



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2016108014, 01.08.2014

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
07.08.2013 DE 10 2013 215 580.8

(43) Дата публикации заявки: 08.09.2017 Бюл. № 25

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 07.03.2016(86) Заявка РСТ:
EP 2014/066620 (01.08.2014)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2015/018757 (12.02.2015)Адрес для переписки:
109012, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО
"Союзпатент"

(71) Заявитель(и):

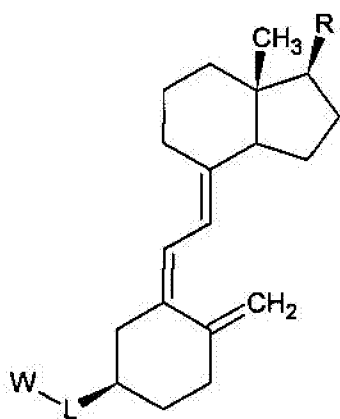
ОРГЕНТЕК ДИАГНОСТИКА ГМБХ (DE)

(72) Автор(ы):

ШОШКИЦ Вукиц (DE),**ПОППЕ Роберт (DE)****(54) ПРОИЗВОДНЫЕ 25-ОН ВИТАМИНА D ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТАБОЛИТОВ ВИТАМИНА D**

(57) Формула изобретения

1. Соединение витамина D со структурой согласно формуле (I):



(I)

где R - C₂-C₁₀ алкил или C₂-C₁₀ алкенил, при необходимости замещенные
гидроксильной группой,

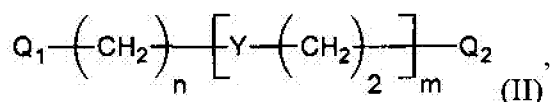
L - линкер,

W - маркирующая группа, не являющаяся соединением витамина D.

2. Соединение по п. 1, в котором линкер содержит цепочку длиной 6-110 атомов,

выбранных из атомов углерода и при необходимости гетероатомов, таких, как N, O и/или S, при этом длина цепочки составляет предпочтительно 8-80, 12-60 или 30-50 атомов.

3. Соединение по п. 1 или 2, в котором структура линкера L соответствует формуле (II):



где

Q2: $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^1-\bullet$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}-\bullet$, $-\text{C}(\text{S})\text{NR}^1-\bullet$, $-\text{C}(\text{S})\text{O}-\bullet$, $-\text{C}(\text{O})\text{S}-\bullet$, $-\text{C}(\text{S})\text{S}-\bullet$,
 $-\text{O}-\bullet$, $-\text{S}-\bullet$, $-\text{NR}^1-\bullet$, $-\text{CH}_2\text{O}-\bullet$, $-\text{CH}_2\text{S}-\bullet$ oder $-\text{CH}_2\text{NR}^1-\bullet$,

Q1: $-\text{C}(\text{O})-\bullet$, $-\text{NR}^2\text{C}(\text{O})-\bullet$, $-\text{NR}^2\text{C}(\text{S})-\bullet$, $-\text{OC}(\text{O})-\bullet$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^2-\bullet$, $-\text{C}(\text{S})\text{NR}^2-\bullet$,
 $-\text{C}(\text{S})-\bullet$, $-\text{OC}(\text{S})-\bullet$, $-\text{SC}(\text{O})-\bullet$, $-\text{SC}(\text{S})-\bullet$, $-\text{O}-\bullet$, $-\text{S}-\bullet$ или $-\text{NR}^2-\bullet$,

Y: $-\text{O}-$ или $-\text{CH}_2-$,

R^1 и R^2 означают независимо друг от друга H или $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил,

$m=1\text{-}30$,

$n=1\text{-}12$,

при этом Q1 связано с группой W; Q2 связано с основным веществом соединения витамина D согласно формуле (I); ($\bullet$) указывает на место связывания Q2 с основным веществом соединения витамина D или на место связывания Q1 с группой W.

4. Соединение по п. 1, в котором биотинил W является флуоресцентной группой или хеоломинесцентной группой.

5. Соединение по п. 3, в котором Y является $-\text{O}-$.

6. Соединение по п. 3, в котором

Q2: $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^1-\bullet$,

Q1: $-\text{C}(\text{O})-\bullet$, $-\text{NR}^2\text{C}(\text{O})-\bullet$, $-\text{OC}(\text{O})-\bullet$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^2-\bullet$, $-\text{O}-\bullet$, $-\text{S}-\bullet$ или $-\text{NR}^2-\bullet$,

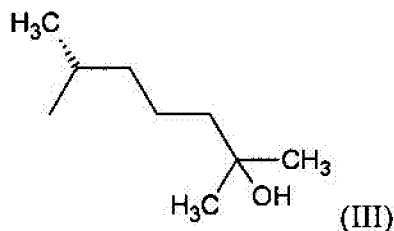
Y: $-\text{O}-$,

R^1 и R^2 означают независимо друг от друга H или $\text{C}_1\text{-C}_6$ алкил, предпочтительно H,

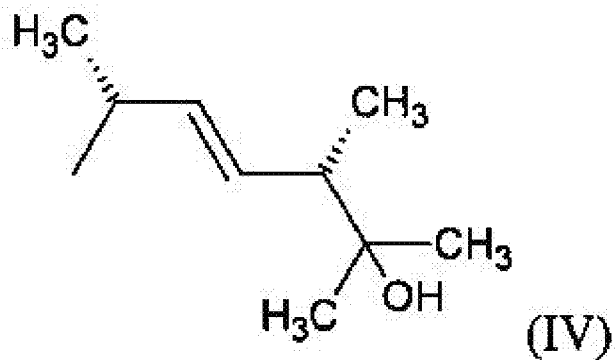
$m=1\text{-}30$,

$n=1\text{-}12$.

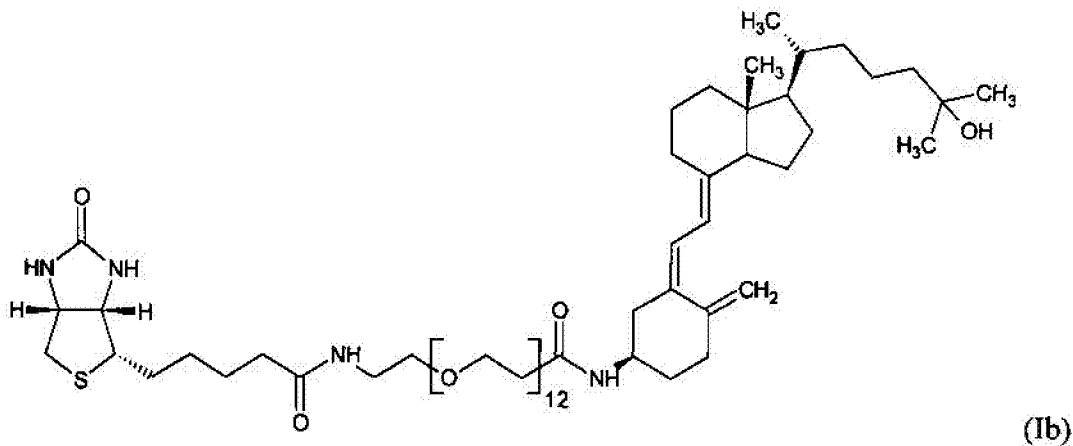
7. Соединение по п. 1, в котором R означает боковую цепочку витамина D, предпочтительно с гидроксильной группой, например, со структурой согласно формуле (III):



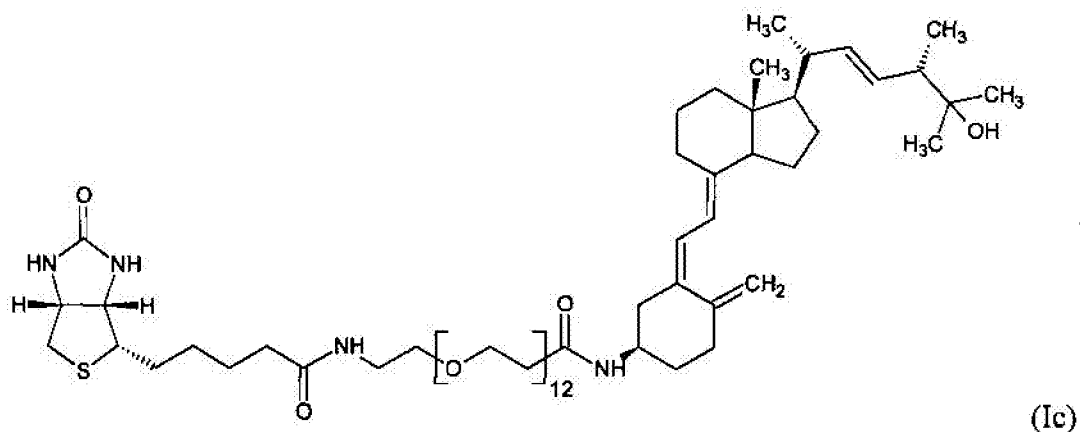
или согласно формуле (IV):



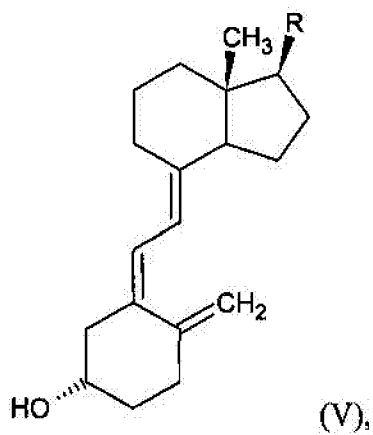
8. Соединение по п. 1 со структурой согласно формуле (Ib):



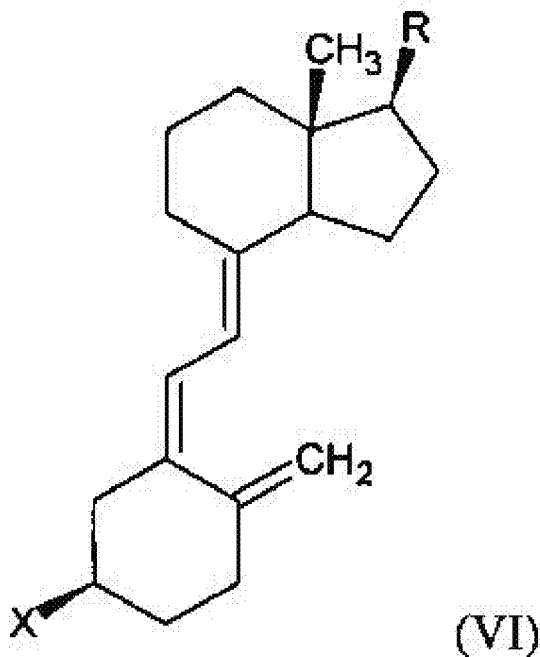
или формуле (Ic):



9. Способ получения соединения по п. 1, включающий в себя следующие этапы: а) проведение нуклеофильного замещения по гидроксильной группе атома С-3 соединения со структурой согласно формуле (V):



где R означает, как указано в любом из пп. 1-7, причем гидроксильная группа замещается при инверсии конфигурации в С-3-стереоцентре группой X для получения соединения со структурой согласно формуле (VI):



где R означает, как указано в любом из пп. 1-7, X означает при необходимости защищенную гидроксильную группу, тиоловую группу или первичную или вторичную аминогруппу,

б) связывание маркирующей группы W, не являющейся соединением витамина D, посредством линкера с группой X соединения со структурой согласно формуле (VI) для получения соединения со структурой согласно формуле (I).

10. Способ *in vitro* для количественного определения витамина D в пробе с применением соединения по любому из пп. 1-8 в качестве индикатора.

11. Способ по п. 10, включающий в себя следующие этапы:

а) приведение в контакт содержащей витамин D пробы с индикатором,

б) количественное определение индикатора в условиях, при которых обнаруженное количество индикатора позволяет сделать вывод об общей концентрации витамина D в пробе.

12. Способ по п. 10 или 11, в котором определение индикатора проводится иммунологическим способом, предпочтительно конкурентным иммунологическим способом.

13. Способ по п. 10, в котором для определения индикатора применяется антитело, специфически распознающее боковую цепочку R, предпочтительно специфически боковую цепочку витамина D3 или витамина D2, содержащую гидроксильную группу на С-25.

14. Способ по п. 10, в котором индикатор добавляют в пробу в количестве, необходимом для задания конечной концентрации этого соединения от 0,2 до 100 нг/мл.

15. Способ по п. 10, в котором исследуемая проба представляет собой биологическую жидкость, выбираемую предпочтительно из крови, сыворотки, плазмы или молока.

16. Способ по п. 10, в котором определяемый витамин D содержит на С-25 гидроксильную группу и выбирается из группы, содержащей: 25-гидроксивитамин D3, 25-гидроксивитамин D2, 1,25-дигидроксивитамин D3, 1,25-дигидроксивитамин D2 и их смеси, при этом витамин D является предпочтительно 25-гидроксивитамином D3 и/или 25-гидроксивитамином D2.

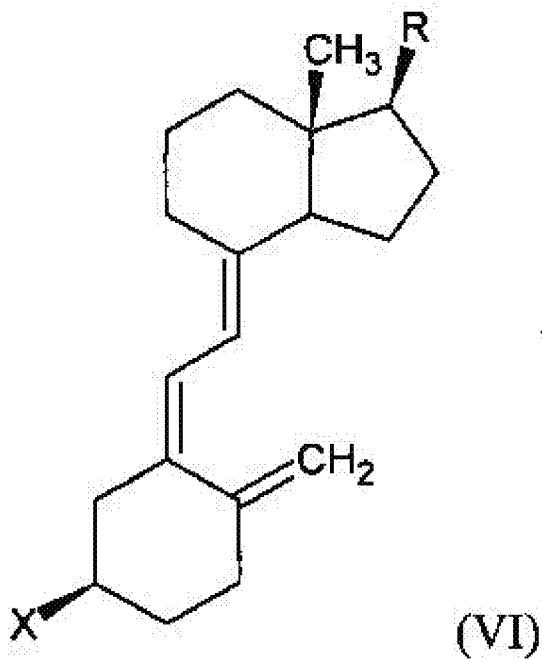
17. Реактив для определения витамина D, содержащий соединение по любому из пп. 1-8.

18. Реактив по п. 17, дополнительно содержащий реактив для высвобождения связанного витамина D и при необходимости разбавители, наполнители, растворители, адъюванты, стабилизаторы, консерванты и/или диспергаторы.

19. Реактив по п. 17 или 18, который находится в сухом или влажном состоянии.

20. Применение соединения по любому из пп. 1-8 или реактива по любому из пунктов 17-19 для определения витамина D, в частности, способом по любому из пп. 10-16.

21. Применение соединения со структурой согласно формуле (VI):



где R означает C_2-C_{10} алкил или C_2-C_{10} алкенил, замещенный при необходимости гидроксильной группой,

X означает NHR^3 , OH или SH,

при этом R^3 означает H или C_1-C_6 алкил,

для получения соединения со структурой согласно формуле (I), формуле (Ia) или формуле (Ic).