие фрагменты можно использовать в качестве детектируемых средств, и вследствие этого, радиоиммуноконъюгаты, содержащие такие детектируемые хелатообразующие фрагменты, можно использовать в качестве диагностических или тераностических средств.

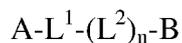
Радиоизотопы и радионуклиды

[00154] В некоторых вариантах осуществления комплекс с металлом содержит радионуклид. Примеры подходящих радионуклидов включают, но без ограничения, ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{55}Co , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{67}Cu , ^{68}Ga , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{82}Rb , ^{89}Zr , ^{86}Y , ^{87}Y , ^{90}Y , ^{97}Ru , ^{99}Tc , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}In , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{149}Pm , ^{149}Tb , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{177}Lu , $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{186}Re , ^{188}Re , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{201}Tl , ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Th и ^{229}Th .

[00155] В некоторых вариантах осуществления радионуклид представляет собой альфа-излучатель, например, астат-211 (^{211}At), висмут-212 (^{212}Bi), висмут-213 (^{213}Bi), актиний-225 (^{225}Ac), радий-223 (^{223}Ra), свинец-212 (^{212}Pb), торий-227 (^{227}Th) или тербий-149 (^{149}Tb) или продукт их распада. В некоторых вариантах осуществления альфа-излучатель представляет собой актиний-225 (^{225}Ac) или продукт его распада.

Линкер

[00156] В некоторых вариантах осуществления линкер входит в структуру формулы II, как показано ниже:



Формула II

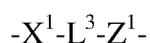
(A и B являются такими, как определено в формуле I.)

[00157] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой $\text{-L}^1\text{-(L}^2\text{)}_n\text{-}$, где:

L^1 представляет собой связь, необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил, необязательно замещенный $\text{C}_1\text{-C}_6$ гетероалкил или необязательно замещенный арил или гетероарил;

n представляет собой целое число от 1 до 5 (включительно); и

каждый L^2 , независимо имеет структуру:



Формула III,

где:

X^1 представляет собой $-C(O)NR^1-*$, $-NR^1C(O)-*$, $-C(S)NR^1-*$, $-NR^1C(S)-*$, $-OC(O)NR^1-*$, $-NR^1C(O)O-*$, $-NR^1C(O)NR^1-$, $-CH_2-Ph-C(O)NR^1-*$, $-NR^1C(O)-Ph-CH_2-*$, $-CH_2-Ph-NH-C(S)NR^1-*$, $-NR^1C(S)-NH-Ph-CH_2-*$, $-O-$ или $-NR^1-$, где «*» указывает точку присоединения к L^3 и каждый R^1 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил (например, C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный оксо, гетероарилом или их сочетанием), необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкил или необязательно замещенный арил или гетероарил;

L^3 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_{50} алкил или необязательно замещенный C_1-C_{50} гетероалкил (например, $(CH_2CH_2O)_{2-20}$); и

Z^1 представляет собой $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-OC(O)-\#$, $-C(O)O-\#$, $-NR^2C(O)-\#$, $-C(O)NR^2-\#$ или $-NR^2-$, где «#» указывает точку присоединения к B и каждый R^2 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой пирролидин-2,5-дион.

[00158] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой замещенный C_1-C_6 алкил или замещенный C_1-C_6 гетероалкил, где заместитель представляет собой гетероарильную группу (например, шестичленный азотсодержащий гетероарил). В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой C_1-C_6 алкил. Например, L^1 представляет собой $-CH_2CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой связь.

[00159] В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой $-C(O)NR^1-*$, «*» указывает точку присоединения к L^3 и R^1 представляет собой H .

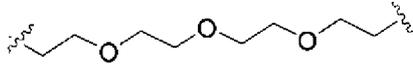
[00160] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_{50} алкил (например, C_1-C_{40} алкил, C_1-C_{30} алкил, C_1-C_{20} алкил, C_2-C_{18} алкил, C_3-C_{16} алкил, C_4-C_{14} алкил, C_5-C_{12} алкил, C_6-C_{10} алкил, C_8-C_{10} алкил или C_{10} алкил).

[00161] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_{50} гетероалкил (например, C_1-C_{40} гетероалкил, C_1-C_{30} гетероалкил, C_1-C_{20} гетероалкил, C_2-C_{18} гетероалкил, C_3-C_{16} гетероалкил, C_4-C_{14} гетероалкил, C_5-C_{12} гетероалкил, C_6-C_{10} гетероалкил, C_8-C_{10} гетероалкил, C_4 гетероалкил, C_6 гетероалкил, C_8 гетероалкил, C_{10} гетероалкил, C_{12} гетероалкил, C_{16} гетероалкил, C_{20} гетероалкил или C_{24} гетероалкил).

[00162] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_{50} гетероалкил, содержащий фрагмент полиэтиленгликоля (PEG), содержащий 1-20 оксиэтиленовых $(-O-CH_2-CH_2-)$ единиц, например, 2 оксиэтиленовые единицы (PEG2), 3 оксиэтиленовые единицы (PEG3), 4 оксиэтиленовые единицы (PEG4), 5 оксиэтиленовых единиц (PEG5), 6 оксиэтиленовых единиц (PEG6), 7 оксиэтиленовых единиц (PEG7), 8 оксиэтиленовых единиц (PEG8), 9 оксиэтиленовых единиц (PEG9), 10 оксиэтиленовых единиц (PEG10), 12 оксиэтиленовых единиц (PEG12),

14 оксиэтиленовых единиц (PEG14), 16 оксиэтиленовых единиц (PEG16) или 18 оксиэтиленовых единиц (PEG18).

[00163] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой необязательно замещенный C_{1-50} гетероалкил, содержащий фрагмент полиэтиленгликоля (PEG), содержащий 1-20 оксиэтиленовых ($-O-CH_2-CH_2-$) единиц или их частей. Например, L^3 содержит PEG3, как показано ниже:



[00164] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой $(CH_2CH_2O)_m(CH_2)_w$, каждый из m и w независимо представляет собой целое число от 0 до 10 (включительно), и по меньшей мере одно из m и w не равно 0.

[00165] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой замещенный C_1-C_{50} алкил или замещенный C_1-C_{50} гетероалкил, где заместитель представляет собой гетероарильную группу (например, шестичленный азотсодержащий гетероарил).

[00166] В некоторых вариантах осуществления A представляет собой макроциклический хелатообразующий фрагмент, включающий одну или более гетероарильных групп (например, шестичленный азотсодержащий гетероарил).

Сшивающие группы

[00167] В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгаты синтезируют с использованием бифункциональных хелатов, которые содержат хелат, линкер и сшивающую группу. После образования радиоиммуноконъюгата сшивающая группа в радиоиммуноконъюгате может отсутствовать.

[00168] В некоторых вариантах осуществления радиоиммуноконъюгаты содержат сшивающую группу вместо, или помимо, нацеленного фрагмента (например, в некоторых вариантах осуществления B в формуле I включает сшивающую группу).

[00169] Сшивающая группа представляет собой реакционноспособную группу, которая способна соединять две или более молекул ковалентной связью. Сшивающие группы могут быть использованы для присоединения линкера и хелатообразующего фрагмента к терапевтическому или нацеленному фрагменту. Сшивающие группы также могут быть использованы для присоединения линкера и хелатообразующего фрагмента к мишени *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления сшивающая группа представляет собой сшивающую группу, реагирующую с аминогруппой, реагирующую с метионином или реагирующую с тиолом, или содержит последовательность узнавания сортазы. В некоторых вариантах осуществления реагирующая с аминогруппой или реагирующая с тиолом сшивающая группа содержит активированный сложный эфир, такой как сложный эфир гидроксисукцинимид, сложный эфир 2,3,5,6-тетрафторфенола, сложный эфир или имидат 4-нитрофенола, ангидрид, тиол, дисульфид, малеимид, азид, алкин, напряженный алкин, напряженный алкен, галоген, сульфонат, галогенацетил, амин, гидразид, диазиридин, фосфин, тетразин, изотиоцианат или оксазиридин. В некоторых вариантах осуществления последовательность узнавания сортазы может содержать концевую аминокислотную

последовательность глицин-глицин-глицин (GGG) и/или LPTXG, где X представляет собой любую аминокислоту. Специалист в данной области поймет, что используемые сшивающие группы не ограничиваются конкретными конструкциями, раскрытыми в настоящем документе, а скорее могут включать и другие известные сшивающие группы.

Фармацевтические композиции

[00170] Фармацевтические композиции, содержащие радиоиммуноконъюгаты для использования в способах, раскрытых в настоящем документе, могут быть составлены для использования в различных системах доставки лекарственных средств. Один или более физиологически приемлемых эксципиентов или носителей также могут быть включены в фармацевтическую композицию для получения надлежащего препарата. Неограничивающие примеры подходящих препаратов, которые могут быть использованы по настоящему изобретению, включают те, которые описаны в сборнике Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, PA, 17-е издание, 1985 г. Краткий обзор способов доставки лекарственных средств смотри, например, в публикации Langer (Science. 249:1527-1533, 1990).

[00171] Фармацевтические композиции могут быть составлены для любого из множества путей введения, описанных в настоящем документе (смотри, например, подраздел «Введение и дозы» в настоящем документе). Предусмотрено введение с пролонгированным высвобождением с помощью таких средств, как депо-инъекции или разрушаемые имплантаты или компоненты. Таким образом, настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим средства, раскрытые в настоящем документе (например, радиоиммуноконъюгаты), растворенные или суспендированные в приемлемом носителе, предпочтительно водном носителе, например воде, буферизованной воде, физиологическом растворе или PBS, в числе прочего. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества для обеспечения приближенности к физиологическим условиям, такие как средства, регулирующие pH, и буферные средства, средства, регулирующие тоничность, смачивающие вещества или детергенты, в числе прочего. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции составлены для пероральной доставки и могут, необязательно, содержать инертные ингредиенты, такие как связывающие вещества или наполнители, для изготовления стандартной лекарственной формы, такой как таблетка или капсула. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции составлены для местного введения и могут, необязательно, содержать инертные ингредиенты, такие как растворители или эмульгаторы, для изготовления крема, мази, геля, пасты или глазных капель.

[00172] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции стерилизованы обычными методами стерилизации, например, они могут быть подвергнуты стерилизации фильтрованием. Полученные водные растворы могут быть упакованы для использования «как есть» или лиофилизированы. Лيوфилизированные

препараты могут, например, быть объединены со стерильным водным носителем перед введением. рН препаратов, как правило, составляет от 3 до 11, более предпочтительно от 5 до 9 или от 6 до 8 и наиболее предпочтительно от 6 до 7, например от 6 до 6,5. Полученные композиции в твердой форме могут быть упакованы, например, в виде нескольких единиц стандартной дозы, каждая из которых содержит фиксированное количество вышеупомянутого средства или средств, например, в виде запечатанной упаковки таблеток или капсул. Фармацевтические композиции в твердой форме также могут быть упакованы в контейнер для гибкого количества, например, в сжимаемый тубик, предназначенный для крема или мази местного применения.

[00173] Следующие далее конкретные примеры следует рассматривать исключительно как иллюстративные, а не ограничивающие остальную часть изобретения каким-либо образом.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Общие материалы и методы

[00174] Лютеций-177 может быть получен от компании Perkin Elmer в виде трихлорида лютеция в 0,05 н растворе соляной кислоты; индий-111 в виде трихлоридной соли может быть получен от компании Nordion; и актиний-225 может быть получен в виде тринитрата актиния-225 от компании Oak Ridge National Laboratories или трихлорида актиния-225 от компании Canadian Nuclear Laboratories.

[00175] Аналитическая ВЭЖХ-МС может быть выполнена с использованием системы ВЭЖХ-МС Waters Acquity, состоящей из диспетчера бинарных растворителей Waters Acquity, диспетчера образцов Waters Acquity (образцы охлаждаются до 10°C), диспетчера колонок Water Acquity (температура колонки 30°C), матричного фотодиодного детектора Waters Acquity (мониторинг при 254 нм и 214 нм), Waters Acquity TQD с ионизацией электрораспылением и колонки Waters Acquity VEN C18, 2,1×50 (1,7 мкм). Препаративную ВЭЖХ можно проводить с использованием системы ВЭЖХ Waters, состоящей из насоса для бинарной ВЭЖХ Waters 1525, детектора УФ/видимого света Waters 2489 (мониторинг при 254 нм и 214 нм) и колонки Waters XBridge Prep Phenyl или C18 19×100 мм (5 мкм).

[00176] Метод элюирования ВЭЖХ 1: колонка Waters Acquity VEN C18 2,1×50 мм (1,7 мкм); подвижная фаза А: Н₂О (0,1% об/об TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1% об/об TFA); скорость потока=0,3 мл/мин; исходно=90% А, 3-3,5 мин=0% А, 4 мин=90% А, 5 мин=90% А.

[00177] Метод элюирования ВЭЖХ 2: колонка Waters XBridge Prep Phenyl 19×100 мм (5 мкм); подвижная фаза А: Н₂О (0,1% об/об TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1% об/об TFA); скорость потока: 10 мл/мин; исходно=80% А, 13 мин=0% А.

[00178] Метод элюирования ВЭЖХ 3: колонка Waters Acquity VEN C18 2,1×50 мм (1,7 мкм); подвижная фаза А: Н₂О (0,1% об/об TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1% об/об TFA); скорость потока=0,3 мл/мин; исходно=90% А, 8 мин=0% А, 10 мин=0% А, 11 мин=90% А, 12 мин=90% А.

[00179] Метод элюирования ВЭЖХ 4: колонка Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100 мм (5 мкм); подвижная фаза А: H₂O (0,1% об/об TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1% об/об TFA); скорость потока: 10 мл/мин; исходно=80% А, 3 мин=80% А, 13 мин=20% А, 18 мин=0% А.

[00180] Метод элюирования ВЭЖХ 5: колонка Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100 мм (5 мкм); подвижная фаза А: H₂O (0,1% об/об TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1% об/об TFA); скорость потока: 10 мл/мин; исходно=90% А, 3 мин=90% А, 13 мин=0% А, 20 мин=0% А.

[00181] Метод элюирования ВЭЖХ 6: колонка Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100 мм (5 мкм); подвижная фаза А: H₂O (0,1% об/об TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1% об/об TFA); скорость потока: 10 мл/мин; исходно=75% А, 13 мин=0% А, 15 мин=0% А.

[00182] Метод элюирования ВЭЖХ 7: колонка Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100 мм (5 мкм); подвижная фаза А: H₂O (0,1% об/об TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1% об/об TFA); скорость потока: 10 мл/мин; исходно=80% А, 12 мин=0% А, 15 мин=0% А.

[00183] Метод элюирования ВЭЖХ 8: колонка Waters XBridge Prep C18 OBD 19×100 мм (5 мкм); подвижная фаза А: H₂O (0,1% об/об TFA); подвижная фаза В: ацетонитрил (0,1% об/об TFA); скорость потока: 10 мл/мин; исходно=90% А, 12 мин=0% А, 15 мин=0% А.

[00184] Аналитическая эксклюзионная хроматография (ЭХ) может быть выполнена с использованием системы Waters, состоящей из насоса для бинарной ВЭЖХ Waters 1525, детектора УФ/видимого света Waters 2489 (мониторинг при 280 нм), детектора радиоактивности Bioscan Flow Count (FC-3300) и колонки TOSOH TSK gel G3000SWx1, 7,8×300 мм. В изократическом методе ЭХ можно использовать скорость потока, например мл/мин, с подвижной фазой, состоящей из 0,1 М фосфата, 0,6 М NaCl, 0,025% азида натрия, pH=7.

[00185] МАЛДИ-МС (режим положительных ионов) можно выполнять с использованием МАЛДИ спектрометра Bruker Ultraflexreme.

[00186] Радиотонкослойную хроматографию (радиоТСХ) можно проводить с помощью сканера изображений Bioscan AR-2000 и на пластинах для хроматографии из стеклянного микроволокна iTLC-SG (Agilent Technologies, SGI0001) с использованием цитратного буфера (0,1 М, pH 5,5).

Пример 2. Синтез 4-{{11-оксо-11-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)ундецил}карбамоил}-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (соединение В)

[00187] Бифункциональный хелат, 4-{{11-оксо-11-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)ундецил}карбамоил}-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановая кислота (соединение В), может быть синтезирован по схеме, представленной на Фиг. 2. К раствору 5-(трет-бутокси)-5-оксо-4-(4,7,10-трис(2-

(трет-бутокси)-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)пентановой кислоты (DOTA-GA-(tBu)₄, 50 мг, 0,07 ммоль) в ACN (2,0 мл), добавляют DSC (50 мг, 0,21 ммоль), а затем пиридин (0,20 мл, 2,48 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 1 часа. К реакционной смеси добавляют 11-аминоундекановую кислоту (70 мг, 0,36 ммоль), а затем раствор PBS (1,0 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 72 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтруют с помощью шприцевого фильтра и очищают непосредственно препаративной ВЭЖХ, используя метод 6, с получением промежуточного соединения 2-А.

[00188] К раствору промежуточного соединения 2-А (40 мг, 0,03 ммоль), TFP (90 мг, 0,54 ммоль) и EDC (40 мг, 0,27 ммоль) в ACN (1,0 мл) добавляют пиридин (0,05 мл, 50 мг, 0,62 ммоль) при комнатной температуре. Раствор перемешивают при комнатной температуре в течение 24 часов. Реакционную смесь очищают непосредственно методом препаративной ВЭЖХ, используя метод 7, с получением промежуточного соединения 2-В в виде воска после концентрирования с использованием быстрого испарителя Biotage V10.

[00189] Промежуточное соединение 2-В растворяют в смеси DCM/TFA (1,0 мл/2,0 мл) и оставляют перемешиваться при комнатной температуре в течение 24 часов. Реакционную смесь концентрируют потоком воздуха и очищают непосредственно препаративной ВЭЖХ, используя метод 8, с получением соединения В в виде прозрачного воска после концентрирования. Аликвоту анализируют методом элюирования ВЭЖХ-МС 3.

[00190] ¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-*d*₆) δ 7,99-7,88 (м, 1H), 7,82 (т, *J*=5,5 Гц, 1H), 3,78 (уш. с, 4H), 3,43 (уш. с, 12H), 3,08 (уш. с, 4H), 3,00 (м, 3H), 2,93 (уш. с, 3H), 2,77 (т, *J*=7,2 Гц, 2H), 2,30 (уш. с, 2H), 1,88 (уш. с, 2H), 1,66 (п, *J*=7,3 Гц, 2H), 1,36 (м, 4H), 1,32-1,20 (м, 9H).

Пример 3. Синтез 4-{{2-(2-{2-[3-оксо-3-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пропокси}этокси}этокси)этил]карбамоил}-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановой кислоты (соединение С)

[00191] Бифункциональный хелат, 4-{{2-(2-{2-[3-оксо-3-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пропокси}этокси}этокси)этил]карбамоил}-2-[4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил]бутановую кислоту (соединение С), синтезируют по схеме, представленной на Фиг. 3.

[00192] К раствору 5-(трет-бутокси)-5-оксо-4-(4,7,10-трис(2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)пентановой кислоты (DOTA-GA(tBu)₄, 100 мг, 0,143 ммоль) в ACN (8,0 мл) добавляют DSC (73 мг, 0,285 ммоль) и пиридин (0,80 мл, 9,89 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 90 мин при температуре окружающей среды. Этот раствор добавляют к полураствору аминокислоты (63 мг, 0,285 ммоль в 1,2 мл DMF) в круглодонной колбе емкостью 100 мл. Через 4 часа при температуре окружающей среды реакционную смесь концентрируют досуха в потоке

воздуха. Неочищенный материал очищают методом элюирования ВЭЖХ 2 (неочищенный материал растворяют в 6 мл 20% ACN/H₂O). Фракции, содержащие продукт, объединяют и концентрируют в вакууме, а затем выпаривают совместно с ACN (3 x 2 мл).

[00193] Во флакон, содержащий промежуточное соединение 1-А (82 мг, 60 мкмоль), добавляют ACN (2 мл), NEt₃ (50 мкл, 360 мкмоль, 6 экв.), HBTU (23 мг, 60 мкмоль, 1 экв.) и раствор TFP (50 мг, 300 мкмоль, 5 экв., растворенный в 250 мкл ACN). Полученный прозрачный раствор перемешивают при температуре окружающей среды в течение 3 часов. Реакционную смесь концентрируют досуха в потоке воздуха, затем разбавляют смесью ACN/H₂O (1:1, всего 3 мл) и очищают препаративной ВЭЖХ, используя метод элюирования 4. Фракции, содержащие продукт, объединяют и концентрируют в вакууме, а затем совместно выпаривают с ACN (3 x 2 мл). Промежуточное соединение 1-В получают в виде прозрачного осадка.

[00194] Во флакон, содержащий промежуточное соединение 1-В (67 мг, 64 мкмоль), добавляют DCM (2 мл) и TFA (2 мл). Полученный раствор перемешивают при температуре окружающей среды в течение 16 часов. Дополнительно добавляют TFA (2 мл), и реакционную смесь перемешивают при температуре окружающей среды в течение 6 часов. Реакционную смесь концентрируют досуха в потоке воздуха, и в завершение неочищенный продукт растворяют в смеси ACN/H₂O (1 мл 10% ACN/H₂O). Неочищенный реакционный раствор затем очищают препаративной ВЭЖХ, используя метод элюирования 5. Фракции, содержащие продукт, объединяют, замораживают и лиофилизируют. Соединение С получают в виде белого твердого вещества. Аликвоту анализируют ВЭЖХ-МС, используя метод элюирования 3.

[00195] ¹H ЯМР (DMSO-*d*₆, 600 МГц) δ 7,97-7,91 (м, 2H), 3,77 (т, 2H, J=6,0 Гц), 3,58-3,55 (м, 2H), 3,53-3,48 (м, 8H), 3,44-3,38 (м, 10H), 3,23-3,08 (м, 11H), 3,02 (т, 2H, J=6,0 Гц), 2,93 (уш. с, 4H), 2,30 (уш. с, 2H), 1,87 (уш. с, 2H).

Пример 4. Синтез радиоиммуноконъюгатов, нацеленных на IGF-1R

[00196] На Фиг. 4 представлены стадии синтеза двух радиоиммуноконъюгатов, нацеленных на IGF-1R, а именно, конъюгата [¹¹¹In]-DOTA-анти-IGF-1R и конъюгата [²²⁵Ac]-DOTA-анти-IGF-1R. Синтез проводили в соответствии с протоколами, приведенными ниже.

Конъюгат [¹¹¹In]-соединение С-анти-IGF-1R

[00197] Соединение С (17,5 мкмоль) растворяли в натрий-ацетатном буфере (1,32 мл, pH 6,5). Аликвоту раствора соединения С (8 мкл, 91 нмоль) добавляли к раствору, содержащему анти-IGF-1R антитело (13,4 нмоль) в бикарбонатном буфере (pH 8,5). Через 1 час при температуре окружающей среды полученный иммуноконъюгат очищали на колонке со смолой Sephadex G-50. Иммуноконъюгат соединения С-анти-IGF-1R элюировали с колонки ацетатным буфером (pH 6,5). МАЛДИ-ВП-МС (режим положительных ионов): соединение С-анти-IGF-1R обнаружено m/z 152166 [M+H]⁺; IGF-1R обнаружено m/z 149724 [M+H]⁺.

[00198] В качестве типичной реакции In-111 (60 мКи, 215 мкл) добавляли к раствору соединения С-анти-IGF-1R (7 мг, 1,6 мл в ацетатном буфере (рН 6,5)) и аскорбиновой кислоты (100 мкл, 0,2 М в ацетатном буфере (рН 6,5)). Реакционную смесь для радиоактивного мечения инкубировали при 37°C в течение 30 минут. Конъюгат [¹¹¹In]-соединение С-анти-IGF-1R очищали на колонке со смолой Sephadex G-50, элюируя ацетатным буфером (рН 6,5, 1 мМ аскорбиновая кислота).

Конъюгат [²²⁵Ac]-соединение С-анти-IGF-1R

[00199] Соединение С (1 мкмоль) растворяют в растворе соляной кислоты (0,001 М). Аликвоту раствора соединения С (5 мкл, 70 нмоль) добавляют к раствору, содержащему анти-IGF-1R антитело (1,8 нмоль) в фосфатном буфере (рН 8). Через 3 часа при комнатной температуре полученный иммуноконъюгат очищают на колонке со смолой Sephadex G-50. Иммуноконъюгат соединения С-анти-IGF-1R элюируют с колонки ацетатным буфером (рН 6,5). Идентичность элюатов может быть подтверждена, например, методом МАЛДИ-ВП. Ас-225 (15 мКи, 10 мкл) добавляют к раствору соединения С-анти-IGF-1R (300 мкг в ацетатном буфере (рН 6,5)). Реакционную смесь для радиоактивного мечения инкубируют при 30°C в течение 1 часа. Неочищенный продукт, [²²⁵Ac]-соединение С-анти-IGF-1R, очищают на колонке со смолой Sephadex G-50, элюируя ацетатным буфером.

Пример 5. Визуализация и фармакокинетика IGF-1R-нацеленных радиоиммуноконъюгатов с предварительным введением холодного анти-IGF-1R антитела

[00200] Было проведено исследование для оценки визуализации и фармакокинетики у пациентов, которым предварительно вводили холодное анти-IGF-1R антитело перед введением конъюгата [¹¹¹In]-DOTA-анти-IGF-1R. Исследование проводили в соответствии с протоколами, приведенными ниже.

[00201] Пять пациентов были оценены в исследовании с предварительным введением холодного антитела при двух разных уровнях доз холодного антитела. Пациентам сначала проводили визуализацию и брали образцы для фармакокинетического анализа после получения ими фиксированной дозы 5 мКи конъюгата [¹¹¹In]-DOTA-анти-IGF-1R (режим «без холодного антитела»), а затем пациенты получали ту же дозу 5 мКи конъюгата визуализирующего средства [¹¹¹In]-DOTA-анти-IGF-1R и 0,5 или 1,5 мг/кг нерадиоактивного анти-IGF-1R антитела AVE1642 (режим дозирования «с холодным антителом»), с последующей визуализацией и фармакокинетической оценкой. У четырех пациентов было достаточно данных с предварительным введением, и без введения, холодного антитела для оценки доз радиации конъюгата [¹¹¹In]-DOTA-анти-IGF-1R во всем теле, в печени, селезенке, красном костном мозге и почках. Один пациент не смог выполнить все временные точки визуализации, необходимые для дозиметрии. Все пять пациентов были оценены для сравнения поглощения лезией, при этом у каждого пациента были отобраны и сравнены до трех образцов из лезий и фоновые образцы из печени, мышц, красного костного мозга и всего тела. У всех пяти пациентов также оценивали

фармакокинетику конъюгата [^{111}In]-DOTA-анти-IGF-1R в плазме, измеряемую по общей радиоактивности.

[00202] Было отмечено, что предварительное введение холодного антитела перед режимом дозирования конъюгата [^{111}In]-DOTA-анти-IGF-1R оказывало значительное влияние на фармакокинетику конъюгата [^{111}In]-DOTA-анти-IGF-1R в плазме у все пяти пациентов. Смотри Фиг. 5. У каждого пациента клиренс конъюгата [^{111}In]-DOTA-анти-IGF-1R был заметно снижен в режиме дозирования с холодным антителом при дозе как 0,5, так и 1,5 мг/кг. Фармакокинетика конъюгата [^{111}In]-DOTA-анти-IGF-1R при каждом уровне дозы анти-IGF-1R антитела AVE1642 (то есть, 0,5 или 1,5 мг/кг) была сопоставимой, это позволяет предположить, что дозы, равные или превышающие 0,5 мг/кг, являются достаточными для насыщения эндогенного стока антигена и достижения линейной фармакокинетики. В среднем для пяти оцениваемых пациентов предварительное введение анти-IGF-1R антитела AVE1642 в режиме дозирования увеличивало общую экспозицию (AUC_{inf}) конъюгата [^{111}In]-DOTA-анти-IGF-1R в 6 раз по сравнению с введением только конъюгата [^{111}In]-DOTA-анти-IGF-1R. Смотри Таблицу 2 ниже.

Таблица 2. Фармакокинетика IGF-1R-нацеленных радиоиммуноконъюгатов с предварительным введением/без введения холодного анти-IGF-1R антитела

Фармакокинетические параметры							
		Только [^{111}In]-DOTA-анти-IGF-1R			[^{111}In]-DOTA-анти-IGF-1R+AVE1642		
Пациент	Уровень дозы AVE1642	C_{max} (нг-экв/мл)	AUC_{inf} (нг-экв*час/мл)	$T_{1/2}$ (час)	C_{max} (нг-экв/мл)	AUC_{inf} (нг-экв*час/мл)	$T_{1/2}$ (час)
1	0,5 мг/кг	595	18600	39,4	806	61300	69,3
2	0,5 мг/кг	535	13900	44,7	670	103000	121
3	1,5 мг/кг	323	2840	20,5	356	20300	28,1
4	1,5 мг/кг	568	13400	39,6	733	106000	115
5	1,5 мг/кг	754	14500	39,6	896	48400	38,7

[00203] Среди пяти пациентов визуализирующее исследование показало, что при дозе холодного антитела 0,5 мг/кг доза радиации во всем теле, почках и красном костном мозге увеличивалась с добавлением холодного антитела, тогда как доза радиации в печени уменьшалась у одного пациента и оставалась примерно одинаковой у другого пациента. Доза радиации в селезенке снижалась у обоих пациентов. При уровне дозы холодного антитела 1,5 мг/кг доза радиации во всем теле, почках, печени и красном костном мозге увеличивалась. При этом уровне дозы имел место неоднозначный результат для селезенки: у одного пациента наблюдалось небольшое увеличение, тогда как у другого

наблюдалось снижение дозы радиации при добавлении холодного антитела. Смотри Фиг. 6А-6Е.

[00204] Кроме того, соотношение поглощения опухолью и фонового поглощения увеличивалось у каждого пациента при уровне дозы холодного антитела 0,5 мг/кг и 1,5 мг/кг. Было отмечено, что относительное увеличение поглощения опухолью было выше у пациентов, получавших 0,5 мг/кг (n=2), чем у пациентов, получавших 1,5 мг/кг (n=3). Это исследование продемонстрировало, что предварительное введение холодного анти-IGF-1R антитела увеличивает поглощение опухолевыми образованиями радиоиммуноконъюгата, нацеленного на IGF-1R, у всех пациентов. Смотри Фиг. 7А-7Е.

Пример 6. Эффективность IGF-1R-нацеленных радиоиммуноконъюгатов при предварительном введении холодного анти-IGF-1R антитела

[00205] Вышеуказанные результаты показывают, что предварительное введение холодного анти-IGF-1R антитела AVE1642 в дозе 0,5 мг/кг перед введением конъюгата [²²⁵Ac]-DOTA-анти-IGF-1R должно улучшать поглощение соединения, что приводит к большему накоплению радиации в опухолях по сравнению с нормальными тканями, за счет чего, вероятно, повышается эффективность и снижается нецелевая токсичность.

[00206] Кроме того, на основе изображений и фармакокинетических данных, приведенных выше, прогнозируемый диапазон терапевтической эффективности конъюгата [²²⁵Ac]-DOTA-анти-IGF-1R можно экстраполировать из доклинических данных по эффективности в отношении ксенотрансплантата мыши, как показано ниже: без холодного антитела ожидается, что конъюгат [²²⁵Ac]-DOTA-анти-IGF-1R будет обеспечивать радиоактивность в диапазоне кумулятивного воздействия 80-160 кБк/кг, тогда как при предварительном введении холодного анти-IGF-1R антитела ожидается, что конъюгат [²²⁵Ac]-DOTA-анти-IGF-1R будет обеспечивать радиоактивность в диапазоне кумулятивного воздействия 35-70 кБк/кг. Соответственно, при предварительном введении холодного анти-IGF-1R антитела (AVE1642) в дозе 0,5 мг/кг конъюгат [²²⁵Ac]-DOTA-анти-IGF-1R можно вводить в дозе 15 кБк/кг, 20 кБк/кг, 25 кБк/кг, 30 кБк/кг или 35 кБк/кг для достижения терапевтической эффективности.

ДРУГИЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[00207] Хотя изобретение было описано в связи с его конкретными вариантами осуществления, следует понимать, что оно допускает дальнейшие модификации, и настоящая заявка должна охватывать любые вариации, применения или адаптации изобретения, в целом соответствующие принципам изобретения, включая такие отклонения от настоящего описания, которые находятся в рамках известной или обычной практики в области, к которой относится изобретение, и которые могут быть применены к существенным признакам, изложенным выше в настоящем документе.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения пациента, страдающего раком, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту эффективного количества радиоиммуноконъюгата или его фармацевтически приемлемой соли,

где радиоиммуноконъюгат имеет следующую структуру:

A-L-B

Формула I,

где

A представляет собой комплекс с металлом хелатообразующего фрагмента,

B представляет собой нацеленный на рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1R) фрагмент и

L представляет собой линкер,

и где пациенту совместно вводят холодную IGF-1R-нацеленную молекулу.

2. Способ по п. 1, где B представляет собой антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, способное связываться с IGF-1R, и холодная IGF-1R-нацеленная молекула представляет собой холодное анти-IGF-1R антитело или его IGF-1R-связывающий фрагмент.

3. Способ по п. 2, где холодное анти-IGF-1R антитело предварительно вводят пациенту.

4. Способ по п. 3, где холодное анти-IGF-1R антитело предварительно вводят в дозе от 0,1 мг/кг до 10 мг/кг в зависимости от массы тела пациента.

5. Способ по п. 4, где холодное анти-IGF-1R антитело предварительно вводят в дозе от 0,5 мг/кг до 3 мг/кг в зависимости от массы тела пациента.

6. Способ по любому из пунктов 1-5, где радиоиммуноконъюгат вводят в дозе 10-100 кБк/кг массы тела указанного пациента.

7. Способ по любому из пунктов 1-6, где радиоиммуноконъюгат вводят в дозе 15-80 кБк/кг массы тела указанного пациента.

8. Способ по любому из пунктов 1-7, где радиоиммуноконъюгат вводят с кумулятивной экспозицией 20-300 кБк/кг массы тела указанного пациента.

9. Способ по любому из пунктов 1-8, где радиоиммуноконъюгат вводят с кумулятивной экспозицией 35-70 кБк/кг массы тела указанного пациента.

10. Способ по п. 1, где L имеет структуру $L^1-(L^2)_n$, представленную в формуле II:

$A-L^1-(L^2)_n-B$

Формула II,

где

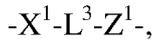
A представляет собой комплекс с металлом хелатообразующего фрагмента;

B представляет собой антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, способное связываться с IGF-1R;

L^1 представляет собой связь, C=O, C=S, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкил или необязательно замещенный арил или

гетероарил;

n представляет собой целое число от 1 до 5 (включительно); и каждый L^2 независимо имеет структуру:



где

X^1 представляет собой $-C(O)NR^1-*$, $-NR^1C(O)-*$, $-C(S)NR^1-*$, $-NR^1C(S)-*$, $-OC(O)NR^1-*$, $-NR^1C(O)O-*$, $-NR^1C(O)NR^1-$, $-CH_2-Ph-C(O)NR^1-*$, $-NR^1C(O)-Ph-CH_2-*$, $-CH_2-Ph-NH-C(S)NR^1-*$, $-NR^1C(S)-NH-Ph-CH_2-*$, $-O-$ или $-NR^1-$, где «*» указывает точку присоединения к L^3 и каждый R^1 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкил или необязательно замещенный арил или гетероарил;

L^3 представляет собой необязательно замещенный C_1-C_{50} алкил или необязательно замещенный C_1-C_{50} гетероалкил; и

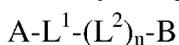
Z^1 представляет собой $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-OC(O)-\#$, $-C(O)O-\#$, $-NR^2C(O)-\#$, $-C(O)NR^2-\#$ или $-NR^2-$, где «#» указывает точку присоединения к В и каждый R^2 независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил.

11. Способ по п. 10, где L^3 представляет собой $(CH_2CH_2O)_{2-20}$ или $(CH_2CH_2O)_{2-20}-C_1-C_6$ алкил.

12. Способ по любому из пунктов 1-11, где хелатообразующий фрагмент выбран из группы, состоящей из DOTA (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота), DOTMA (1R,4R,7R,10R)- $\alpha,\alpha',\alpha'',\alpha'''$ -тетраметил-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота), DOTAM (1,4,7,10-тетракис(карбамоилметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан), DO3AM-уксусной кислоты (2-(4,7,10-трис(2-амино-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)уксусная кислота), DOTP (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетра(метиленфосфоновая кислота)), DOTA-4AMP (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетракис(ацетамидометиленфосфоновая кислота), NOTA (1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триуксусная кислота) и HP-DO3A (10-(2-гидроксипропил)-1,4,7-тетраазациклододекан-1,4,7-триуксусная кислота).

13. Способ по любому из пунктов 1-12, где комплекс с металлом содержит радионуклид, выбранный из группы, состоящей из ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{55}Co , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{82}Rb , ^{86}Y , ^{87}Y , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{97}Ru , ^{99}Tc , ^{99m}Tc , ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}In , ^{117m}Sn , ^{149}Pm , ^{149}Tb , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{201}Tl , ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Th и ^{229}Th .

14. Способ по любому из пунктов 1-13, где L имеет структуру $-L^1-(L^2)_n-$, представленную в формуле II:



Формула II,

где:

A представляет собой комплекс с металлом DOTA;

B представляет собой антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, способное связываться с IGF-1R;

L^1 представляет собой связь или C_1 - C_6 алкил;

n равно 1; и

L^2 имеет структуру:

$-X^1-L^3-Z^1-$,

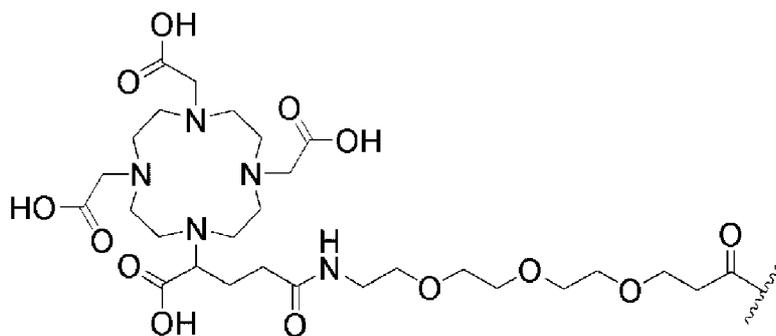
где:

X^1 представляет собой $-C(O)NR^{1-*}$, «*» указывает точку присоединения к L^3 и R^1 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил;

L^3 представляет собой $(CH_2CH_2O)_m(CH_2)_w$, m и w независимо представляют собой целое число от 0 до 10 (включительно) и по меньшей мере одно из m и w не равно 0; и

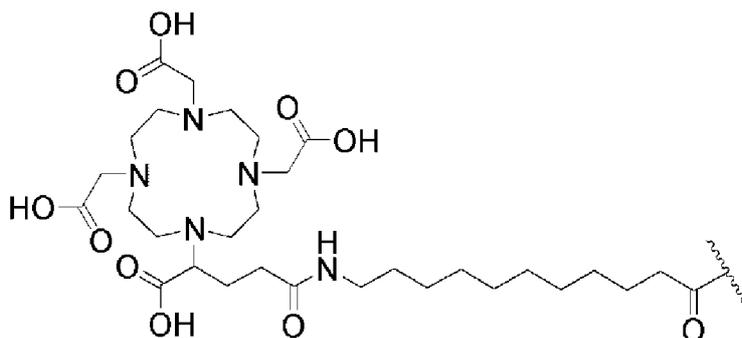
Z^1 представляет собой $-C(O)-$.

15. Способ по п. 1, где A-L- представляет собой комплекс с металлом фрагмента, выбранного из группы, состоящей из:



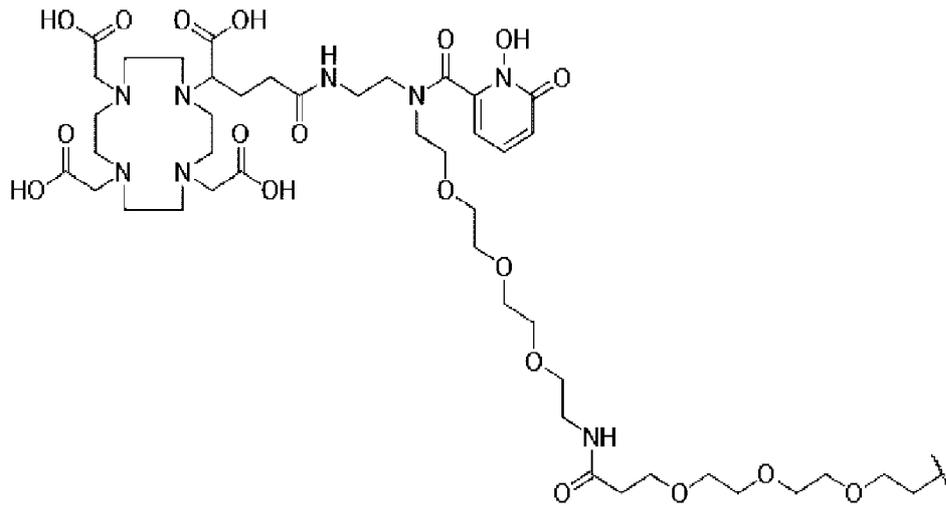
(i)

(Фрагмент 1),

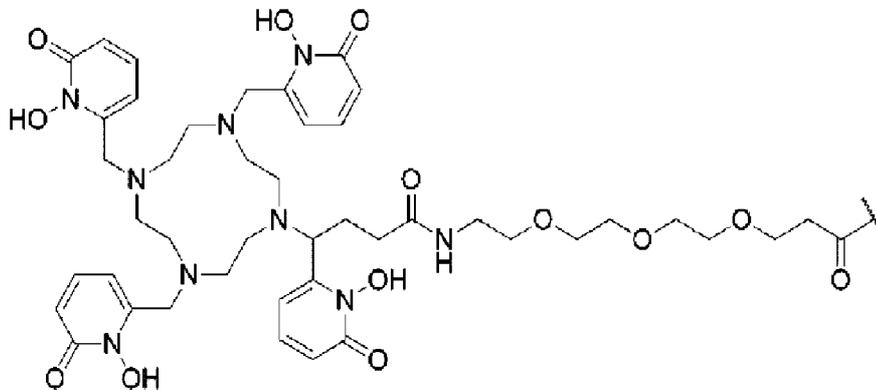


(ii)

(Фрагмент 2),



(iii)

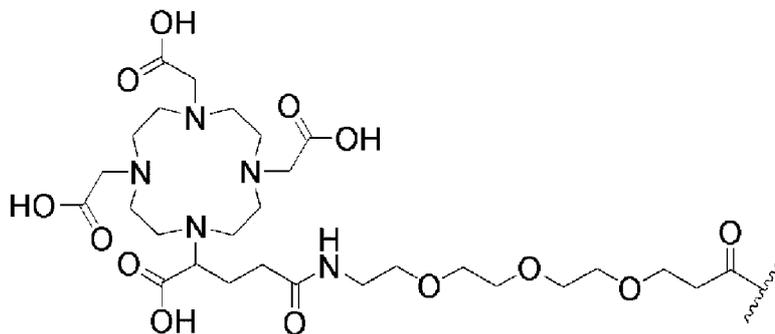
(Фрагмент 3) и

(iv)

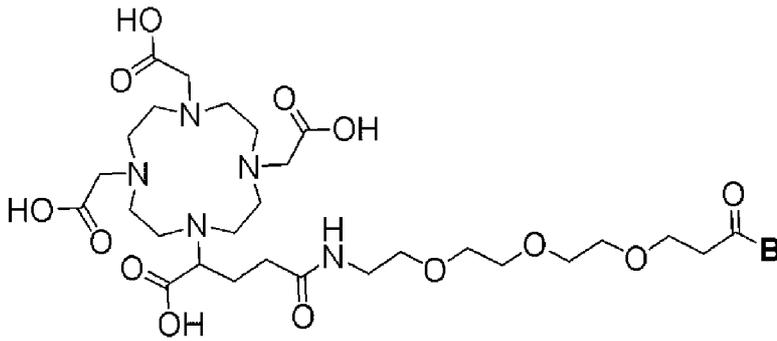
(Фрагмент 4).

16. Способ по п. 15, где A-L- представляет собой комплекс с металлом фрагмента

1:

**(Фрагмент 1).**

17. Способ по любому из пунктов 1-16, где радиоиммуноконъюгат имеет следующую структуру:



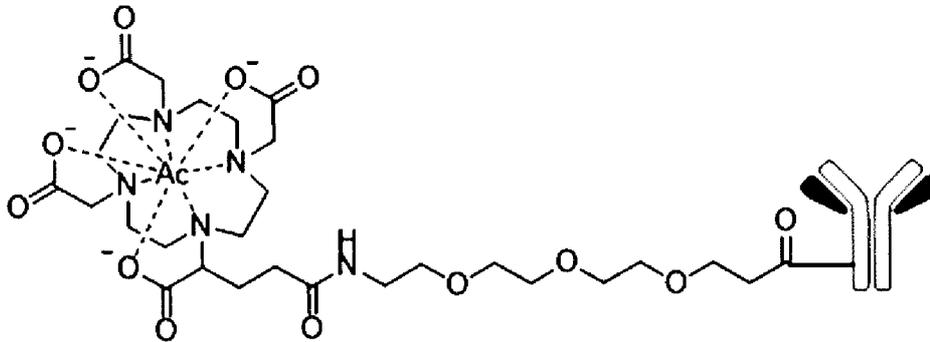
где В представляет собой антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, способное связываться с IGF-1R.

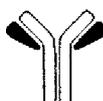
18. Способ по любому из пунктов 1-17, где комплекс с металлом содержит альфа-излучатель.

19. Способ по п. 18, где альфа-излучатель выбран из группы, состоящей из астата-211 (^{211}At), висмута-212 (^{212}Bi), висмута-213 (^{213}Bi), актиния-225 (^{225}Ac), радия-223 (^{223}Ra), свинца-212 (^{212}Pb), тория-227 (^{227}Th) и тербия-149 (^{149}Tb) или продуктов их распада.

20. Способ по п. 19, где комплекс с металлом содержит ^{225}Ac или продукт его распада.

21. Способ по любому из пунктов 1-20, где радиоиммуноконъюгат имеет следующую структуру:



где  представляет собой AVE1642.

22. Способ по любому из пунктов 1-21, где холодная IGF-1R-нацеленная молекула представляет собой AVE1642 или его IGF-1R-связывающий фрагмент.

23. Способ по любому из пунктов 1-22, где рак представляет собой солидную раковую опухоль.

24. Способ по п. 23, где солидная раковая опухоль выбрана из группы, состоящей из аденокарциномы эндометрия, саркомы Юинга, карциномы желчного пузыря, глиомы, рака головы и шеи, рака печени, рака легкого, нейробластомы, нейроэндокринного рака, рака яичников, рака поджелудочной железы,

рака предстательной железы, почечно-клеточного рака, аденоидного кистозного рака слюнной железы, сперматоцитарной семиномы и увеальной меланомы.

По доверенности

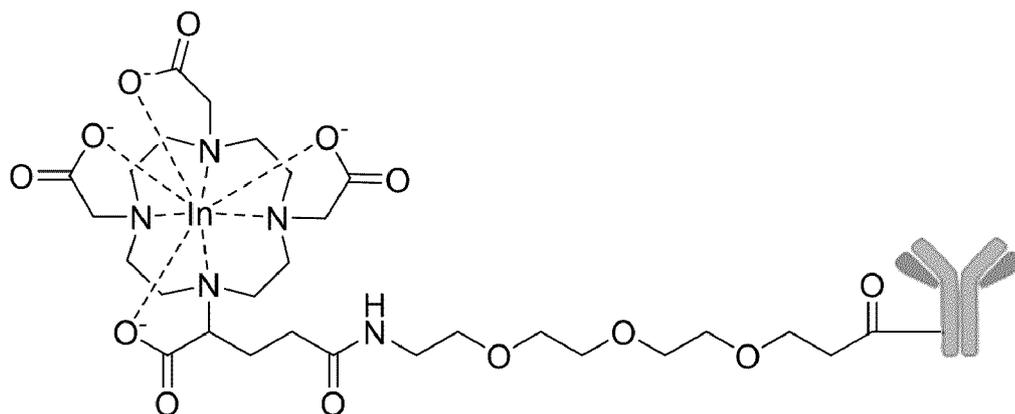
ФИГ.1А



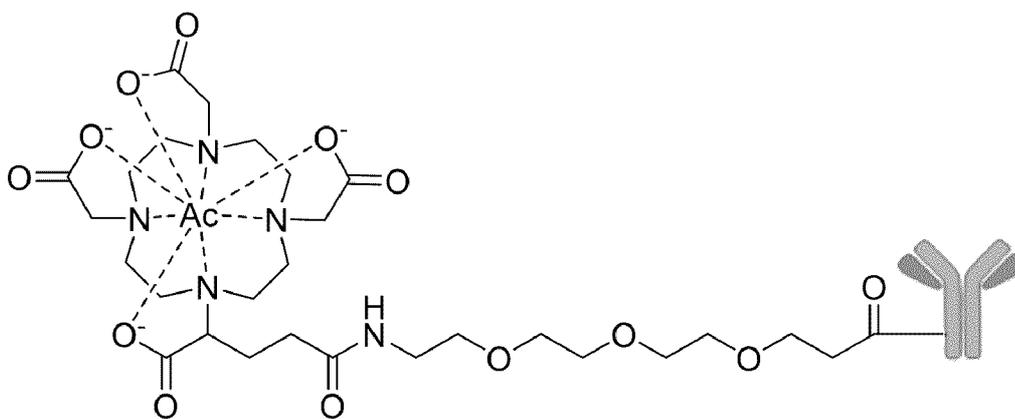
ФИГ.1В



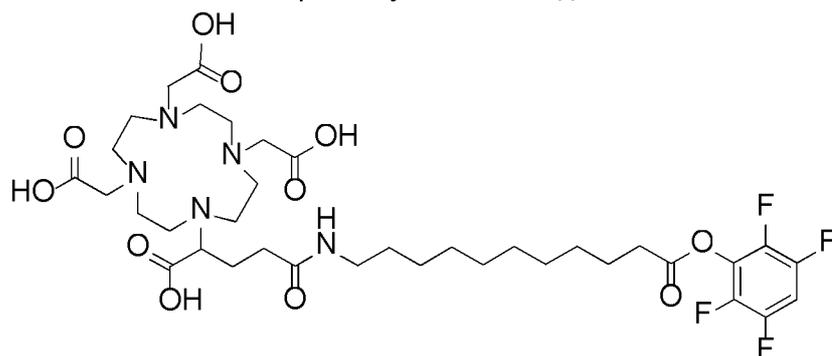
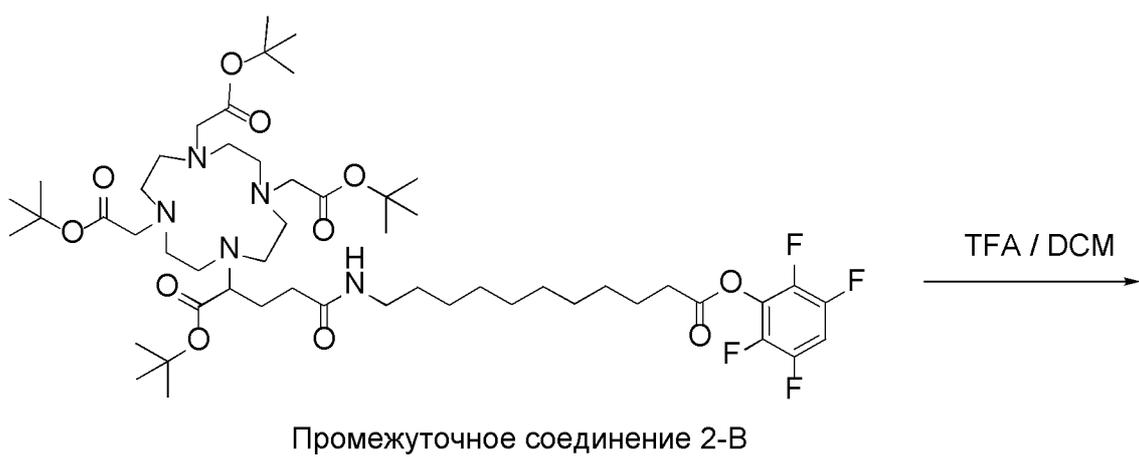
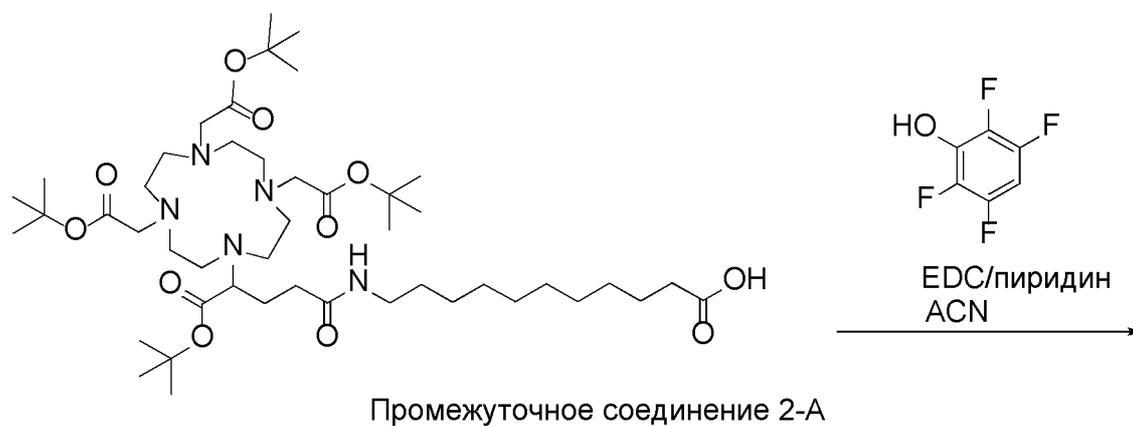
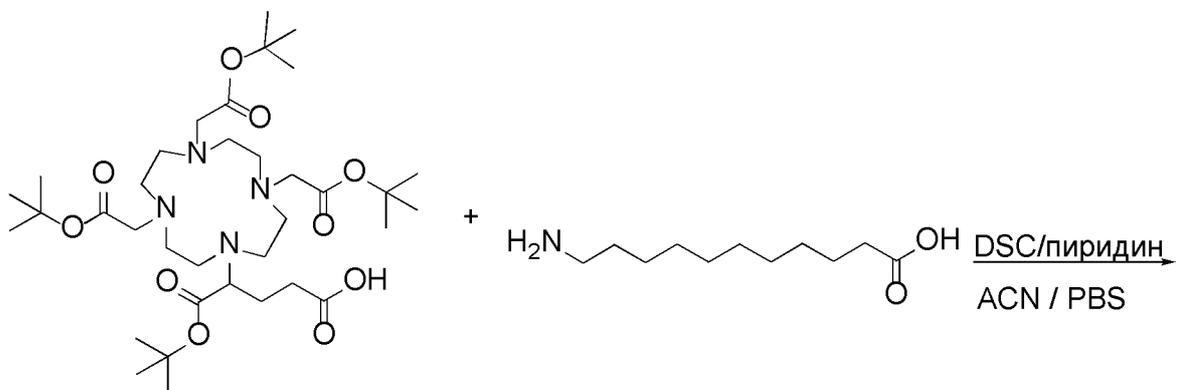
ФИГ.1С



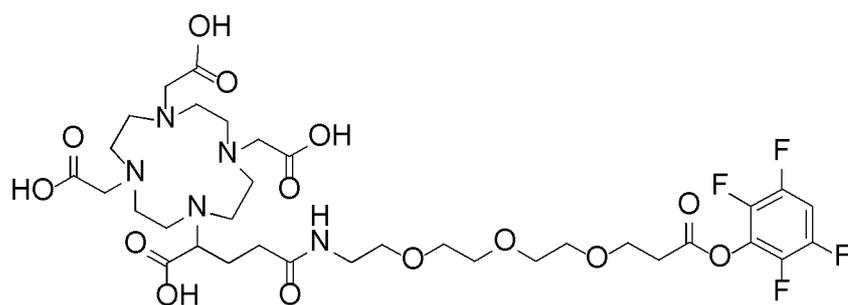
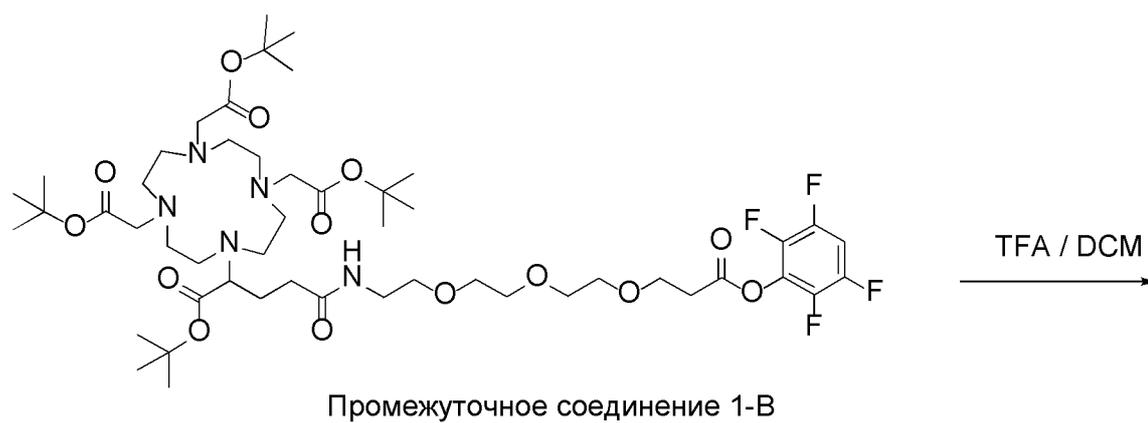
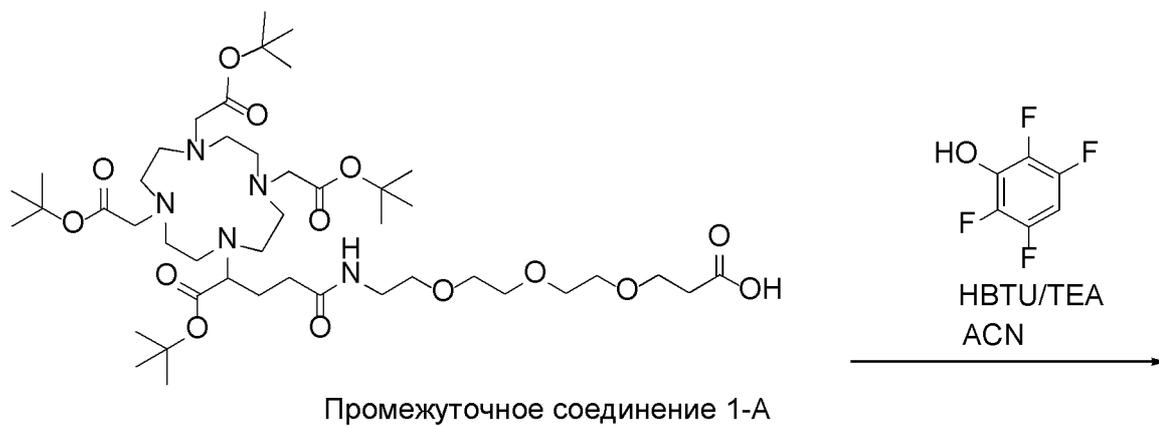
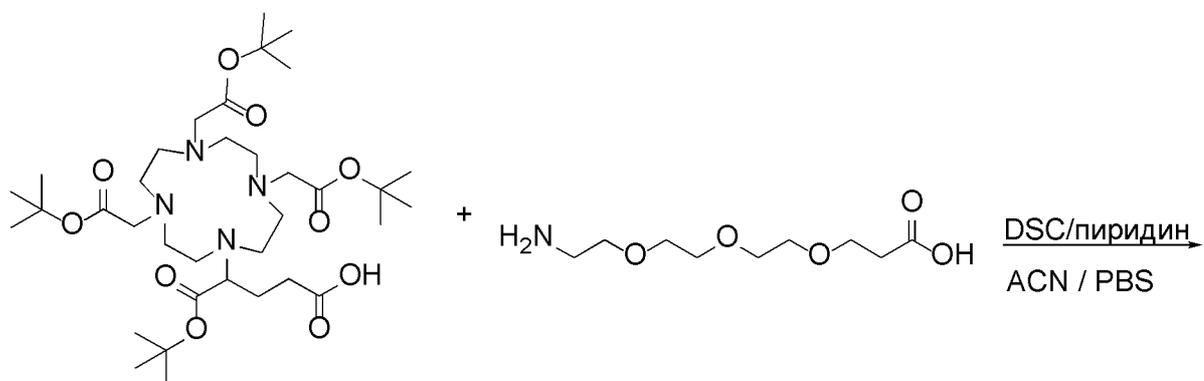
ФИГ.1D



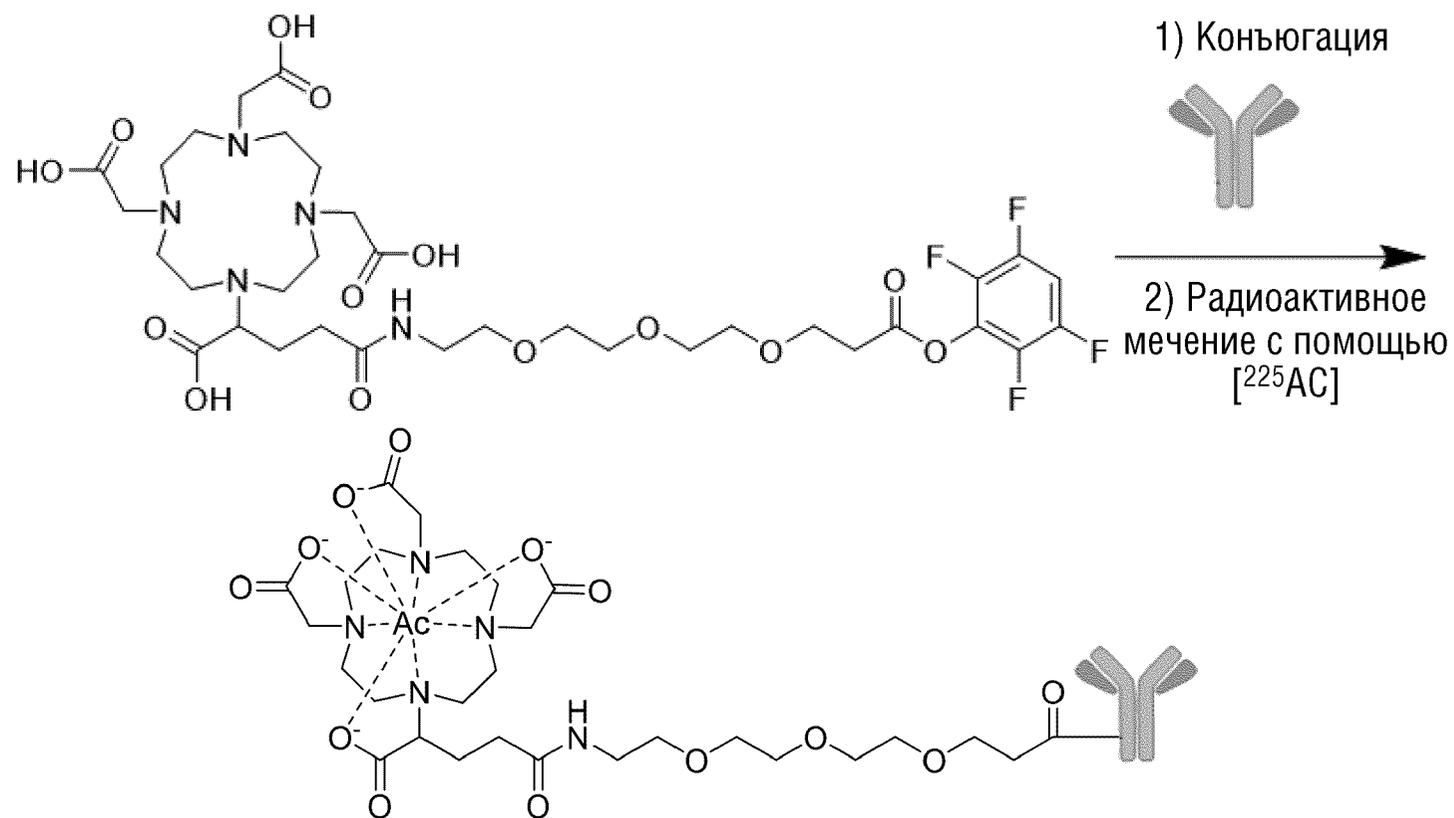
ФИГ.2



ФИГ.3

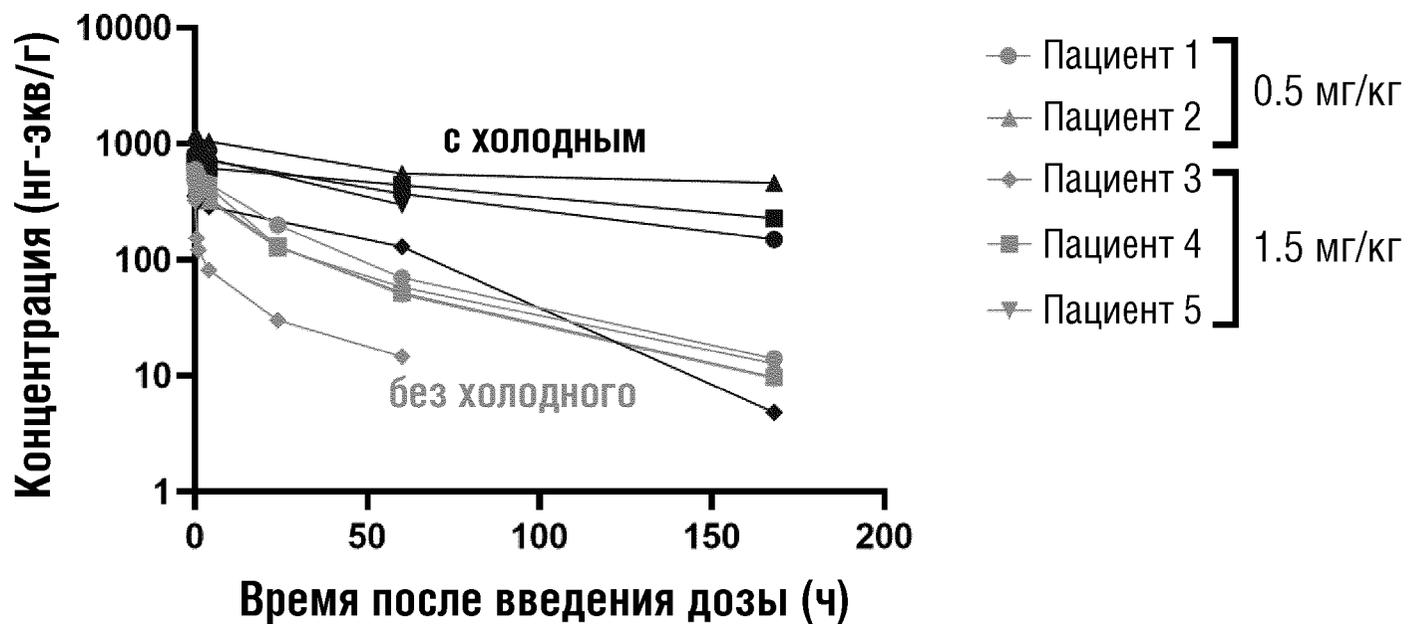


ФИГ.4



представляет собой антитело, которое специфически связывается с IGF-1R, где антитело конъюгировано с соединением С через аминогруппу боковой цепи остатка лизина

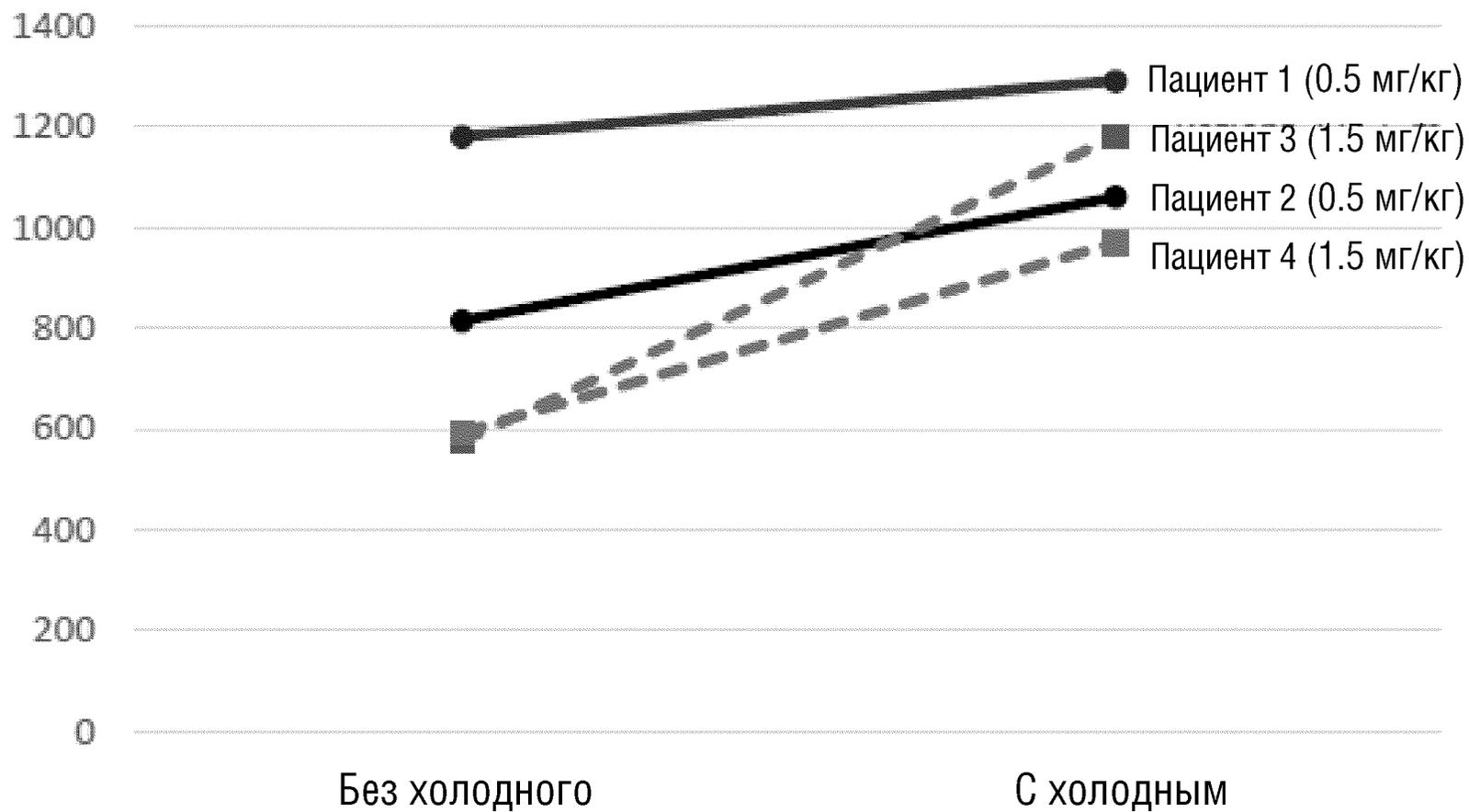
ФИГ.5



Примечание: У пациента 5 заболевание прогрессировало, и он не вернулся на посещение в Д6-8 после введения холодного антитела в дозе 1,5 мг/кг

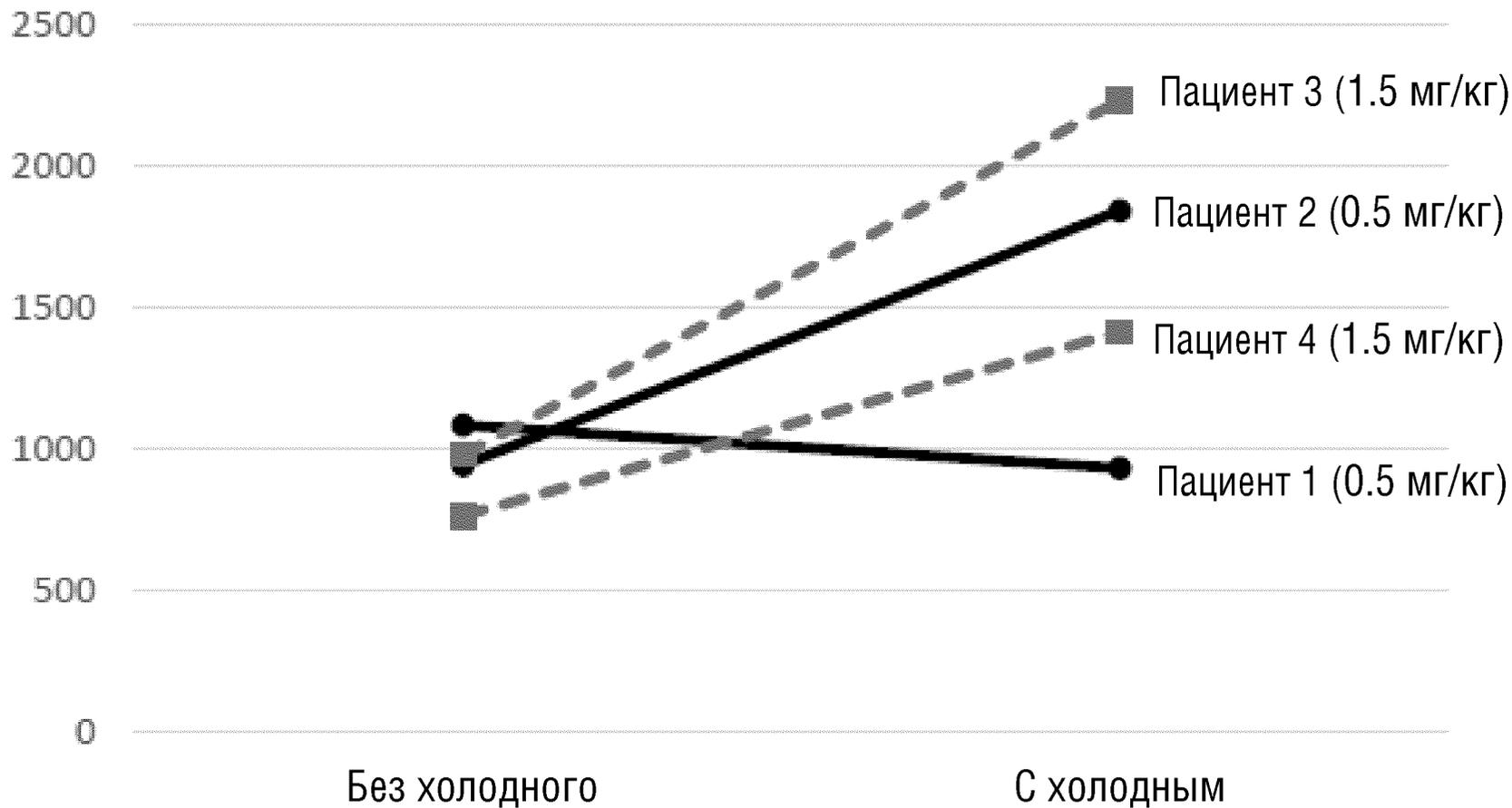
ФИГ.6А

Почки



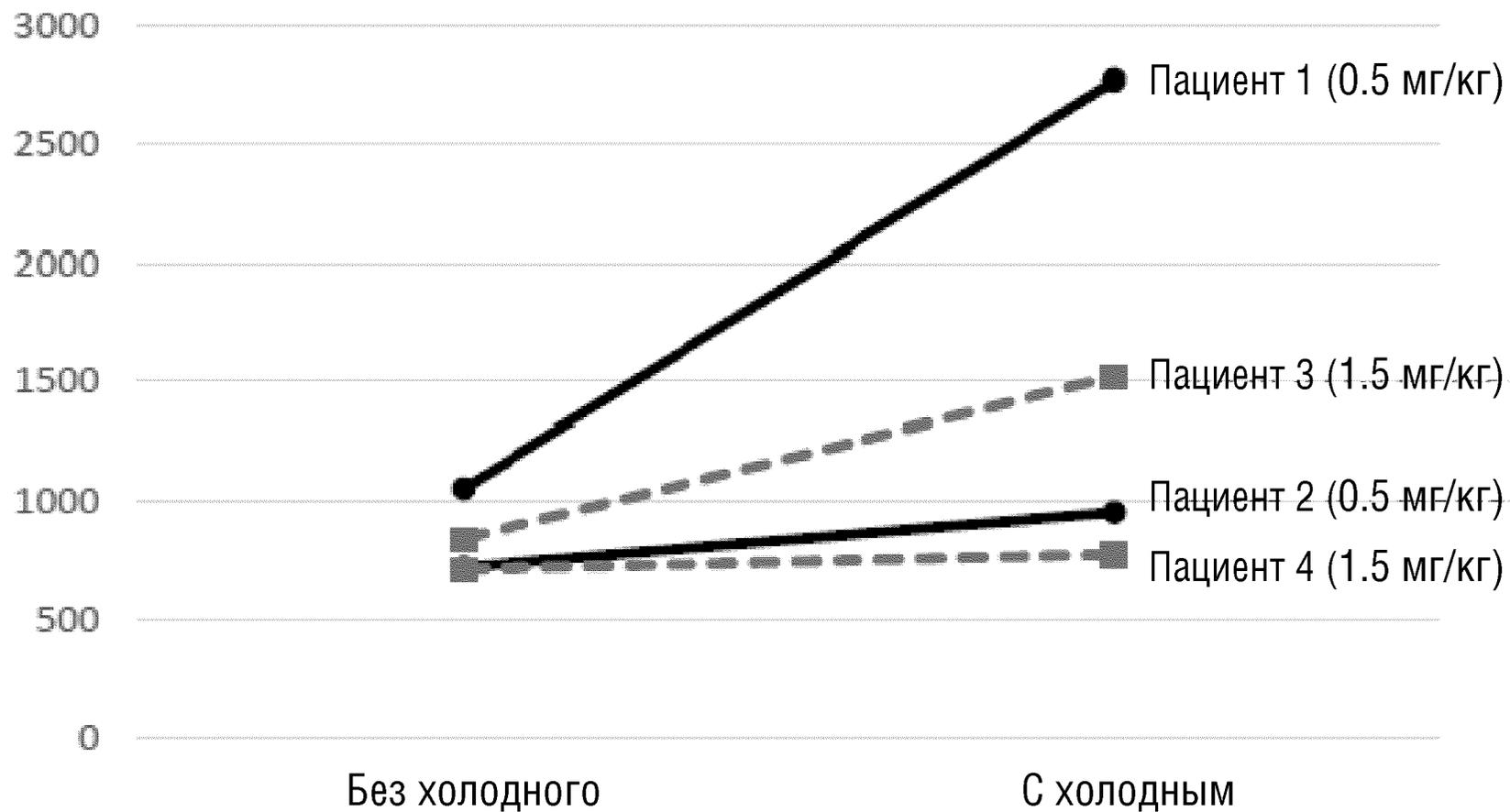
ФИГ.6В

Печень



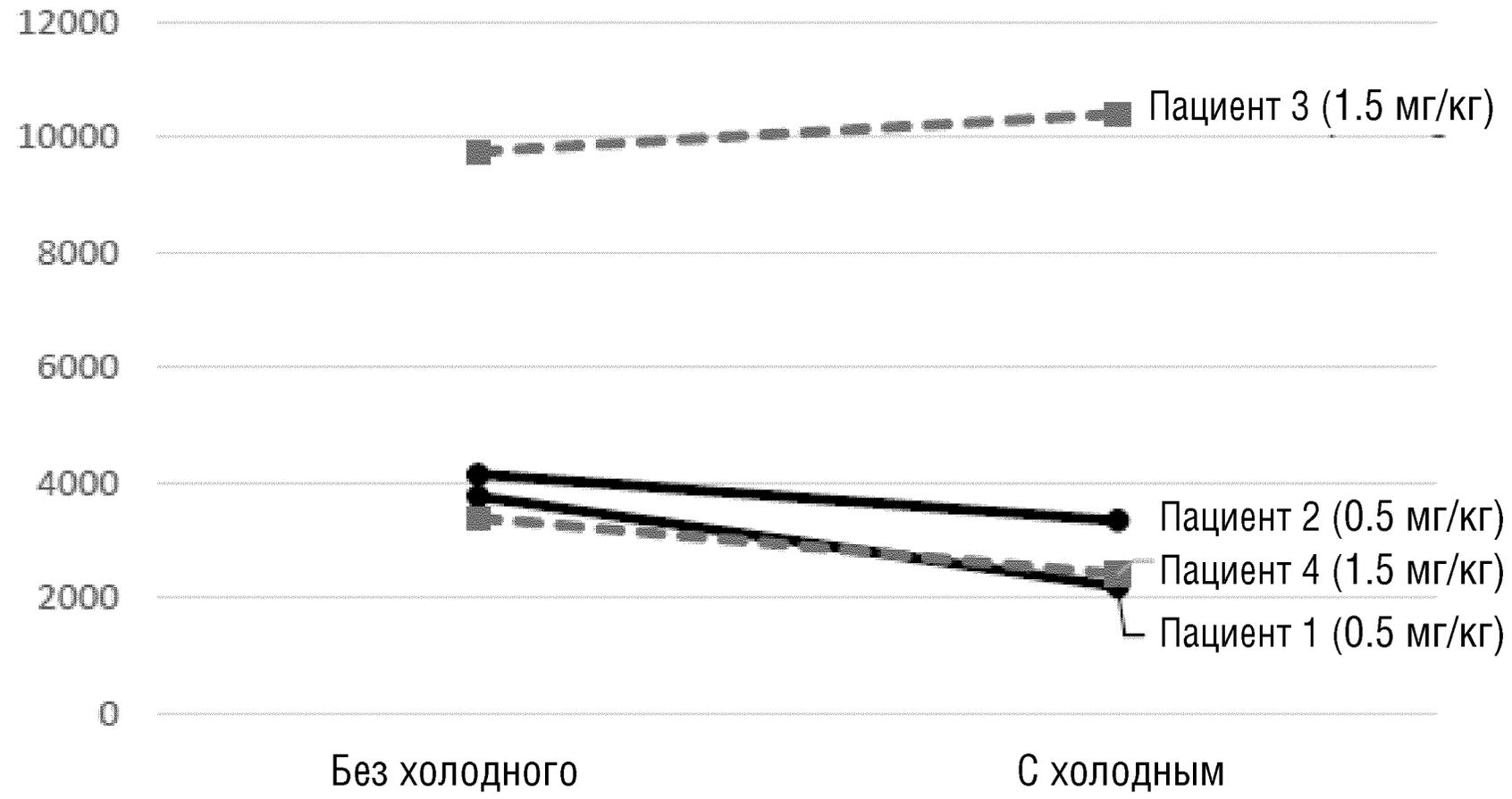
ФИГ.6С

Красный костный мозг



ФИГ.6D

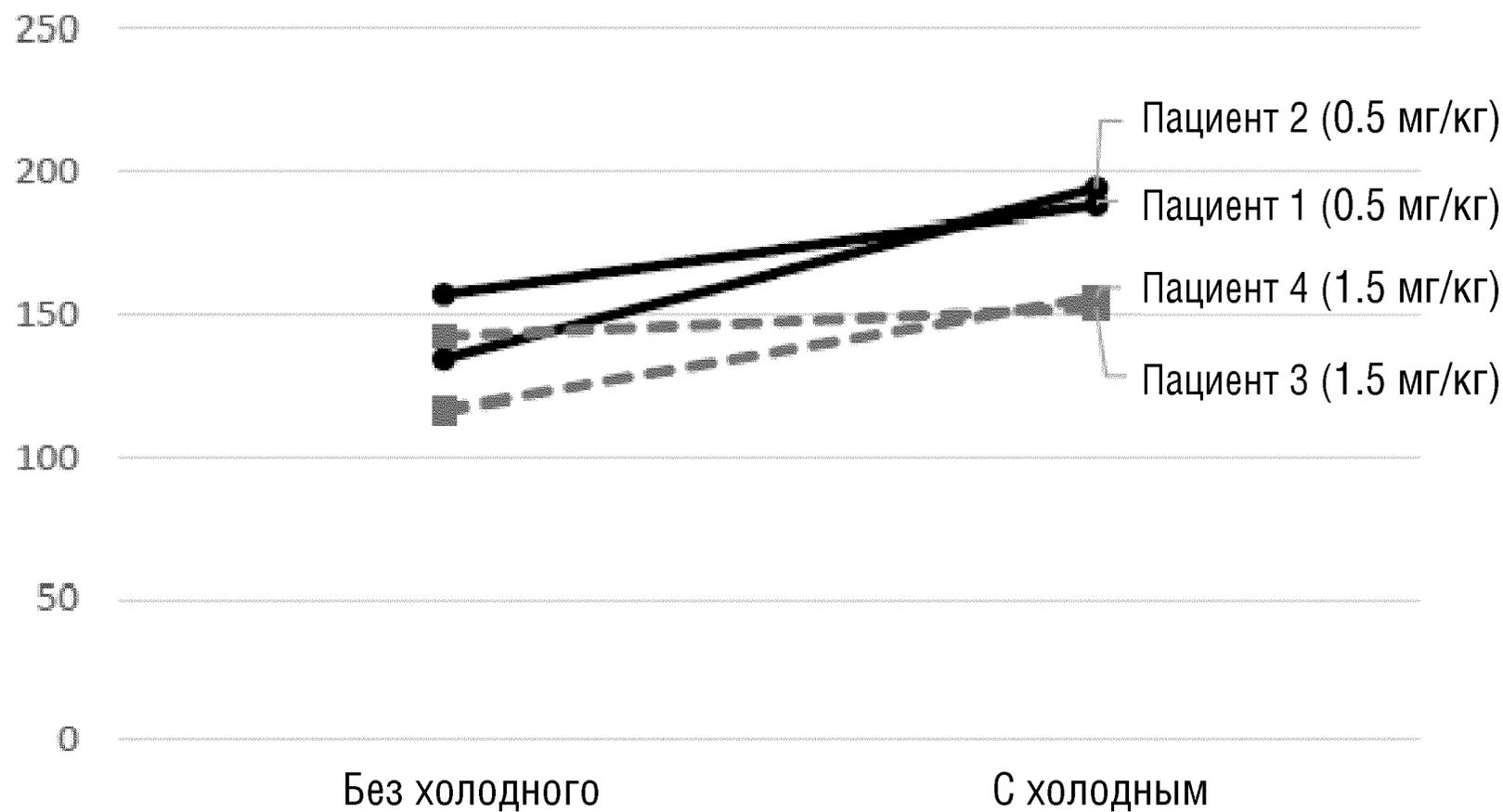
Селезенка



10/16

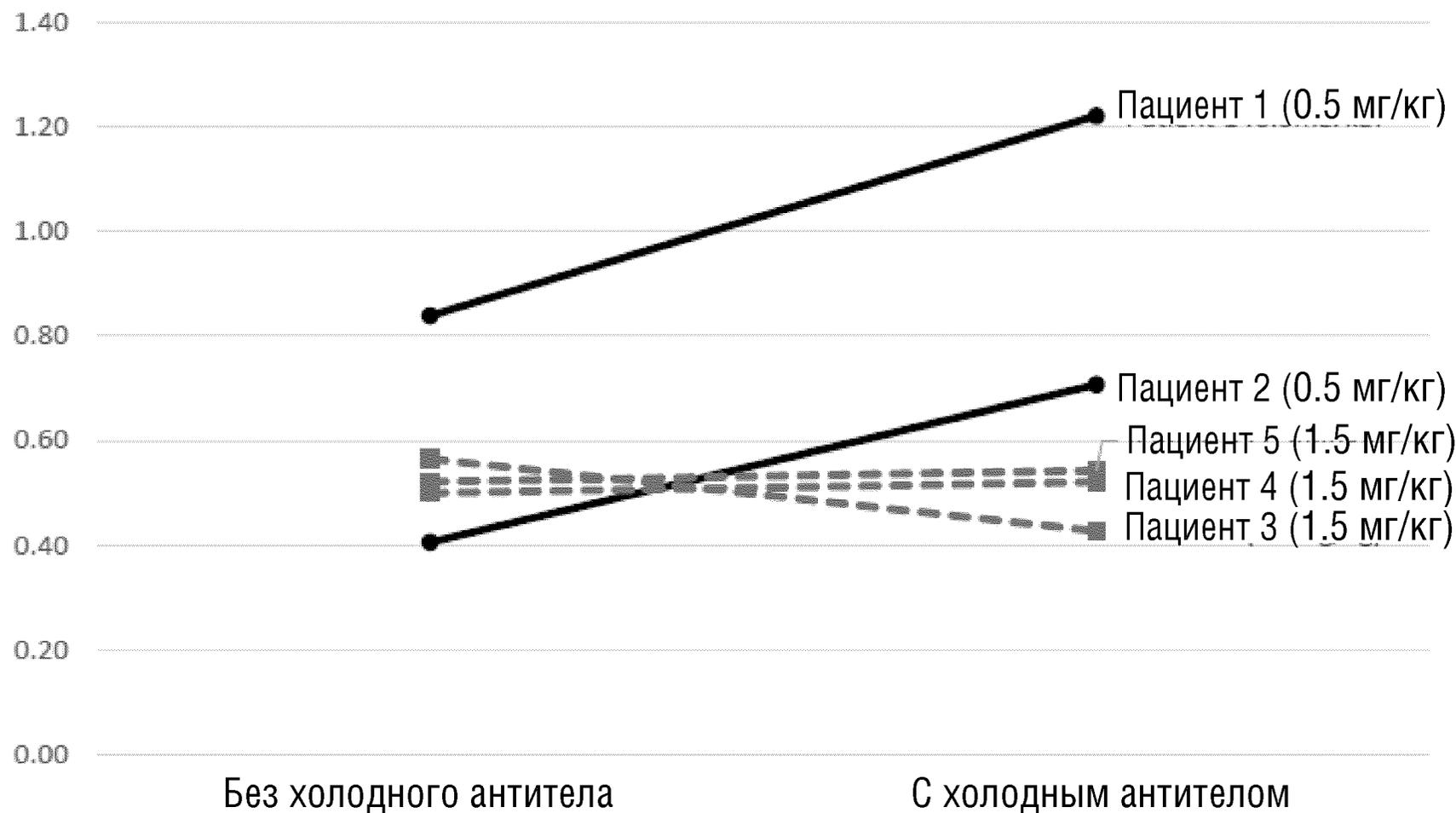
ФИГ.6Е

Все тело



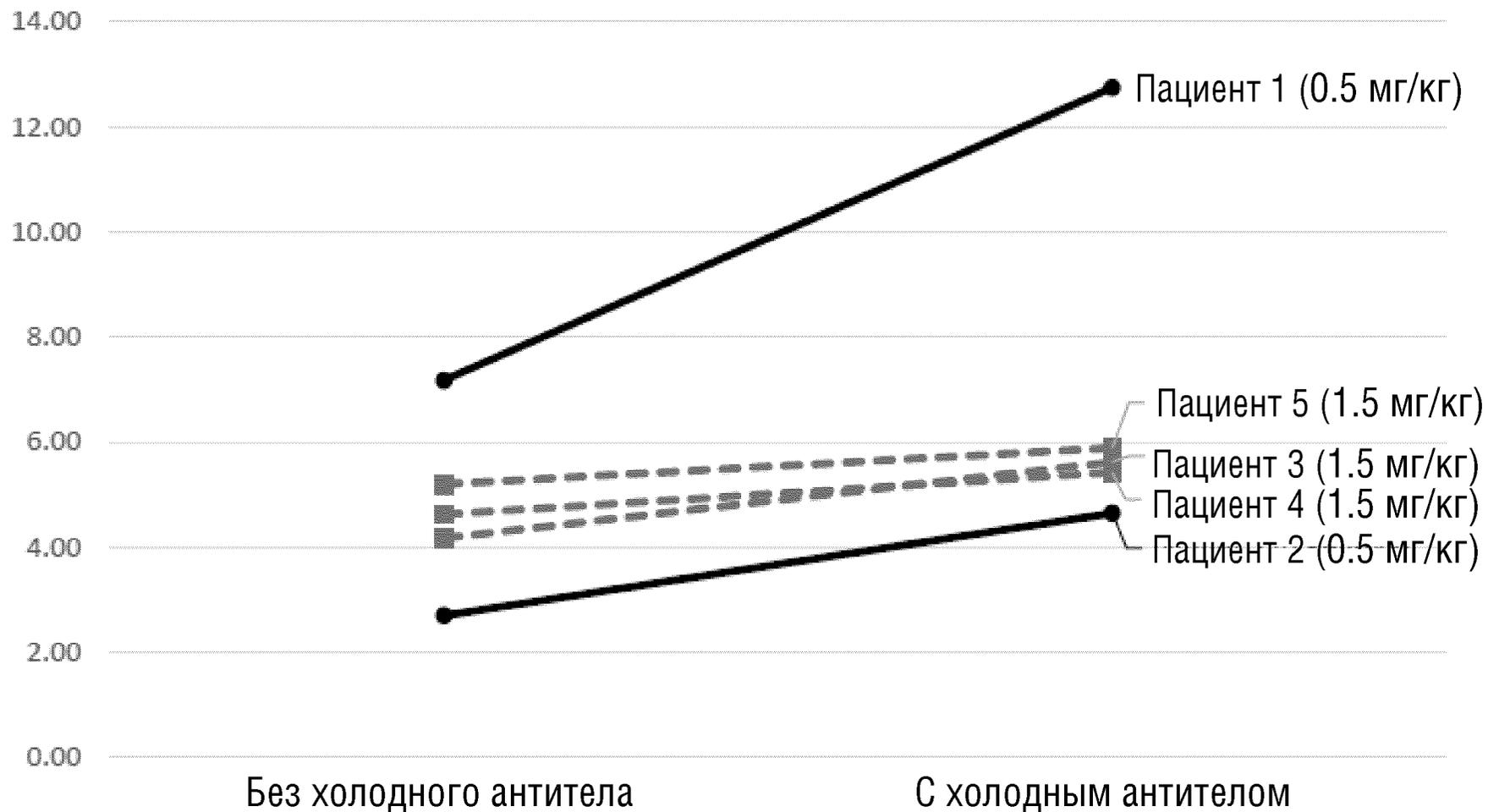
ФИГ.7А

Поглощение в лезии/печени



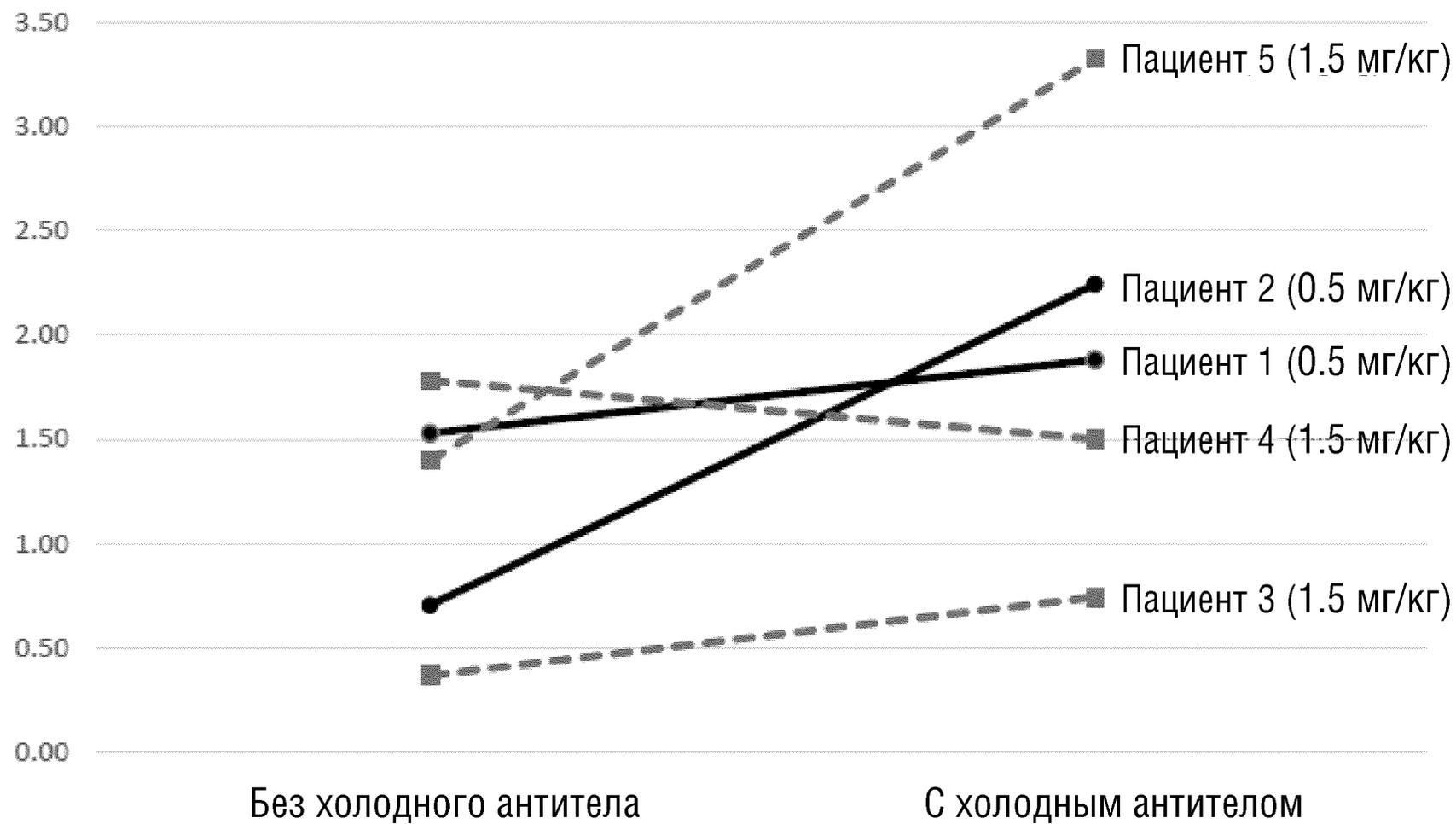
ФИГ.7В

Поглощение в лезии/мышце



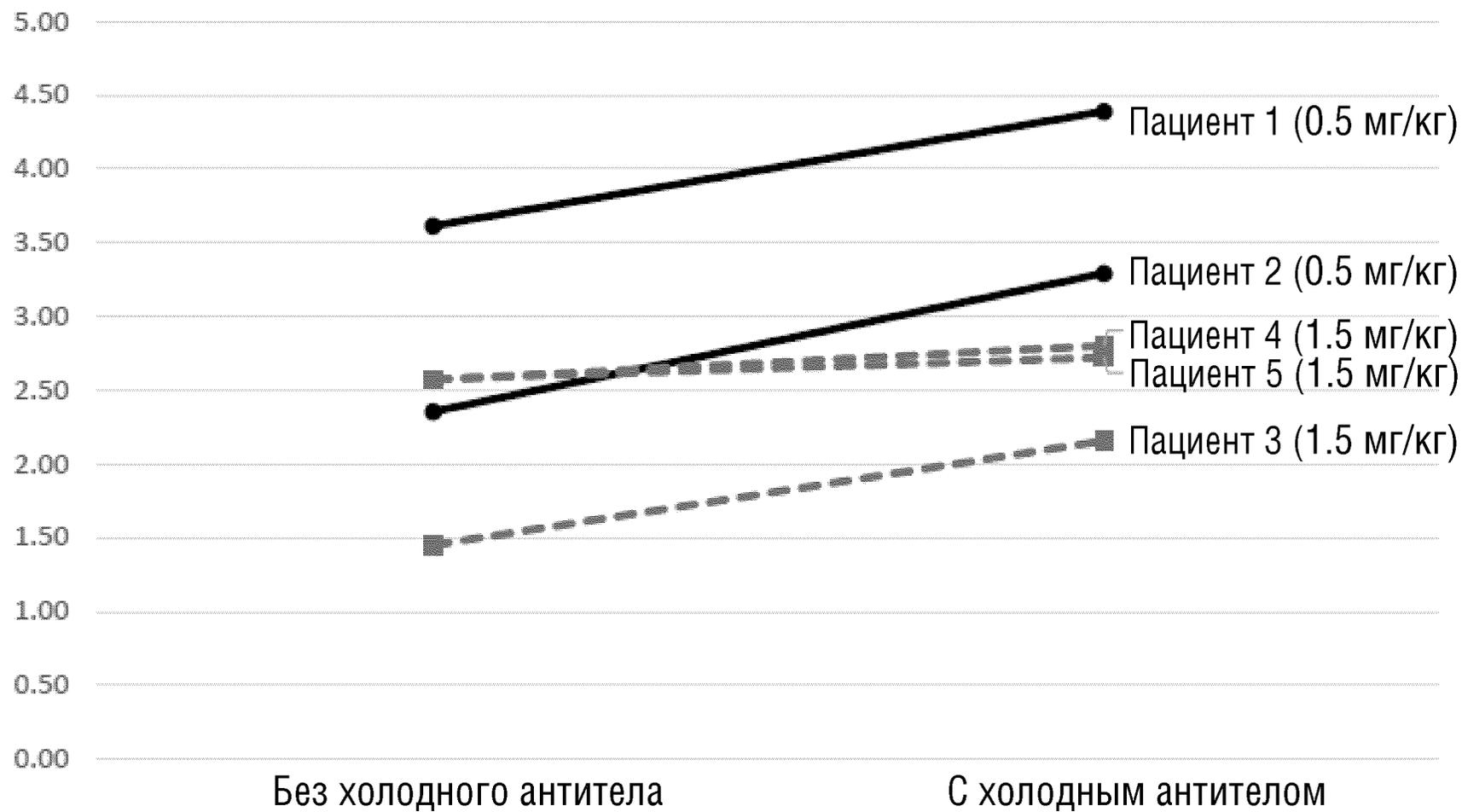
ФИГ.7С

Поглощение в лезии/красном костном мозге



ФИГ.7D

Поглощение в лезии/всем теле



15/16

ФИГ.7Е

Поглощение в лезии/мышце

