

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2012149042/15, 19.04.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
19.04.2010 US 61/325,515;
19.04.2010 EP 10382087.4;
09.02.2011 EP 11382031.0

(43) Дата публикации заявки: 27.05.2014 Бюл. № 15

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 19.11.2012(86) Заявка РСТ:
EP 2011/056270 (19.04.2011)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/131693 (27.10.2011)Адрес для переписки:
127055, Москва, а/я 11, Н.К. Попеленскому

(71) Заявитель(и):

НЛИФЕ ТЕРАПЕУТИКС, С.Л. (ES)

(72) Автор(ы):

АЛЬВАРАДО УРБИНА Габриэль (CA),
АРТИГАС ПЕРЕС Франсеск (ES),
БОРТОЛОССИ БИАССОНИ Аналия (ES),
ВИЛА БОВЕР Микель (ES),
МОНТЕФЕЛЬТРО Андрес Пабло (ES)(54) **КОНЬЮГАТ (ВАРИАНТЫ), СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ (ВАРИАНТЫ), СПОСОБ ВИЗУАЛИЗАЦИИ КЛЕТКИ, ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО, АМИДНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ (ВАРИАНТЫ), СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КОНЬЮГАТА И СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ АМИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

(57) Формула изобретения

1. Конъюгат, включающий по меньшей мере один агент селективности, специфично связывающийся с по меньшей мере одним переносчиком нейромедиатора, и по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту, выполненную с возможностью специфично связываться с молекулой-мишенью, экспрессируемой в клетке, в которой экспрессируется переносчик нейромедиатора.

2. Конъюгат по п.1, в котором нуклеиновая кислота выбрана из группы, включающей двухцепочечный РНК-интерферирующий олигонуклеотид, антисмысловой олигонуклеотид, гэпмер, ПНК, ЗНК, рибозим и аптамер.

3. Конъюгат по п.1, в котором связывание нуклеиновой кислоты с молекулой-мишенью характеризуется ингибированием активности молекулы-мишени.

4. Конъюгат по п.1, в котором агент селективности конъюгирован с 5'-концом олигонуклеотида.

5. Конъюгат по п.4, в котором агент селективности и олигонуклеотид соединены посредством связывающей группы.

6. Конъюгат по п.5, который содержит второй олигонуклеотид комплементарный первому олигонуклеотиду.

7. Конъюгат по п.2, в котором интерферирующая РНК представляет собой миРНК.
 8. Конъюгат по п.6, который содержит защитную группу присоединенную к 5'-концу второго олигонуклеотида.

9. Конъюгат по п.8, в котором защитная группа характеризуется структурой

$$M-L1_a-[(A-L2)_a-(B-L3)_b]_c-$$

в которой:

M представляет собой H или липидную частицу,

A и B представляют собой мономерные звенья, выбранные независимо из группы, включающей моносахарид и (C₂-C₂₀)-алкиленгликоль,

a и b - это целые числа в пределах от 0 до 50,

c - это целое число в пределах от 0 до 30,

L1, L2 и L3 - это связующие соединения, независимо выбранне из группы, включающей фосфодиэфир, фосфотиоат, карбамат, метилфосфонат, гуанидиний, сульфамат, сульфамид, формацеталь, тиоформацеталь, сульфон, амид и их смеси,

d равно 0 или 1.

10. Конъюгат по п.9, в котором моносахарид выбран из группы, включающей фуранозу, фруктозу, глюкозу, галактозу, маннозу, модифицированный моносахарид, сиаловую кислоту, эритрозу и их смеси.

11. Конъюгат по п.9, в котором (C₂-C₂₀)-алкиленгликоль выбран из группы, включающей этиленгликоль, пропиленгликоль и их смеси.

12. Конъюгат по п.11, в котором M представляет собой H, A представляет собой фуранозу, B представляет собой C18-этиленгликоль, a, b и c равны 1, d равно 0, а L2 и L3 представляют собой фосфодиэфирные связи.

13. Конъюгат по любому из пп.1-12, в котором агент селективности выбран из группы, включающей ингибитор обратного захвата серотонина (ИОЗС), селективный ингбитор обратного захвата серотонина (СИОЗС), ингибитор обратного захвата серотонина и норэпинефрина (ИОЗСН), норадренергический и специфический серотонинергический антидепрессант (НАССА), ингибитор обратного захвата норадреналина (ИОЗН), ингибитор обратного захвата дофамина (ИОЗД), ингибитор обратного захвата эндоканнабиноида (ИОЗЭК), ингибитор обратного захвата аденозина (ИОЗАдо), ингибитор обратного захвата возбуждающей аминокислоты (ИОЗВАК), ингибитор обратного захвата глутамата (ИОЗГлу), ингибитор обратного захвата ГАМК (ИОЗГ), ингибитор обратного захвата глицина (ИОЗГли) и ингибитор обратного захвата норэпинефрина и дофамина (ИОЗНД).

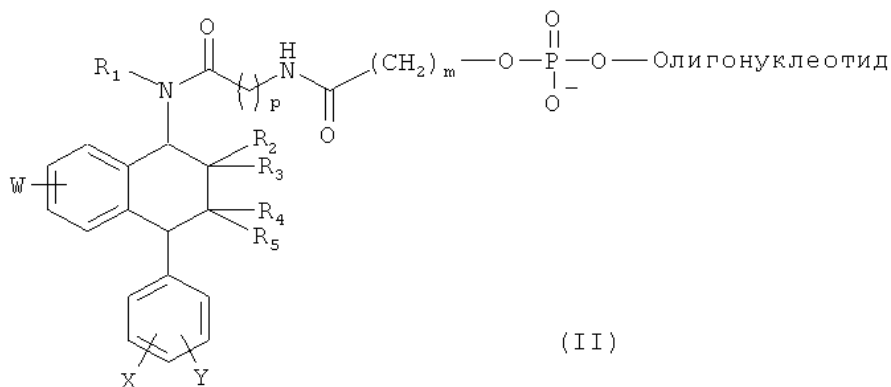
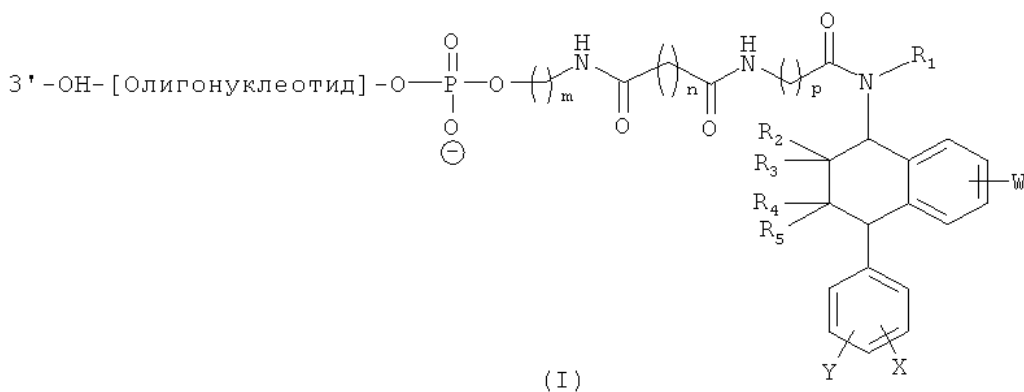
14. Конъюгат по п.13, в котором агент селективности выбран из группы, включающей ингибитор обратного захвата серотонина (ИОЗС), селективный ингибитор обратного захвата серотонина (СИОЗС), ингибитор обратного захвата серотонина и норэпинефрина (ИОЗСН).

15. Конъюгат по п.14, в котором селективный ингибитор обратного захвата серотонина (СИОЗС) выбран из группы, включающей сертралин, структурный аналог сертралина, флуоксетин, флувоксамин, пароксетин, индаплан, зимелидин, циталопрам, дапоксетин, эсциталопрам и их смесей, при этом олигонуклеотид комплементарен нуклеиновой кислоте-мишени, которая экспрессируется в клетке, в которой экспрессируется нейрональный переносчик аминокислоты.

16. Конъюгат по п.15, который характеризуется структуру, выбранной из группы, включающей структуру (I) и (II)

RU 2012149042 A

RU 2012149042 A



в которой:

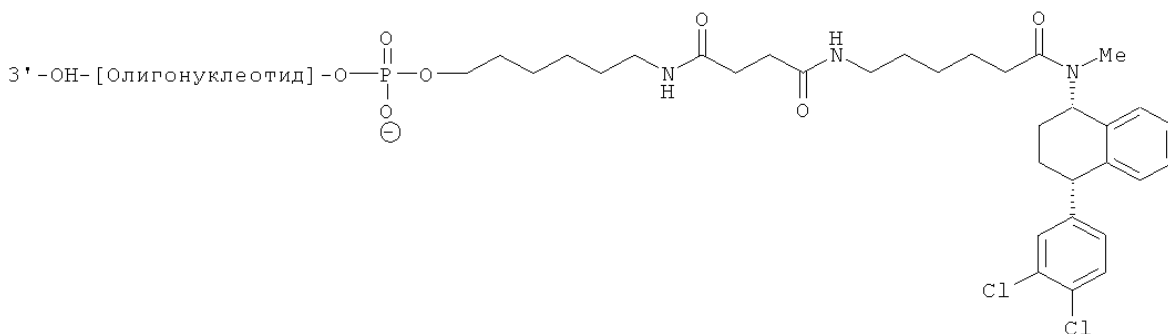
R^1 , R^2 , R^3 , R^4 and R^5 независимо друг от друга выбраны из водорода и C_1 - C_6 -алкила, X и Y независимо выбраны из водорода, галогена, C_1 - C_3 -алкила,

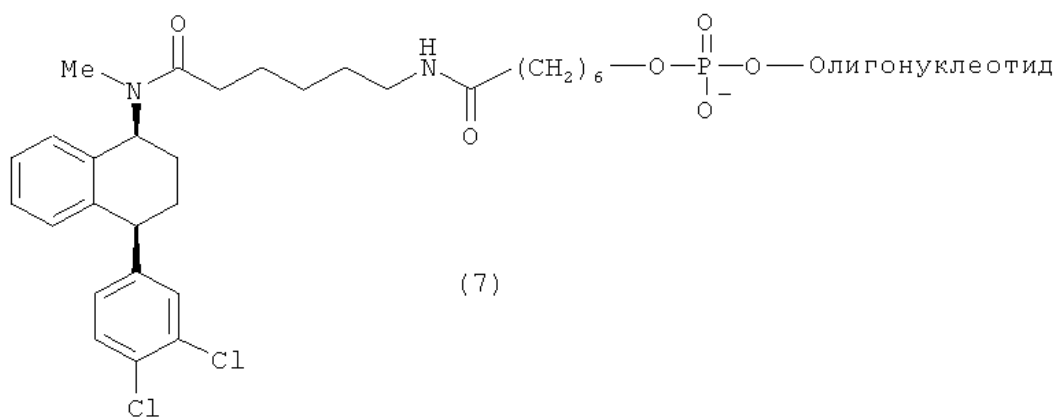
C_1 - C_3 -галогеналкила, OR^a и SR^b , где R^a и R^b независимо выбраны из C_1 - C_3 -алкила и C_6 - C_{10} -арила,

W выбран из водорода, галогена, CN, NO_2 , C_1 - C_3 -алкила, C_1 - C_3 -галогеналкила, NR^cR^d , $\text{SO}_2\text{NR}^e\text{R}^f$, $\text{NR}^g\text{SO}_2\text{R}^h$, CO_2R^i , где R^c , R^d , R^e , R^f , R^g , R^h и R^i независимо выбраны из водорода и C_1 - C_3 -алкила,

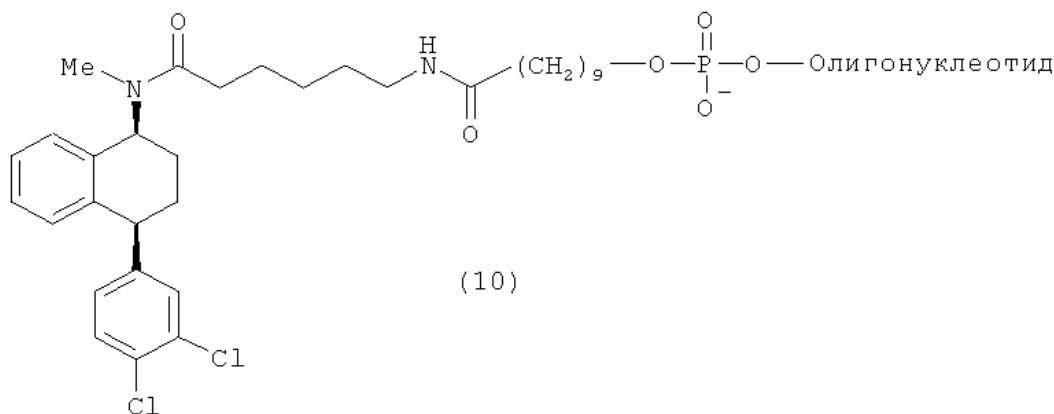
m, n и p выбраны из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 и 13, где сумма m+n+p - это целое число, выбранное из 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 и 18.

17. Конъюгат по п.16, который характеризуется структурой, выбранной из группы, включающей:





и



18. Конъюгат по любому из пп.14-17, в котором молекула-мишень выбрана из группы, включающей серотониновый рецептор типа 1A (5-HT_{1A}), мРНК, кодирующую серотониновый рецептор типа 1A (5-HT_{1A}), белок переносчика серотонина и мРНК, кодирующую переносчик серотонина.

19. Конъюгат по п.18, в котором нуклеиновая кислота, выполненная с возможностью специфически связываться с мРНК, кодирующей серотониновый рецептор типа 1A (5-HT_{1A}), содержит последовательность, выбранную из группы, включающей SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4.

20. Конъюгат по п.1, в котором агент селективности выбран из группы, включающей ингибитор обратного захвата дофамина (ИОЗД), ингибитор обратного захвата норэпинефрина и дофамина (ИОЗНД), ингибитор обратного захвата серотонина, норэпинефрина и дофамина, при этом молекула-мишень представляет собой альфа-синуклеин или мРНК, кодирующую альфа-синуклеин.

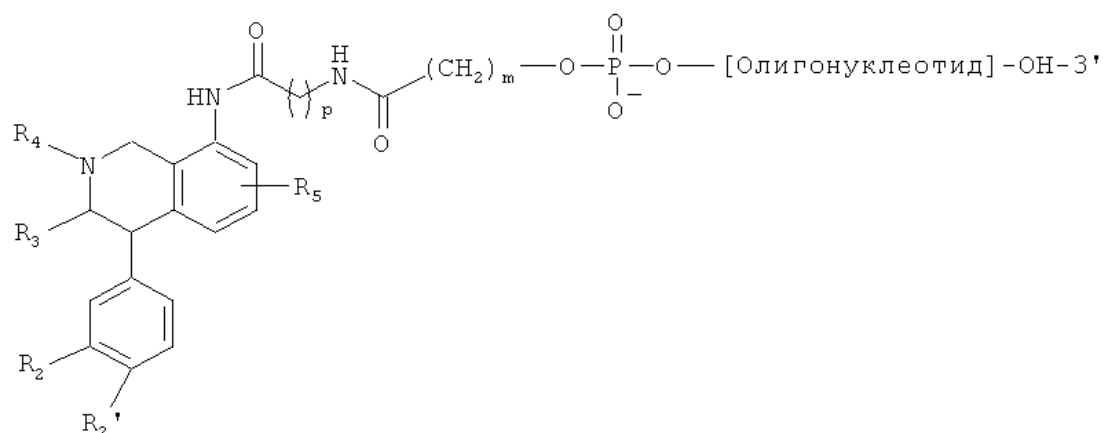
21. Конъюгат по п.1, в котором агент селективности представляет собой ингибитор обратного захвата норэпинефрина (ИОЗН), при этом молекула-мишень представляет собой дофамин-β-гидроксилазу или мРНК, кодирующую дофамин-β-гидроксилазу.

22. Конъюгат по п.1, в котором агент селективности выбран из группы, включающей ингибитор обратного захвата дофамина (ИОЗД), ингибитор обратного захвата норэпинефрина и дофамина (ИОЗНД) и ингибитор обратного захвата серотонина, норэпинефрина и дофамина, при этом молекула-мишень представляет собой ВАХ или мРНК, кодирующую ВАХ.

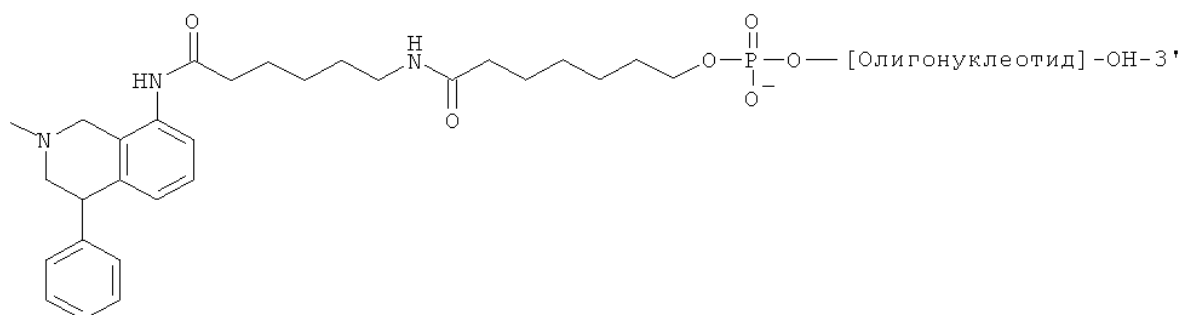
23. Конъюгат по п.1, в котором агент селективности выбран из группы, включающей ингибитор обратного захвата дофамина (ИОЗД), ингибитор обратного захвата норэпинефрина и дофамина (ИОЗНД) и ингибитор обратного захвата серотонина, норэпинефрина и дофамина, при этом молекула-мишень представляет собой тау или мРНК, кодирующую тау.

24. Конъюгат по п.1, в котором агент селективности выбран из группы, включающей ингибитор обратного захвата дофамина (ИОЗД), ингибитор обратного захвата норэпинефрина и дофамина (ИОЗНД) и ингибитор обратного захвата серотонина, норэпинефрина и дофамина, при этом молекула-мишень представляет собой хантингтин или мРНК, кодирующую хантингтин.

25. Конъюгат по любому из пп.20-24, в котором конъюгат характеризуется структурой



26. Конъюгат по п.25, в котором конъюгат характеризуется структурой



27. Применение конъюгата по любому из пп.1-26 для медицинских целей.

28. Применение конъюгата по любому из пп.1-12, характеризующегося агентом селективности выбранным из группы, включающей селективный ингибитор обратного захвата серотонина (СИОЗС), ингибитор обратного захвата серотонина и норэпинефрина (ИОЗСН) и олигонуклеотидом, выполненным с возможностью специфично связываться с молекулой-мишенью, выбранной из группы, включающей мРНК, кодирующую серотониновый рецептор типа 1A (5-HT_{1A}), мРНК, кодирующую переносчик серотонина, серотониновый рецептора типа 1A (5-HT_{1A}) и переносчик серотонина, при лечении и/или профилактике расстройства, связанного с депрессией.

29. Применение по п.28, в котором связанное с депрессией расстройство выбрано из группы, включающей большую депрессию, обсессивно-компульсивное расстройство (ОКР), общие расстройства психологического развития (ОРПР), посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР), тревожные расстройства, биполярные расстройства, расстройства пищевого поведения и хроническую боль.

30. Применение конъюгата по любому из пп.1-12, характеризующегося агентом селективности выбранным из группы, включающей ингибитор обратного захвата дофамина (ИОЗД) и ингибитор обратного захвата норэпинефрина и дофамина (ИОЗНД), и олигонуклеотидом, выполненным с возможностью специфически связываться с молекулой-мишенью, выбранной из группы, включающей мРНК, кодирующую альфа-синуклеин или полипептид альфа-синуклеина, при лечении и/или профилактике болезни, связанной с отложением телец Леви.

31. Применение по п.30, в котором болезнь, связанная с отложением телец Леви, выбрана из группы, включающей болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви и

множественную системную атрофию.

32. Применение конъюгата по любому из пп.1-12, характеризующегося агентом селективности, представляющим собой ингибитор обратного захвата норэпинефрина (ИОЗН), и молекулой-мишенью, представляющей собой дофамин-β-гидроксилаза или мРНК, кодирующую дофамин-β-гидроксилазу, при лечении и/или профилактике болезни, связанной с недостатком дофамина в норадренергических проекциях.

33. Применение конъюгата по любому из пп.1-12, характеризующегося агентом селективности, представляющим собой ингибитор обратного захвата норэпинефрина (ИОЗН), и олигонуклеотидом, выполненным с возможностью специфически связываться с молекулой-мишенью, выбранной из группы, включающей мРНК, кодирующую переносчик норэпинефрина (НЭТ), и полипептид переносчика норэпинефрина (НЭТ), при лечении и/или профилактике болезни, связанной с недостатком дофамина в норадренергических проекциях.

34. Применение по п.33, в котором болезнь, связанная с недостатком дофамина в норадренергических проекциях, представляет собой процесс запоминания или познания, сопровождающийся слабоумием, депрессией или нейродегенеративными заболеваниями.

35. Применение конъюгата по любому из пп.1-12, характеризующегося агентом селективности, выбранным из группы, включающей ингибитор обратного захвата дофамина (ИОЗД), ингибитор обратного захвата норэпинефрина и дофамина (ИОЗНД) и ингибитор обратного захвата серотонина, норэпинефрина и дофамина, и молекулой-мишенью, представляющей собой ВАХ или мРНК, кодирующую ВАХ, при лечении и/или профилактике болезни, связанной с апоптозом нейронов или гибелью клеток.

36. Применение по п.35, в котором болезнь, связанная с апоптозом нейронов или гибелью клеток, выбрана из группы, включающей болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, приступ/травму, множественного и бокового амиотрофического склероза.

37. Применение конъюгата по любому из пп.1-12, характеризующегося агентом селективности, выбранным из группы, включающей ингибитор обратного захвата дофамина (ИОЗД), ингибитор обратного захвата норэпинефрина и дофамина (ИОЗНД) и ингибитор обратного захвата серотонина, норэпинефрина и дофамина, и молекулой-мишенью, представляющей собой тау или мРНК, кодирующую тау, при лечении и/или профилактике тау-ассоциированного заболевания.

38. Применение по п.37, в котором тау-ассоциированное заболевание представляет собой болезнь, связанную с нарушением уровня тау, или таупатию.

39. Применение по п.38, в котором тау-ассоциированное заболевание выбрано из группы, включающей лобно-височную деменцию, подтип лобно-височной деменции и паркинсонизм, связанный с хромосомой 17 (FTDP-17), прогрессирующий супрануклеарный паралич, кортикобазальную дегенерацию, болезнь Пика, болезнь аргирофильных волокон, болезнь Паркинсона, синдрома Дауна, постэнцефалитический паркинсонизм, миотоническую дистрофию, болезнь Ниманна-Пика С, боксерскую деменцию, болезнь Блинта, прионные инфекции, комплекс боковой амиотрофический склероз-паркинсонизм-деменция (синдром Гуама), множественный склероз, глаукому, диабетическую ретинопатию, травматическое повреждение мозга, болезнь Хантингтона, деменцию с тельцами Леви, амиотрофию Шарко-Мари-Тута, наследственную параплегию и множественную системную атрофию.

40. Применение конъюгата по любому из пп.1-12, характеризующегося агентом селективности, выбранным из группы, включающей ингибитор обратного захвата дофамина (ИОЗД), ингибитор обратного захвата норэпинефрина и дофамина (ИОЗНД) и ингибитор обратного захвата серотонина, норэпинефрина и дофамина, и молекулой-мишенью, представляющей собой хантингтин или мРНК, кодирующую хантингтин,

при лечении и/или профилактики болезни Хантингтона.

41. Применение по п.40, в котором конъюгат вводится интравентрикулярно или через нос.

42. Конъюгат, включающий по меньшей мере, один агент селективности, специфично связывающийся с по меньшей мере одним переносчиком нейромедиатора и контрастное вещество.

43. Конъюгат по п.42, в котором контрастное вещество представляет собой контрастное вещество для магнитно-резонансной томографии.

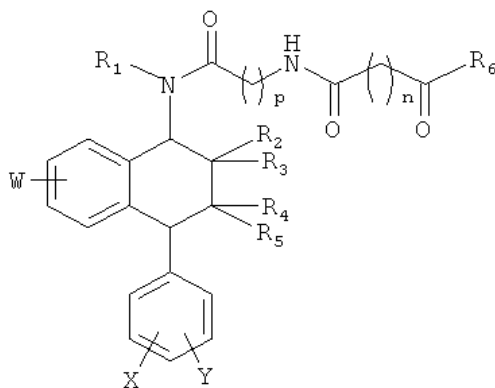
44. Конъюгат по п.43, в которой контрастное вещество для магнитно-резонансной томографии представляет собой соединение на основе гадолиния.

45. Конъюгат по любому из пп.42-44, в котором агент селективности представляет собой агент селективности по любому из пп.13-26.

46. Способ визуализации клетки, экспрессирующей переносчик нейромедиатора, включающий взаимодействие указанной клетки с конъюгатом по любому из пп.42-44, характеризующееся специфическим связыванием агента селективности с переносчиком нейромедиатора, экспрессируемого указанной клеткой.

47. Применение конъюгата по любому из пп.42-45 в качестве диагностического средства.

48. Способ получения амидного соединения формулы (II)



(II)

в которой:

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 and R^5 независимо друг от друга выбраны из водорода и C_1 - C_6 -алкила, X и Y независимо выбраны из водорода, галогена, C_1 - C_3 -алкила,

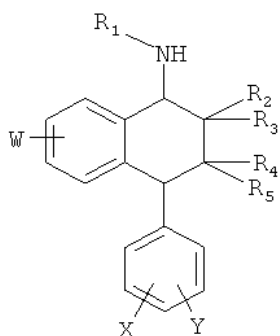
C_1 - C_3 -галогеналкила, OR^a и SR^b , где R^a и R^b независимо выбраны из C_1 - C_3 -алкила и C_6 - C_{10} -арила;

R^6 представляет собой активирующую карбонильную группу заместитель,

W выбран из водорода, галогена, CN, NO_2 , C_1 - C_3 -алкила, C_1 - C_3 -галогеналкила,

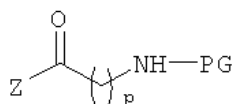
NR^cR^d , $SO_2NR^eR^f$, $NR^gSO_2R^h$, CO_2R^i , где R^c , R^d , R^e , R^f , R^g , R^h и R^i независимо выбраны из водорода и C_1 - C_3 -алкила,

n и p выбраны из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 и 13, включающий реакцию соединения формулы (III)



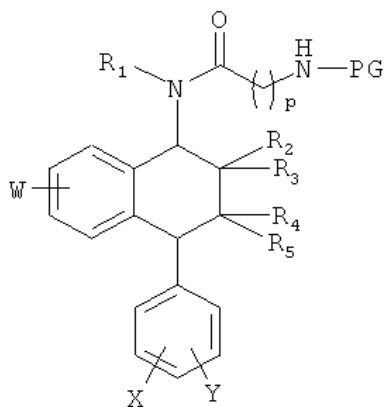
(III)

с ацилирующим реагентом формулы (VII)



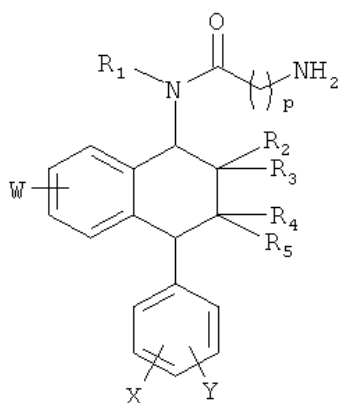
(VII)

в которой p имеет вышеуказанное значение, Z представляет собой галоген или OH, а PG представляет собой защитную группу для амина, с образованием соединения формулы (IV)



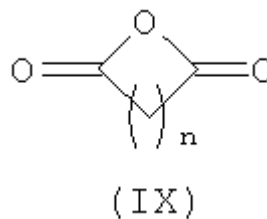
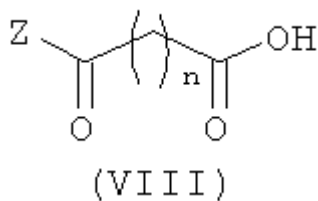
(IV)

удаление аминозащитной группы в соединении формулы (IV) с образованием соединения формулы (V)

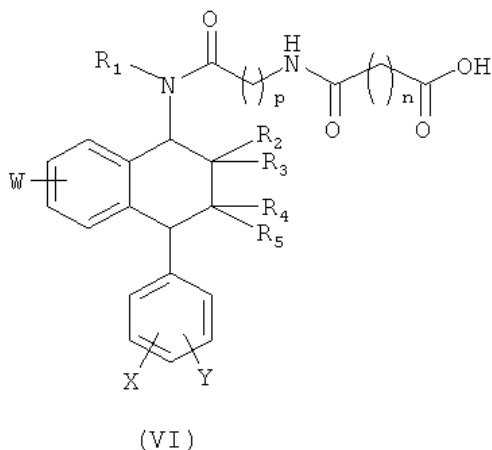


(V)

реакцию соединения формулы (V) с ацилирующим реагентом формулы (VIII) или (IX)

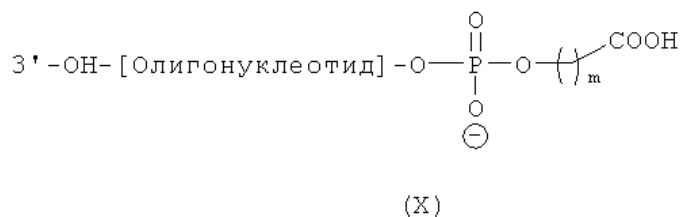


в которой n имеет вышеуказанное значение, Z представляет собой галоген или OH, с образованием соединения формулы (VI)

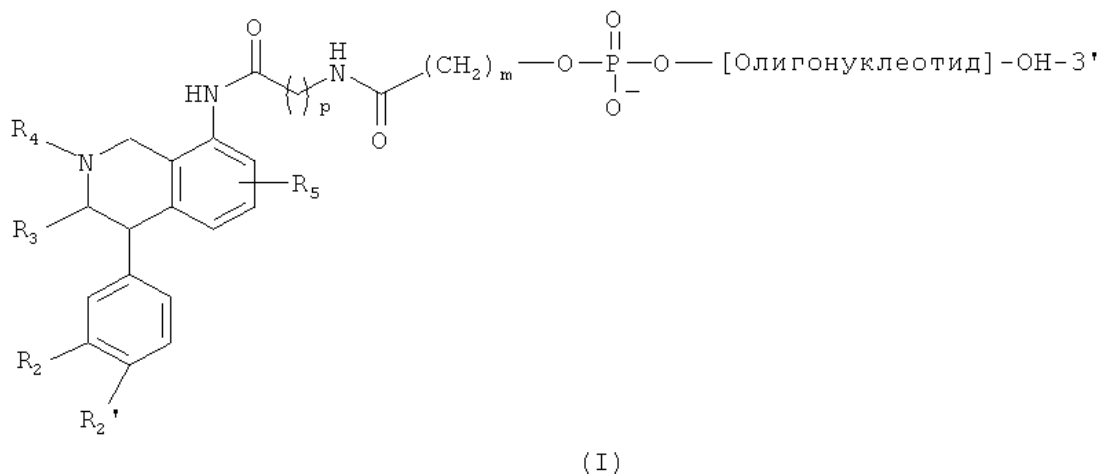


обработку соединения формулы (VI) карбонил-активирующей группой.

49. Способ по п.48, включающий реакцию соединения формулы (II) с аминомодифицированным олигонуклеотидом формулы (X)

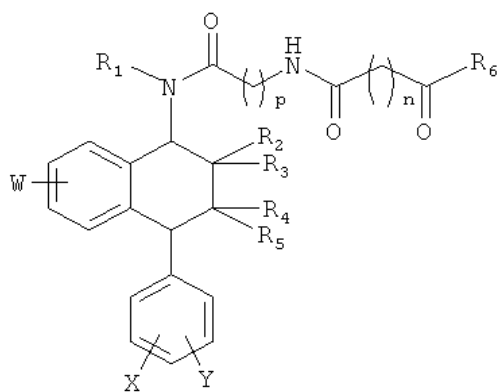


в которой R¹-R⁵, X, Y, W, m, n и p характеризуются значениями, указанными в п.48, с образованием конъюгата формулы (I)



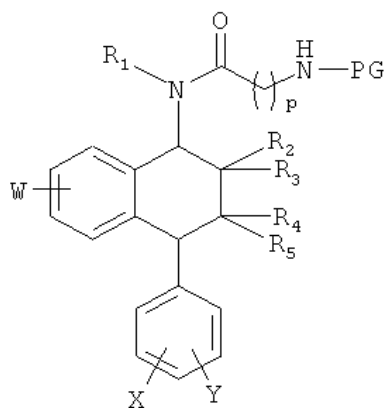
50. Способ по п.49, в котором олигонуклеотид содержит последовательность, выбранную из группы, включающей SEQ ID NO: 5-12.

51. Амидные соединения, выбранные из группы, включающей соединение формулы (II)



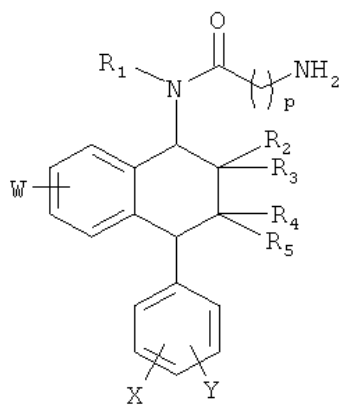
(II)

в которой R^1 - R^6 , X, Y, W, n и p характеризуются значениями, указанными в п.48, соединение формулы (IV)



(IV)

в которой R^1 - R^5 , X, Y, W, p и PG характеризуются значениями, указанными в п.48, соединение формулы (V)

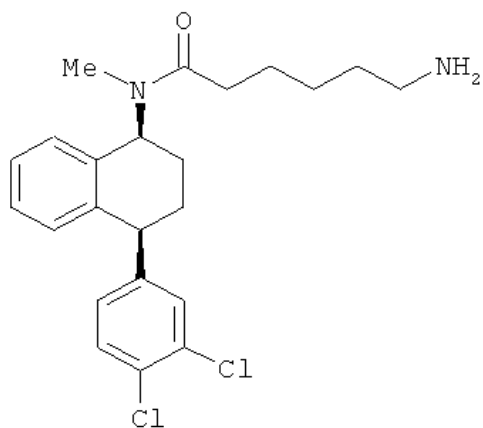


(V)

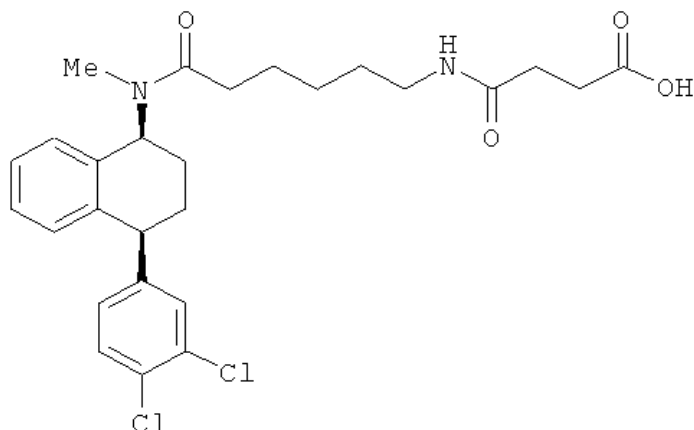
в которой R^1 - R^5 , X, Y, W и p характеризуются значениями, указанными в п.48, соединение формулы (VI)

CN(C(=O)CCCCCNC(=O)CCC(=O)ON1C(=O)CCC1=O)[C@H]2C[C@@H](c3ccc(Cl)c(Cl)c3)[C@H](c4ccccc4)C2CN(C(=O)CCCCCNC(=O)OCC1c2ccccc2-c3ccccc13)c4c5ccccc45C6=CC=C(C=C6)Cl

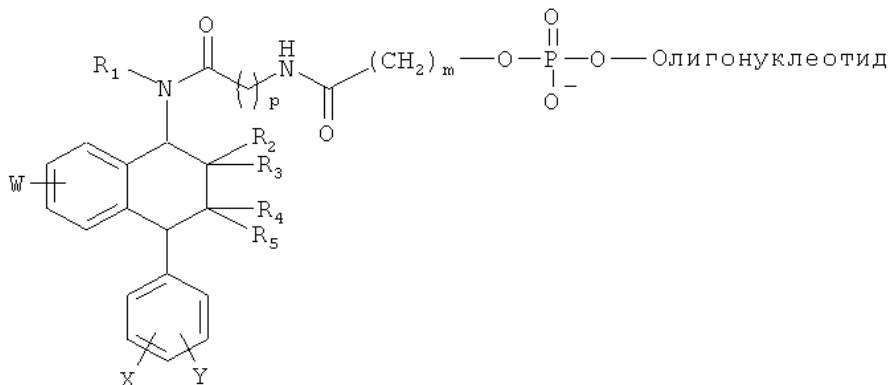
Стр.: 11



и соединение со структурной формулой



53. Способ получения конъюгата со структурной формулой



в которой:

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 and R^5 независимо друг от друга выбраны из водорода и C_1 - C_6 -алкила;

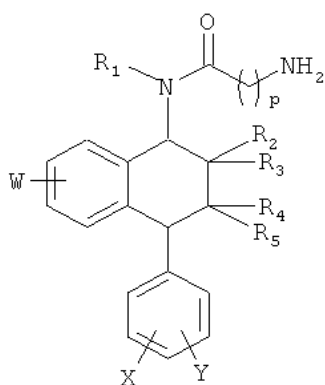
X и Y независимо выбраны из водорода, галогена, C_1 - C_3 -алкила,

C_1 - C_3 -галогеналкила, OR^a и SR^b , где R^a и R^b независимо выбраны из C_1 - C_3 -алкила и C_6 - C_{10} -арила;

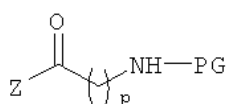
W выбран из водорода, галогена, CN, NO_2 , C_1 - C_3 -алкила, C_1 - C_3 -галогеналкила, NR^cR^d , $SO_2NR^eR^f$, $NR^gSO_2R^h$, CO_2R^i , где R^c , R^d , R^e , R^f , R^g , R^h и R^i независимо выбраны из водорода и C_1 - C_3 -алкила;

n и p выбраны из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 и 13;

включающий реакцию соединения структурной формулы

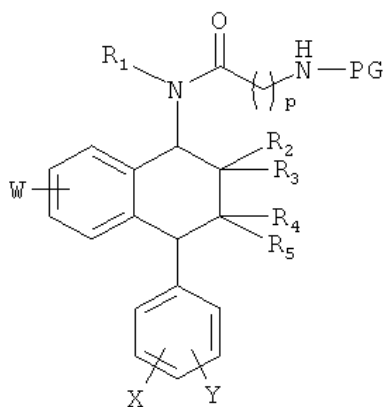


с ацилирующим реагентом формулы (V)



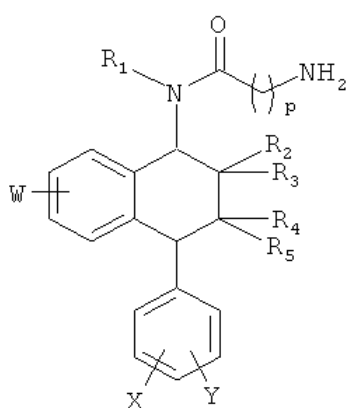
(V)

в которой p имеет вышеуказанное значение, Z представляет собой галоген или OH, PG представляет собой защитную группу для амина, с образованием соединения формулы (VI)



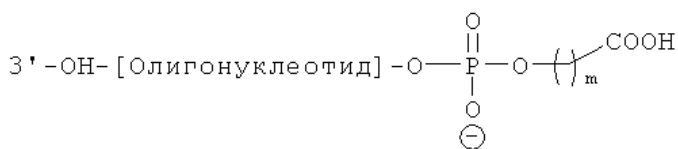
(VI)

удаление аминозащитной группы в соединении формулы (VI) с образованием соединения формулы (VII)



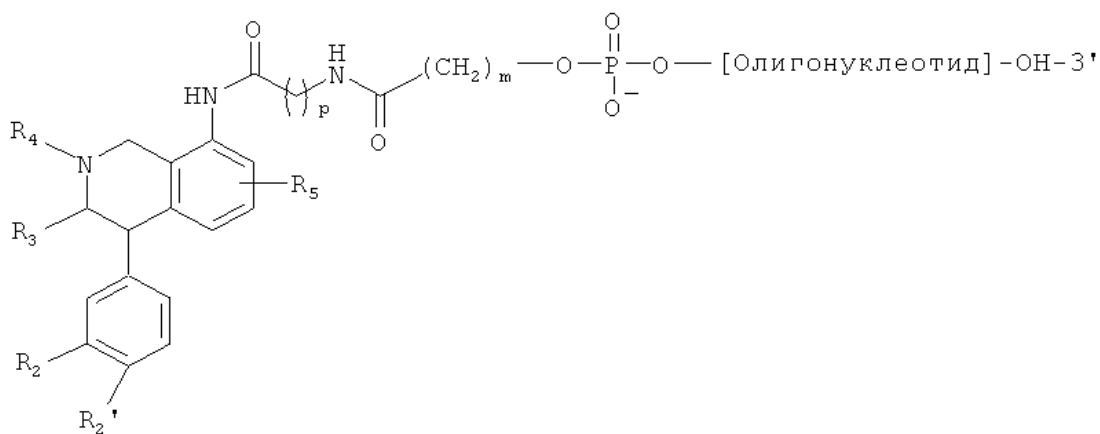
(VII)

и реакцию соединения формулы (VII) с карбокси-модифицированным олигонуклеотидом формулы (X)



(X)

54. Способ получения амидного соединения формулы (XIV)



(XIV)

в которой:

R_1 выбран из водорода, низшей алкильной группы или бензильной группы,

R_2 выбран из водорода, метильной, хлорной или фторной групп,

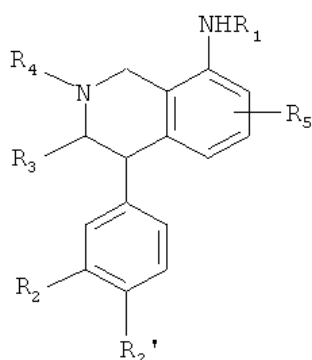
R_2' выбран из водорода, метильной, метокси, гидроксильной и галогенидной групп,

R_3 и R_4 выбраны из водорода и низшей алкильной группы,

R_5 выбран из водорода, хлорной или метокси групп в положении 5 или 6,

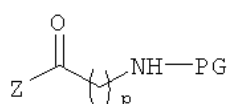
p равно 2-6,

включающий реакцию соединения формулы (XVI)



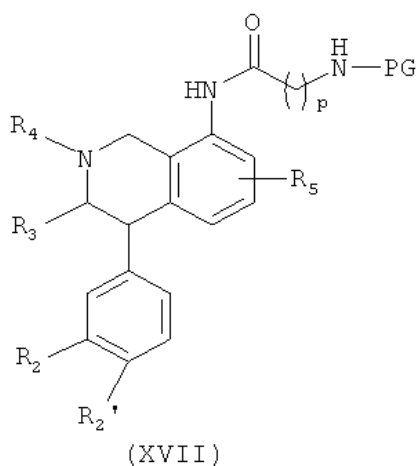
(XVI)

с ацилирующим реагентом формулы (V)

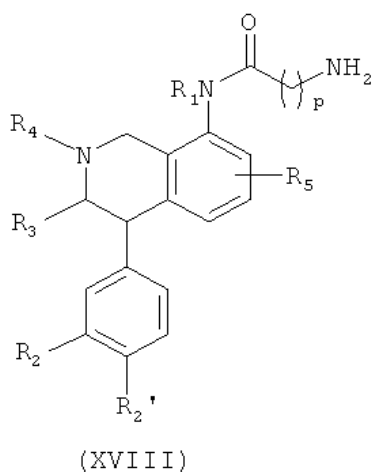


(V)

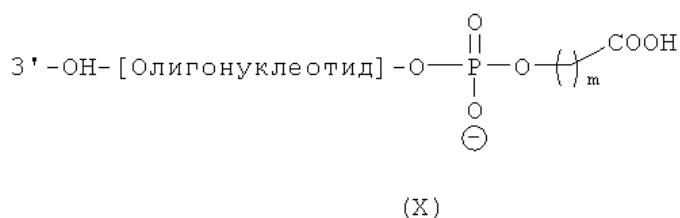
в которой R_1 , R_2 , R_2' , R_3 , R_4 , R_5 и p имеют вышеуказанные значения, Z представляет собой галоген или OH , а PG представляет собой защитную группу для амина, с образованием соединения формулы (XVII)



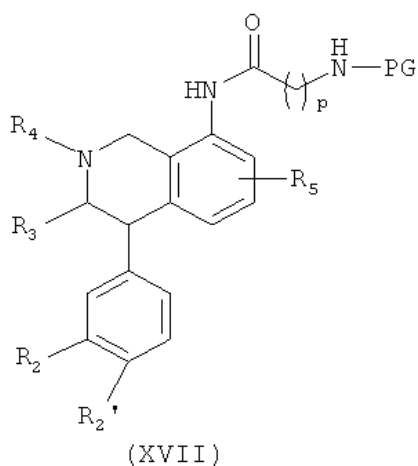
удаление аминозащитной группы в соединении формулы (XVII) с образованием соединения формулы (XVIII)



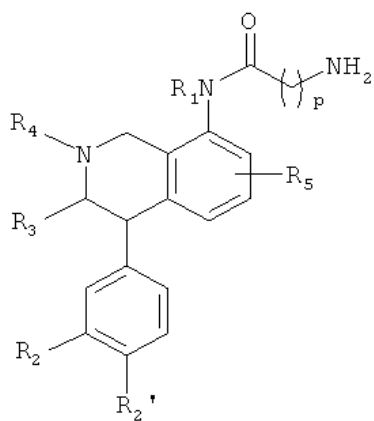
и реакцию соединения формулы (XVIII) с аминомодифицированным олигонуклеотидом формулы (X)



55. Амидные соединения, выбранные из группы, включающей соединение формулы (XVI)

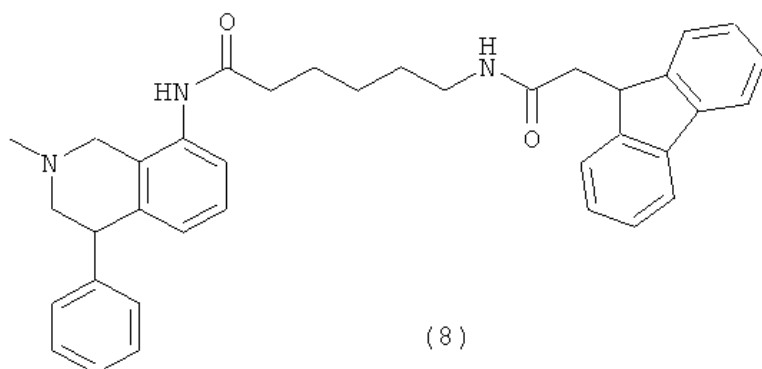


и соединение формулы (XVIII)



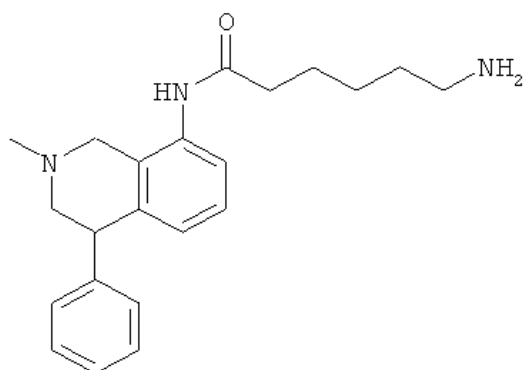
(XVIII)

56. Соединения по п.55, которые выбраны из группы, включающей соединение со структурной формулой



(8)

и соединение со структурной формулой



(3)