

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В
СООТВЕТСТВИИ С ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро

(43) Дата международной публикации
31 мая 2019 (31.05.2019)



(10) Номер международной публикации
WO 2019/103636 A1

- (51) Международная патентная классификация :
A 61B 5/055 (2006.01) A 61K 49/06 (2006.01)
A 61K 49/00 (2006.01) A 61K 49/10 (2006.01)
- (21) Номер международной заявки : PCT/RU20 17/000870
- (22) Дата международной подачи :
21 ноября 2017 (21.11.2017)
- (25) Язык подачи : Русский
- (26) Язык публикации : Русский
- (71) Заявитель : ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "СОЛЬВЕКС " (**SOLVEX
LIMITED LIABILITY COMPANY**) [RU/RU]; Терри -
тория инновационного центра "Сколково ", ул. Нобеля ,
7, пом .77, Москва , 143026, Moscow (RU).
- (72) Изобретатели : ЛЕСИВ , Алексей Валерьевич
(**LESIV, Aleksei Valerievich**); Институтский переулок ,
8а, кв. 27, Долгопрудный , 141700, Dolgoprudny (RU).
ИВАШКИН , Павел Евгеньевич (**IVASHKIN, Pavel
Evgenievich**); Пятницкое шоссе , 37, кв. 96, Москва ,
125430, Moscow (RU). ГУЛЯЕВ , Михаил Владими -
рович (**GULYAEV, Mikhail Vladimirovich**); ул. Ан -
ны Ахматовой , 6, кв. 240, поселение Внуковское ,
Москва , 108811, poselenie Vnukovskoe, Moscow (RU).
ДОРОФЕЕВА , Евгения Олеговна (**DOROFEEVA,
Evgeniya Olegovna**); 2-ой Самотечный переулок , 1, кв.
23, Москва , 127473, Moscow (RU). КОСЕНКОВ , Алек -

сей Викторович (**KOSENKOV, Aleksei Viktorovich**);
ул.Никулинская , 23, корп . 3, кв. 996, Москва , 119602,
Moscow (RU). КИСЕЛЕВСКИЙ , Михаил Валентино -
вич (**KISELEVSKY, Mikhail Valentinovich**); ул. Асее -
ва.6, кв. 38, Москва , 125319, Moscow (RU). ПОЛЫНА -
КОВ , Владимир Иванович (**POLSHAKOV, Vladimir
Ivanovich**); ул. Фотиевой , 7, кв. 135, Москва , 119333,
Moscow (RU).

(74) Агент : КОТЛОВ , Дмитрий Владимирович и др.
(**KOTLOV, Dmitry Vladimirovich et al.**); ООО
"ЦИС "Сколково ", Территория инновационного центра
"Сколково ", 4, офис 402.1, Москва , 143026, Moscow
(RU).

(81) Указанные государства (если не указано иначе, для
каждого вида национальной охраны) : AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP,
KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Указанные государства (если не указано иначе, для
каждого вида региональной охраны) : ARIPO (BW, GH,

(54) **Title:** PREPARATION FOR MAGNETIC RESONANCE DIAGNOSTICS FOR ONCOLOGICAL DISEASES, COMPRISING DEUTERATED 2-AMINO-2-METHYLPROPIONIC ACID AND/OR 2-(N-METHYLAMINO)-2-METHYLPROPIONIC ACID, AND DIAGNOSTIC METHOD USING SAID PREPARATION

(54) Название изобретения : ПРЕПАРАТ ДЛЯ МАГНИТНО -РЕЗОНАНСНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ , СОДЕРЖАЩИЙ ДЕЙТЕРИРОВАННУЮ 2-АМИНО -2-МЕТИЛПРОПИОНОВУЮ КИСЛОТУ И/ИЛИ 2-(N-МЕТИЛАМИНО)-2-МЕТИЛПРОПИОНОВУЮ КИСЛОТУ И СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭТОГО ПРЕПАРАТА

(57) **Abstract:** The invention relates to medicine, particularly to agents for magnetic resonance diagnostics for oncological diseases. Developed for this purpose are a diagnostic preparation and a diagnostic method based on using said diagnostic preparation, in which a deuterated derivative of 2-amino-2-methylpropionic acid or 2-(N-methylamino)-2-methylpropionic acid and/or a pharmaceutically acceptable salt thereof, or a mixture of at least two deuterated derivatives of 2-amino-2-methylpropionic acid and/or 2-(N-methylamino)-2-methylpropionic acid and/or the pharmaceutically acceptable salt thereof is used as said preparation. The method according to the invention includes conducting magnetic resonance imaging and/or magnetic resonance spectroscopy on deuterium nuclei at a time after administration of the diagnostic preparation sufficient for the diagnostic preparation to accumulate in the tumor tissue of a subject in order to produce a magnetic resonance image and/or a magnetic resonance spectrum accordingly. The proposed method enables a highly informed diagnosis of oncological diseases.

(57) Реферат : Изобретение относится к медицине , а именно к средствам для магнитно -резонансной диагностики онкологиче - ских заболеваний . Для этого разработан диагностический препарат и способ диагностики , основанный на использовании ди - агностического препарата , в качестве которого используют дейтерированное производное 2-амино -2-метилпропионовой кис - лоты или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли , или смесь , по мень - шей мере , двух дейтерированных производных 2-амино -2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропи - оновой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли . Способ по изобретению включает проведение магнитно -резо - нансной томографии и/или магнитно -резонансной спектроскопии на ядрах дейтерия после введения диагностического препа - рата через время , достаточное для накопления диагностического препарата в опухолевой ткани субъекта для получения , со - ответственно , МР-изображения и/или МР-спектра . Предложенный способ позволяет с высокой информативностью осущест - влять диагностику онкологических заболеваний .

GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), **евразийский** (AM, A Z , BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), **европейский патент** (AL, AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT,
LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE,
SI, SK, SM, TR), **О API** (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Опубликована :
— с отчётом о международном поиске (статья 21.3)

Препарат для магнитно -резонансной диагностики онкологических заболеваний , содержащий дейтерированную 2-амино -2- метилпропионовую кислоту и/или 2-(11-метиламино)-2- метилпропионовую кислоту , и способ диагностики с использованием этого препарата

5 Область техники

Изобретение относится к медицине , а именно к средствам для магнитно -резонансной диагностики онкологических заболеваний .

Уровень техники

10 Диагностика онкологических заболеваний , в том числе ранняя диагностика , является приоритетным направлением в здравоохранении . Одним из информативных методов диагностики таких заболеваний является магнитно -резонансная томография (МРТ).

Большинство разновидностей МРТ , применяемых в клинической практике , основано на регистрации сигнала магнитного резонанса протонов (ядер ^1H), входящих в состав воды в организме человека . ^1H МРТ обеспечивает высокую степень анатомической детализации и во многих случаях позволяет обнаружить области с аномальным сигналом , отвечающие новообразованиям . В то же время , из клинической практики известно , что МРТ не всегда в состоянии отличить злокачественные новообразования от доброкачественных , не требующих срочного лечения (низкая специфичность метода). В связи с этим также затруднена ранняя диагностика онкологических заболеваний , так как высок риск ложноположительного результата .

Основной метод повышения информативности ^1H МРТ - использование контрастных агентов , изменяющих параметры сигнала в своем окружении [Topics in Current Chemistry, Contrast Agents I, Magnetic Resonance Imaging, Editors: Krause, Werner, 25 2002]. Известен широкий круг контрастных препаратов , использующихся в МРТ диагностике , включая коммерчески доступные Omniscan[®], Magnevist[®], ProHance[®] и Clariscan[®], представляющие собой комплексы гадолиния , а также Feridex[®] и Resovist[®], представляющие собой водные суспензии стабилизированных магнитных наночастиц . Эти вещества вводятся в кровь пациента и позволяют оценивать степень кровоснабжения областей с подозрением на злокачественное образование .

Альтернативой проведения ^1H МРТ с контрастными агентами является регистрация сигнала других ядер , в частности , ^{31}P , ^{13}C , ^{19}F , ^2H , ^{23}Na . Одним из таких ядер является дейтерий (^2H). Это нерадиоактивный изотоп водорода , природное содержание

которого в биологических объектах составляет 0.0156%, а чувствительность в несколько раз ниже, чем у протона.

К настоящему моменту описано несколько случаев применения ^2H ЯМР и/или ^2H MPT *in vivo*. В документе US2003021 1036 A1 был предложен способ измерения перфузии опухолевых тканей с помощью изотопно меченых соединений, включая дейтерированные соединения.

В документе US5042488 была показана возможность регистрации фонового сигнала дейтерия, а также сигнала дейтерия после инъекции D_2O и 1-дейтеро-глюкозы *in vivo* (в печени крысы). Отмечается, что изобретение также может быть осуществлено с использованием других меченых дейтерием индикаторов кровотока.

В документе US201 00322865 A1 описывается применение метаболитических прекурсоров воды для оценки скорости метаболизма путем проведения ^2H MPT. В качестве примера метаболитического предшественника HOD приводится 1,2,3,4,5,6,6-дейтерированная глюкоза. В рамках описанного изобретения осуществляется регистрация только ЯМР сигналов на дейтерии метаболитической воды и алифатической цепи жирных кислот, и отсутствуют ЯМР сигналы дейтерированной глюкозы.

Ни одна из приведенных выше методик не используется на практике для диагностики онкологических заболеваний, в том числе из-за необходимости использования очень больших доз маркерных соединений.

Несмотря на существующие методики проведения диагностики заболеваний с помощью MPT, существует потребность в разработке новых более эффективных подходов для проведения MPT-диагностики онкологических заболеваний.

Раскрытие изобретения

Задачей данного изобретения является разработка нового эффективного диагностического препарата для диагностики онкологических заболеваний посредством MPT и/или МР-спектроскопии и способа диагностики, включающего использование указанного препарата.

Технический результат данного изобретения заключается в создании нового и эффективного диагностического препарата, который может использоваться в диагностике онкологических заболеваний, в частности, рака молочной железы, глиомы. Техническим результатом настоящего изобретения также является разработка нового эффективного и информативного способа диагностики онкологического заболевания методом магнитно-резонансной томографии и/или магнитно-резонансной спектроскопии на ядрах дейтерия, включающего введение

диагностического препарата по изобретению, который способен накапливаться в опухолевой ткани в концентрации, достаточной для регистрации информативной дейтериевой томограммы или ^2H -ЯМР спектра *in vivo*.

5 Диагностический препарат по изобретению характеризуется тем, что в нем реализуется сочетание таких факторов как высокое содержание атомов дейтерия в препарате, его способности накапливаться в опухоли за приемлемое время в концентрации, достаточной для проведения диагностики, характеризующейся при этом низкой токсичности, практически полным выведением из организма в неизменном виде. Это позволяет проводить диагностику, в том числе многократную, с использованием безвредных для организма дозировок препарата.

Способ по изобретению также характеризуется тем, что осуществляется без вредного воздействия ионизирующего излучения (характерного, например, для методов КТ, ПЭТ, ОФЭКТ), что в свою очередь повышает безопасность исследований, делает возможным проведение более частых повторных исследований, в частности делает метод привлекательным для педиатрии. Изобретение также направлено на получение диагностической информации, сходной с методом позитронно-эмиссионной томографии, но, в отличие от последнего, позволяет устранить риски, связанные с ионизирующим излучением радиофармпрепаратов.

20 Данный технический результат обеспечивается за счет разработки диагностического препарата, включающего дейтерированное производное 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемую соль или смесь, по меньшей мере, двух разных дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 25 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемую соль, для диагностики онкологических заболеваний методом магнитно-резонансной томографии и/или магнитно-резонансной спектроскопии на ядрах дейтерия.

В частных вариантах воплощения изобретения диагностический препарат 30 дополнительно включает, по меньшей мере, одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. В частных вариантах воплощения изобретения фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество представляет собой носитель, наполнитель и/или растворитель.

В частных вариантах воплощения изобретения дейтерированное производное 35 2-амино-2-метилпропионовой кислоты представляет собой 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовую кислоту или 2-амино-2-(C_2D_5)-3,3,3- D_3 -пропионовую кислоту или 2-амино-2-

(CDH₂)-3,3,3-D₃-проппоНОВура кислоту или 2-амино -2-метил -3,3,3-0₃-пропионовую кислоту или 2-амино -2-(CD₂H)-3,3,3-0₂-пропионовую кислоту или 2-амННО-2-(CDH₂)-3,3-D₂-пропионовую кислоту или 2-амино -2-метил -3,3,3-0₂-пропионовую кислоту или 2-амино -2-(CDH₂)-3-D-проппоНОВуК> кислоту или 2-амино -2-метил -3-0- пропионовую кислоту .

5 В частных вариантах воплощения изобретения дейтерированное производное 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты представляет собой 2-(N-метиламино)-2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовую кислоту или 2-(1\1-(CD₃)амино)-2- метилпропионовую кислоту или 2-(N-(CD₃)амино)-2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовую кислоту .

10 В частных вариантах воплощения изобретения диагностический препарат по изобретению включает смесь , по меньшей мере , двух разных дейтерированных производных 2-амино -2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(1\4-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты , выбранных из 2-амино -2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты и/или 2-амино -2-(CD₂H)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты и/или 2-амино -2-(CD₂H)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты и/или 2-амино -2-метил -3,3,3-0₃-пропионовой
15 кислоты и/или 2-амино -2-(CD₂H)-3,3,3-0₂-пропионовой кислоты и/или 2-амино -2-(CDH₂)-3,3,3-0₂-пропионовой кислоты и/или 2-амино -2-метил -3,3,3-0₂-пропионовой кислоты и/или 2-амино -2-(CDH₂)-3-0- пропионовой кислоты или 2-амино -2-метил -3-0-пропионовой кислоты и/или 2-метиламино -2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты и/или 2-(N-(CD₃)амино)-2- метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-(CD₃)амННО)-2-(CD₃)-
20 3,3,3-0₃-пропионовой кислоты .

В частных вариантах воплощения изобретения диагностический препарат по изобретению дополнительно включает недейтерированную 2-амино -2-метилпропионовую кислоту или 2-(1\4-метиламино)-2- метилпропионовую кислоту .

25 В частных вариантах воплощения изобретения дейтерированное производное 2-амино -2- метилпропионовой кислоты или 2-(1\4-метиламино)-2- метилпропионовой кислоты наряду с атомами дейтерия , связанными с атомами углерода , содержат атомы дейтерия , частично или полностью замещающие подвижные атомы водорода , связанные с атомами кислорода и/или азота .

30 Изобретение также включает получение диагностического препарата по изобретению .

Достижение указанного технического результата обеспечивается при осуществлении способа диагностики онкологического заболевания у субъекта , включающего следующие этапы :

а) вводят субъекту диагностический препарат по изобретению ;

- 5 б) проводят магнитно -резонансную томографию и/или магнитно -резонансную спектроскопию на ядрах дейтерия после введения диагностического препарата через время , достаточное для накопления дейтерированного производного 2-амино -2- метилпропионовой кислоты и/или 2-(1⁴-метиламино)-2- метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли или смеси , по меньшей мере , двух разных дейтерированных производных 2-амино -2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2- метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли в опухолевой ткани , для получения , соответственно , дейтериевой томограммы и/или ЯМР спектра ;
- 10 в) диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании наблюдаемой интенсивности сигнала ядер дейтерия , отражающей уровень накопления дейтерированного производного 2-амино -2- метилпропионовой кислоты и/или 2-(1⁴-метиламино)-2- метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли или смеси , по меньшей
- 15 мере , двух разных дейтерированных производных 2-амино -2- метилпропионовой кислоты и/или 2-(1⁴-метиламино)-2- метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли .

В частных вариантах воплощения изобретения в случае отсутствия областей накопления диагностического препарата у субъекта диагностируют отсутствие

20 онкологического заболевания .

В частных вариантах воплощения изобретения предварительно проводят , по меньшей мере , одно дополнительное медицинское исследование , выбранное из магнитно -резонансной томографии на ядрах , отличных от ядер дейтерия , ультразвукового исследования , компьютерной томографии , рентгенографии ,

25 пальпации , биопсии , анализа биологических жидкостей на онкомаркеры , радионуклидной диагностики и/или визуального наблюдения .

В частных вариантах воплощения изобретения диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения интенсивности сигнала ядер дейтерия с типичной интенсивностью сигнала , наблюдаемой у

30 здоровых субъектов в соответствующей ткани или соответствующем органе .

В частных вариантах воплощения изобретения диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения интенсивности сигнала ядер дейтерия в областях , соответствующих нормальной и аномальной ткани по данным дополнительных медицинских методов исследования .

В частных вариантах воплощения изобретения диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения дейтериевой томограммы с изображением, полученным в результате МРТ на ядрах протия.

5 В частных вариантах воплощения изобретения на основании наблюдаемой интенсивности сигнала ядер дейтерия делается вывод о структуре, злокачественности, агрессивности или степени дифференциации опухоли.

В частном варианте воплощения изобретения диагностируемое онкологическое заболевание представляет собой рак молочной железы, глиому.

10 В частных вариантах воплощения изобретения при регистрации дейтериевой томограммы используется селективное возбуждение ядер дейтерия, входящих в состав дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(¹N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли, или смеси дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(¹N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты
15 и/или его фармацевтически приемлемой соли.

В частных вариантах воплощения изобретения при регистрации дейтериевой томограммы используется широкополосное возбуждение ядер дейтерия, входящих в состав дейтерированной производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли, или смеси дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты
20 и/или его фармацевтически приемлемой соли.

В частных вариантах воплощения изобретения диагностический препарат вводят субъекту перорально.

25 В других частных вариантах воплощения изобретения диагностический препарат вводят субъекту парентерально.

В частных вариантах воплощения изобретения магнитно-резонансную томографию и/или магнитно-резонансную спектроскопию на ядрах дейтерия проводят через 20-360 минут после введения диагностического препарата.

30 В частных вариантах воплощения изобретения диагностический препарат вводят субъекту в количестве, соответствующем 0.25-1 г дейтерированного производного 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(¹N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли, или смеси дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-

метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли на 1 кг массы тела субъекта

Изобретение также включает применение диагностического препарата по изобретению для диагностики онкологического заболевания посредством магнитно -
5 резонансной томографии и/или магнитно -резонансной спектроскопии на ядрах дейтерия .

Краткое описание чертежей

Фигура 1. ^2H спектр образца с 2-амино -2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовой кислотой ;

Фигура 2. Дейтериевая томограмма образца , содержащего разбавленный раствор
10 дейтерированного диагностического препарата : (а) широкополосное возбуждение ; (б) селективное возбуждение на частоте 2-амино -2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовой кислотой ;

Фигура 3. Томограммы мыши №1 с карциномой молочной железы 4Т1 через 40 мин после введения 20 мг 2-амино -2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовой кислоты :

- а) ^2H МРТ (положение поверхностной катушки показано белым контуром) ;
15 б) ^1H МРТ ;
в) комбинированная томограмма .

Фигура 4. Томограммы мыши №2 без опухоли через 40 мин после введения 20 мг 2-амино -2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовой кислоты :

- а) ^2H МРТ ;
20 б) ^1H МРТ ;

Фигура 5. Томограммы мыши №3 с карциномой молочной железы 4Т1 через 115 мин после введения 20 мг 2-амино -2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовой кислоты :

- а) ^2H МРТ ;
б) ^1H МРТ ;
25 в) комбинированная томограмма .

Фигура 6. ^2H томограмма (а) и фотография (б) опухоли , извлеченной из мыши №3 через 150 минут после введения 20 мг 2-амино -2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовой кислоты .

Фигура 7. Томограммы мышцы N°4 с карциномой молочной железы 4T1 через 20 мин после введения 20 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты :

а) ²И МРТ ;

б) ¹Н МРТ ;

5 в) комбинированная томограмма .

Фигура 8. Томограммы мышцы N°4 с карциномой молочной железы 4T1 через 360 мин после введения 20 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты :

а) ²Н МРТ ;

б) ¹Н МРТ ;

10 в) комбинированная томограмма .

Фигура 9. Томограммы мышцы N°5 с карциномой молочной железы 4T1 через 30 мин после введения 10 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты :

а) ²Н МРТ ;

б) ¹Н МРТ ;

15 в) комбинированная томограмма .

Фигура 10. Томограммы мышцы N°6 с карциномой молочной железы 4T1 через 30 мин после введения 5 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты :

а) ²Н МРТ ;

б) ¹Н МРТ ;

20 в) комбинированная томограмма .

Фигура 11. Томограммы крысы с глиомой С6 через 3 часа после введения 150 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты :

а) ²Н МРТ ;

б) ¹Н МРТ ;

25 в) комбинированная томограмма .

Фигура 12. Томограммы контрольной крысы без опухоли через 3 часа после введения 150 мг 2-амино -2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты :

а) ²I МРТ ;

б) ¹H МРТ ;

5 в) комбинированная томограмма .

Определения и термины

Для лучшего понимания настоящего изобретения ниже приведены некоторые термины , использованные в настоящем описании изобретения .

10 В описании данного изобретения термины «включает » и «включающий » интерпретируются как означающие «включает , помимо всего прочего » . Указанные термины не предназначены для того , чтобы их истолковывали как «состоит только из» .

15 Под термином «дейтерированное производное » в данном документе понимается соединение , содержащее дейтерий , связанный с углеродом , в количестве , превышающем его природное содержание , по меньшей мере , в одном положении . В частных случаях воплощения изобретения содержание дейтерия , по меньшей мере , в одном положении , превышает 30%, в других частных случаях - 90%. Под «смесью , по меньшей мере , двух разных дейтерированных производных » понимается смесь соединений , содержащих дейтерий в разных положениях , или содержащих разное количество дейтерия в одном и том же положении . Символом «D» в данном документе
20 обозначается атом водорода , представленный изотопом ²H в доле , превышающей его природное содержание .

Под термином «воксел » в данном документе понимается произвольно выбираемый путем настройки параметров магнитного поля объем образца , в котором производится регистрация сигнала ядерного магнитного резонанса .

25 Используемый здесь термин «фармацевтически приемлемая соль » относится к таким солям , которые , в рамках проведенного медицинского заключения , пригодны для использования в контакте с тканями человека и животных без излишней токсичности , раздражения , аллергической реакции и т.д. , и отвечают разумному соотношению пользы и риска . Фармацевтически приемлемые соли аминов , карбоновых кислот , фосфонатов и
30 другие типы соединений хорошо известны в медицине . Соли могут быть получены *in situ* в процессе выделения или очистки соединений изобретения , а также могут быть получены отдельно , путем взаимодействия свободной кислоты или свободного основания соединения изобретения с подходящим основанием или кислотой , соответственно . Примером фармацевтически приемлемых , нетоксичных солей кислот могут служить соли

аминогруппы , образованные неорганическими кислотами , такими как соляная , бромоводородная , фосфорная , серная и хлорная кислоты , или органическими кислотами , такими как уксусная , щавелевая , малеиновая , винная , янтарная или малоновая кислоты , или полученные другими методами , используемыми в данной области , например , с

5 помощью ионного обмена . К другим фармацевтически приемлемым солям относятся адипинат , альгинат , аскорбат , аспартат , бензолсульфонат , бензоат , бисульфат , борат , бутират , камфорат , камфорсульфонат , цитрат , циклопентанпропионат , диглюконат , додецилсульфат , этансульфонат , формиат , фумарат , глюкогептонат , глицерофосфат , глюконат , гемисульфат , гептанат , гексанат , гидройодид , 2-гидрокси -этансульфонат ,

10 лактобионат , лактат , лаурат , лаурил сульфат , 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 , п-толуолсульфонат , ундеканат , валериат и подобные . Типичные соли щелочных и щелочноземельных металлов содержат натрий , литий , калий ,

15 кальций , магний и другие . Кроме того , фармацевтически приемлемые соли могут содержать , если требуется , нетоксичные катионы аммония , четвертичного аммония и амина , полученные с использованием таких противоионов , как галогениды , гидроксиды , карбоксилаты , сульфаты , фосфаты , нитраты , низшие алкил сульфонаты и арил сульфонаты .

20 Диагностический препарат по изобретению может включать один или несколько любых фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ , подходящих для конкретной формы дозирования , в частности , любых носителей , растворителей и/или наполнителей , таких , которые могут быть введены в организм пациента совместно с соединением , составляющем суть данного изобретения , и которые не разрушают эти

25 соединения , и являются нетоксичными при введении .

Подробное раскрытие изобретения .

Для успешной реализации диагностики онкологического заболевания с помощью ^2H МРТ или ^2H ЯМР необходимо создание достаточно высокой

30 концентрации дейтерия в опухолевой ткани . Чтобы удовлетворить этому критерию , диагностический препарат должен :

- 1) быстро и избирательно накапливаться в опухолевой ткани (в частности , необходимо наличие достаточно эффективного механизма мембранного транспорта);

- 2) характеризоваться достаточно медленным выведением (обеспечивает достаточное время для накопления больших количеств препарата в опухоли , а также для продолжительной регистрации ^2H томограмм ;
- 3) не подвергаться существенному метаболизму (минимизирует возможные побочные эффекты , в том числе от включения дейтерия в биомолекулы и позволяет проводить повторную диагностику спустя несколько дней после введения препарата , без изменения фонового сигнала опухоли);
- 4) обладать низкой токсичностью в требуемой концентрации (делает возможным введение достаточно больших доз препарата);
- 5) содержать большое количество дейтерия (необходимо для достижения достаточной интенсивности сигнала).

Авторами данного изобретения было неожиданно обнаружено , что дейтерированное производное 2-амино -2- метилпропионовой кислоты и/или 2-(N- метиламино)-2- метилпропионовой кислоты по изобретению способно накапливаться в опухолевой ткани в концентрации , достаточной для визуализации опухолей *in vivo* методом ^2H МРТ или ^2H ЯМР , что в свою очередь позволяет осуществлять эффективную диагностику онкологических заболеваний посредством магнитно - резонансной томографии на ядрах дейтерия .

Благодаря низкому содержанию дейтерия в организме (0.015% атомов водорода), фоновые сигналы в ^2H МРТ на несколько порядков ниже , чем в ^1H МРТ . Таким образом , даже в низкой концентрации диагностического препарата его сигнал не накладывается на сигналы естественных фоновых компонентов . Разработка аналогичных методов с использованием недейтерированных диагностических препаратов на основе ^1H МРТ затруднена из-за существования большого количества фоновых сигналов естественных низкомолекулярных соединений с интенсивностью , сравнимой с максимальной достижимой интенсивностью сигнала недейтерированного диагностического препарата . В то же время , присутствие фонового сигнала дейтерия накладывает ограничения на минимальную приемлемую для ^2H МРТ концентрацию диагностического препарата в опухоли . Возможность практической реализации метода диагностики по изобретению зависит от фармакокинетики и фармакодинамики конкретного диагностического препарата .

Возможность регистрации сигнала дейтерия *in vivo* также определяется достаточным числом атомов дейтерия в структуре соединения . Так , диагностический препарат , включающий дейтерированное производное 2-амино -2- метилпропионовой кислоты и/или 2-(1 1 -метиламино)-2- метилпропионовой кислоты , содержащее одну или более CD_3 группы , является предпочтительным вариантом воплощения данного изобретения . Наличие таких групп позволяет проводить диагностику с использованием

более низких доз диагностического препарата , что приводит к минимизации побочных эффектов .

Способ по изобретению позволяет диагностировать , в частности , наличие или отсутствие онкологического заболевания . Метод по изобретению основан на
5 использовании дейтерированного диагностического препарата и регистрации томограмм и/или ЯМР спектров на частоте дейтерия .

Известно , что ^1H МРТ сама по себе во многих случаях обладает недостаточной диагностической точностью , в то время как способ по изобретению предоставляет данные о молекулярном транспорте 2-амино -2-метилпропионовой
10 кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты , недоступные в традиционных способах воплощения ^1H МРТ , и таким образом , потенциально позволяет получить более точную диагностическую информацию .

В одном из вариантов воплощения изобретения процесс диагностики включает проведение МРТ и осуществляется следующим образом :

а) в некоторых вариантах воплощения изобретения проводится МРТ на ядрах
15 протия (^1H). Регистрация ^1H МРТ позволяет , во-первых , осуществить анатомическую привязку дейтериевого сигнала , во-вторых , идентифицировать области с подозрением на злокачественное образование (в других вариантах воплощения изобретения определение области проведения ^2H МРТ может быть осуществлено другими способами ,
20 в частности , посредством ультразвукового исследования , компьютерной томографии , рентгенографии , пальпации , биопсии , анализа биологических жидкостей на онкомаркеры , радионуклидной диагностики и/или визуального наблюдения) ;

б) вводится диагностический препарат ;

в) через время , достаточное для накопления диагностического препарата в
25 опухолевой ткани субъекта проводится регистрация томограммы на частоте прецессии ядер дейтерия диагностического препарата ;

г) полученные дейтериевые томограммы анализируется с целью нахождения участков с аномально высокой интенсивностью и , следовательно , отвечающих
накоплению диагностического препарата . В частности , возможно сравнение томограмм ,
30 полученных на ^1H и на ^2H : если аномальные участки на ^1H и ^2H совпадают , можно говорить о большей вероятности наличия злокачественного образования . Тем не менее , наличие аномалии на ^1H томограмме не является обязательным условием : могут существовать ситуации , когда новообразование не проявляется на томограмме ,
полученной посредством ^1H МРТ , в то время как наблюдается накопление
35 диагностического препарата на томограмме , полученной посредством ^2H МРТ . В

последнем случае ^1H МРТ служит только для анатомической привязки подозрительного участка .

В другом варианте воплощения изобретения процесс диагностики включает проведение ЯМР спектроскопии на ядрах дейтерия и осуществляется следующим образом :

а) проводится ^1H МРТ, в результате чего идентифицируются области с подозрением на злокачественное образование (в других вариантах воплощения изобретения определение области проведения ^2H МРТ может быть осуществлено другими способами, в частности, посредством ультразвукового исследования, компьютерной томографии, рентгенографии, пальпации, биопсии, анализа биологических жидкостей на онкомаркеры, радионуклидной диагностики и/или визуального наблюдения);

б) вводится диагностический препарат ;

в) через время, достаточное для накопления диагностического препарата в опухолевой ткани субъекта в вокселях, соответствующих области с подозрением на злокачественное образование (например, по результатам ^1H МРТ), проводится регистрация спектра дейтерия (в частности, с использованием локальной спектроскопии); опционально проводится регистрация спектра в соседних вокселях для сравнения интенсивности сигнала ; в частных вариантах воплощения спектроскопия может проводиться с использованием передающих, приемно-передающих, объемных, имплантных, поверхностных катушек ;

г) интенсивность сигнала в вокселях, соответствующих области с подозрением на злокачественное образование, сравнивается, в частности, с: (i) типичными значениями для данной ткани (которые должны быть определены предварительно на здоровых субъектах) и/или (ii) интенсивностью в соседних вокселях, соответствующих тому же органу или ткани и свободных от аномалий по данным ^1H МРТ. Повышенная интенсивность сигнала позволяет говорить о накоплении диагностического препарата и, как следствие, о наличии злокачественного новообразования .

Порядок этапов а), б), в) в обоих вышеуказанных вариантах воплощения изобретения может быть другим, например, можно ввести диагностический препарат, провести ^1H МРТ, затем провести ^2H МРТ или ^2H ЯМР спектроскопию ; или провести ^1H МРТ после проведения ^2H МРТ или ^2H ЯМР спектроскопии .

В частных случаях воплощения изобретения после идентификации области с подозрением на злокачественное образование выбираются отдельные воксели ,

лежащие как в пределах , так и за пределами подозрительной области (в частности , может быть выбрана серия соседних вокселей , лежащих на одной линии , пересекающей границу подозрительной области). Регистрация интегрального сигнала ^2H или ^2H спектров в выбранных вокселях с последующим сравнением их интенсивности позволяет быстро и с большей чувствительностью обнаруживать области накопления диагностического препарата .

MPT изображения и МР спектры могут быть получены на любом магнитно - резонансном томографе , оснащенном оборудованием для регистрации сигнала дейтерия .

В частных случаях воплощения изобретения использование диагностического препарата , дающего сигнал в области , свободной от фонового сигнала HOD, позволяет проводить MPT с применением селективного возбуждающего импульса , настроенного на частоту диагностического препарата . Это позволяет избавиться от фонового сигнала HOD на томограмме .

Благодаря использованию молекулярных механизмов транспорта и накопления диагностического препарата по изобретению в клетках , способ по изобретению позволяет производить оценку метаболической активности исследуемой ткани , и , как следствие , оценивать злокачественность или агрессивность опухолевой ткани . Таким образом увеличивается диагностический потенциал метода по сравнению с традиционной ^1H магнитно - резонансной томографией , а также методами MPT , основанными на оценке перфузии (в том числе , с контрастными агентами).

Сигнал диагностического препарата по изобретению может регистрироваться до 6 часов после введения , причем распределение препарата в опухоли и других органах меняется на протяжении всего этого времени . Так , сигнал диагностического препарата в первую очередь проявляется в печени и почках , затем в отдельных областях опухоли , вероятно , соответствующих областям наиболее активного роста и с наилучшим кровоснабжением . Максимум сигнала дейтерия во всем объеме опухоли при внутрибрюшинном введении наблюдается спустя два часа , в дальнейшем характер распределения диагностического препарата продолжает меняться . Благодаря такому поведению , повторное проведение томографии на протяжении нескольких часов после введения диагностического препарата по изобретению позволяет получать информацию как о скорости его мембранного транспорта , так и об уровне перфузии в разных частях опухоли , что , в свою очередь , дает информацию о строении и типе опухоли .

Проведенные исследования свидетельствуют о селективности накопления препарата по изобретению в опухолевой ткани по сравнению с мозгом, скелетными мышцами и другими органами и тканями в приемлемых для ^2H МРТ дозах.

Известно, что 2-амино-2-метилпропионовая кислота и 2-(1 4 -метиламино)-2-метилпропионовая кислота являются непротеиногенными аминокислотами, таким образом, их использование не приводит к долгосрочной фиксации дейтерия в составе белков. 2-Амино-2-метилпропионовая кислота и 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовая кислота не метаболизируются с образованием дейтерированных кофакторов или других метаболитов, участвующих в базовых биохимических процессах. Из уровня техники известно, что присутствие дейтерия может существенно изменять скорости энзиматических реакций, что, в свою очередь, может приводить к накоплению токсичных интермедиатов и к другим нежелательным изменениям метаболизма. Таким образом, отсутствие метаболизма диагностического препарата по изобретению является фактором, снижающим вероятность развития побочных эффектов. Проведенные эксперименты показали отсутствие метаболических превращений диагностического препарата (отсутствие новых сигналов в ^2H ЯМР спектре крови, мочи, а также *in vivo*) по изобретению независимо от способа введения. Таким образом, наблюдаемая динамика накопления в опухоли и последующего выведения диагностического препарата по изобретению зависит только от скоростей транспорта между различными тканями и кровью и не осложняется метаболическими процессами.

Исследования, проведенные авторами изобретения, свидетельствуют о хорошей переносимости диагностического препарата животными, отсутствии видимых побочных эффектов при использовании в указанных дозах и полном выведении дейтерий-содержащих соединений из организма в течение нескольких дней. Так, при внутрибрюшинном введении препаратов по изобретению мышам дозировкой 8 г/кг не наблюдалась гибель животных, а через 72 часа после введения, препарат не наблюдался в опухоли по данным ^2H магнитно-резонансной томографии. Фоновая концентрация дейтерия в опухоли и других тканях при этом оставалась прежней, что свидетельствует об отсутствии долгосрочного накопления препарата по изобретению в организме. Полное выведение дейтерия из опухолевых тканей позволяет проводить повторную диагностику через 72 часа и следить за динамикой развития опухоли в ходе лечения.

В результате проведенных исследований также показано, что результаты визуализации опухоли существенно зависят от дозы диагностического препарата в пределах допустимого диапазона. Меньшие дозы позволяют избирательно визуализировать участки опухоли, характеризующиеся наиболее интенсивным

поглощением , в то время как увеличение дозы приводит к более полному заполнению границ опухоли сигналом дейтерия . Благодаря такому свойству диагностического препарата по изобретению возможно проведение динамических исследований (множественная регистрация томограмм) с постепенно возрастающей

5 во времени концентрацией препарата в крови (например , в результате медленной внутривенной инфузии или серии последовательных инъекций малых доз препарата). Такие исследования могут предоставлять информацию одновременно о метаболической активности разных участков опухоли и о степени распространения опухолевого заболевания .

10 Способ по изобретению осуществляется без вредного воздействия ионизирующего излучения (характерного , например , для методов КТ , ПЭТ , ОФЭКТ) , что в свою очередь повышает безопасность исследований , делает возможным проведение более частых повторных исследований , в частности делает метод привлекательным для педиатрии .

15 Способ диагностики по изобретению может применяться , в частности , для ранней диагностики опухолей различной локализации , метастатических поражений , оценки ответа опухоли на лечение и заключения об эффективности проводимой терапии , для уточнения диагноза , составленного на основании результатов ^1H МРТ и/или других методов диагностики .

20 Способ по изобретению может применяться для диагностики различных опухолей , в частности опухоли молочной железы и глиомы .

Способ по изобретению расширяет существующие методики диагностики онкологических заболеваний и позволяет осуществлять эффективную диагностику .

25 Осуществление изобретения .

Возможность объективного проявления технического результата при использовании изобретения подтверждена достоверными данными , приведенными в примерах , содержащих сведения экспериментального характера , полученных в процессе проведения исследований по методикам , принятым в данной области . Сущность

30 изобретения поясняется фигурами .

Следует понимать , что эти и все приведенные в материалах заявки примеры не являются ограничивающими и приведены только для иллюстрации настоящего изобретения .

Приведенные в данном документе примеры служат иллюстрациями принципа

35 действия разработанного метода , и не ограничивают диапазон используемых доз , а также диапазон времени между введением диагностического препарата и регистрацией сигнала

дейтерия , поскольку в зависимости от чувствительности и других параметров используемого оборудования , диагностируемого заболевания и природы субъекта (человек или лабораторное животное) необходимые дозы и время , необходимое для накопления , могут отличаться . Кроме того , приведенные параметры регистрации спектров и томограмм , включая время накопления сигнала , являются частью конкретных вариантов воплощения изобретения и могут меняться в зависимости от используемого оборудования и конкретных диагностических задач .

Синтез 2-амино -2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты

Раствор 1.9 г ацетона -d₆ в 5 мл диэтилового эфира прибавляют при 0-5°С к раствору 2.0 г хлорида аммония в 5 мл D₂O . Затем к полученной смеси медленно добавляют раствор 1.6 г цианида натрия в 3.5 мл D₂O . Реакционную смесь перемешивают в течение одного часа и оставляют на ночь . Эфирный слой отделяют , водный слой экстрагируют шестью 3-мл порциями диэтилового эфира . Объединенные эфирные экстракты упаривают , остаток растворяют в 8 мл метанола . Полученный раствор насыщают газообразным аммиаком и оставляют на 48 часов . Реакционную смесь упаривают , к остатку прибавляют 6 мл воды и 10 мл 48% бромоводородной кислоты , после чего полученную смесь кипятят в течение 2-х часов , затем упаривают под вакуумом и после добавления к сухому остатку 5 мл воды упаривают снова . Остаток после упаривания растворяют в 15 мл метанола и фильтруют . К полученному раствору прибавляют 3 мл пиридина . Через 10 часов кристаллическую 2-амино -2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовую кислоту отфильтровывают , промывают метанолом и высушивают в вакууме . Выход 1.1 г (35%)

¹H ЯМР (D₂O): 1.30 (остаточный сигнал протонов метильной группы) .

¹³C ЯМР (D₂O): 178.1 , 23.5.

При использовании D₂O при гидролизе , а также путем выдерживания конечного продукта в D₂O с последующим упариванием получают дейтерированную 2-амино -2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовую кислоту с частично или полностью дейтерированными амино - и карбоксильной группами .

Показана возможность регистрации дейтериевой томограммы образца , содержащего раствор дейтерированной 2-амино -2-метилпропионовой кислоты с использованием широкополосного и селективного радиочастотного импульса (пример 1).

Эксперименты *in vivo* (пример 2-3) демонстрируют возможность регистрации дейтериевых томограмм и ЯМР спектров *in vivo* и способность дейтерированных производных 2-амино -2-метилпропионовой кислоты накапливаться в опухолях . Показана возможность диагностики опухоли , в частности , опухоли молочной железы 4T1 и глиомы

С6, на основании наблюдаемого сигнала дейтерированного производного 2-амино-2-метилпропионовой кислоты.

В приведенных ниже примерах использовался томограф Bruker BioSpec BC70/30 USR с постоянным полем 7,05 Тл, оснащенный поверхностной
5 приемопередающей катушкой диаметром 3 см и глубиной сканирования около 1 см.

Для регистрации дейтериевой томограммы использовалась импульсная последовательность FLASH (Fast low angle shot).

Для экспериментов с широкополосным возбуждением использовались следующие настройки: частота возбуждения определялась по ^2H ЯМР спектру и
10 составляла на используемом приборе: $\text{sfo1} \approx 46.17438$ МГц, прямоугольный возбуждающий импульс шириной 1300 Гц и мощностью 36 dB, угол отклонения $\text{FA} = 30^\circ$, время повторения $\text{TR} = 11.8$ мс, время эхо $\text{TE} = 4.4$ мс, область сканирования 10 см x 10 см, матрица сканирования 50 x 50, толщина среза 3 см, ширина пропускания частот 12500 Гц, общее время сканирования 10 минут (1030 накоплений).

15 Для экспериментов с селективным возбуждением использовались следующие настройки: частота возбуждения $\text{sfo1} = 46.17438$ МГц, прямоугольный возбуждающий импульс шириной 130 Гц и мощностью 48 dB, угол отклонения $\text{FA} = 30^\circ$, время повторения $\text{TR} = 25$ мс, время эхо $\text{TE} = 10$ мс, область сканирования 10 см x 10 см, матрица сканирования 50 x 50, толщина среза 3 см, ширина пропускания частот
20 25000 Гц, общее время сканирования 10 минут.

Пример 1. Регистрация дейтериевой томограммы и ^2H ЯМР спектра образца, содержащего разбавленный раствор дейтерированной 2-амино-2-метилпропионовой кислоты.

25 Для демонстрации принципиальной возможности регистрации дейтериевой томограммы разбавленного раствора дейтерированной 2-амино-2-метилпропионовой кислоты был проведен следующий эксперимент.

30 Стекланный флакон, содержащий 5 мл раствора 2-амино-2-тридейтерометил-3,3,3-тридейтеропропионовой кислоты (5 мг) в дистиллированной воде, помещался в полости томографа. Поверхностная приемопередающая катушка диаметром 3 см и глубиной сканирования около 1 см располагалась непосредственно над флаконом.

На фигуре 1 показан ^2H спектр образца с 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовой кислотой.

35 На фигуре 2 показаны дейтериевые томограммы образца с 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовой кислотой, полученные с применением широкополосного (слева) и селективного (справа) возбуждения. Селективное возбуждение может успешно применяться для регистрации дейтериевой томограммы, однако применение

селективного возбуждения сопряжено с существенным уменьшением отношения сигнал / шум .

Пример 2. Использование дейтериевой томографии для визуализации карциномы молочной железы мыши **4T1 *in vivo*** с использованием **2-амино -2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой** кислоты в качестве диагностического препарата .

В данном примере проводились эксперименты на мышах Balb/c с привитой карциномой молочной железы 4T1 (инъекция 5x10⁵ клеток /60 мкл под левой передней лапой за 9-23 дней до эксперимента) и на здоровых мышах Balb/c.

Животному N°1-5 весом 20 г вводился внутривенно раствор 20 мг 2-амино -2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты в 0.5 мл физраствора . Животному N°6-7 весом 20 г вводился внутривенно раствор 10 мг (мышь N°4) или 5 мг (мышь N°5) 2-амино -2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты в 0.25 мл физраствора . После инъекции животное содержалось в отдельной клетке в течение указанного времени (N°1 с опухолью и N°2 без опухоли : 40 мин ; N°3 с опухолью : 115 мин ; N°4 с опухолью : 20 и 360 мин ; N°5 и Ns6 с опухолью : 30 мин). Для регистрации томограмм и спектров животное обездвигивалось препаратом "изофлуран " . Поверхностная приемопередающая катушка закреплялась на теле мыши с дорсальной стороны последовательно в двух положениях (грудной отдел , область почек). На фигурах 3-7 приведены ²H томограммы , полученные с применением широкополосного возбуждения ядер дейтерия .

На фигуре 3 показаны томограммы , полученные на мыши Ns1 с опухолью через 40 минут после введения 2-амино -2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты (а) ²H MPT (положение поверхностной катушки показано белым контуром); б) ¹H MPT ; в): наложение ²H MPT и ¹H MPT). На данной фигуре можно видеть , что сигнал дейтерия локализован в области , соответствующей опухоли (соотношение сигнал / шум в области опухоли составляет примерно 6), а также в области , соответствующей печени , по данным ¹H MPT .

Анализ ²H томограмм , полученных на мыши N°1 через 40 мин после введения , показал , что соотношение сигнал / шум в области опухоли составляет примерно 6 (широкополосное возбуждение) или примерно 4 (селективное возбуждение). Таким образом , широкополосное возбуждение позволяет существенно увеличить чувствительность метода при регистрации *in vivo*. Следует отметить , что при использовании более чувствительного оборудования селективное возбуждение может являться более предпочтительным вариантом , поскольку при этом понижается уровень фонового сигнала тяжелой воды . Соотношение сигнал / шум в

области почек составило примерно 25 (широкополосное возбуждение). Таким образом, можно заключить, что большая часть диагностического препарата накопилась в почках.

На фигуре 4 показаны томограммы, полученные на контрольной мышце №2 без опухоли через 40 минут после введения 2-амино-2-тридеутерометил-3,3,3-тридеутеропропионовой кислоты: (а) ^2H МРТ; (б) ^1H МРТ; (в) наложение ^2H МРТ и ^1H МРТ. На данной фигуре сигнал дейтерия, в отличие от фигуры 3, локализован только в области, соответствующей печени по данным ^1H МРТ.

На основании результатов, проиллюстрированных фигурами 3 и 4, можно заключить, что:

- 1) 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовая кислота накапливается в опухолевой ткани *in vivo* в концентрации, достаточной для визуализации с использованием ^2H МРТ;
- 2) 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовая кислота может использоваться в качестве диагностического препарата для обнаружения злокачественных образований с использованием ^2H МРТ.

На фигуре 5 показаны томограммы, полученные на мышце Ns3 с опухолью через 115 минут после введения 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовой кислоты: (а) ^2H МРТ; (б) ^1H МРТ; (в) наложение ^2H МРТ и ^1H МРТ. На данной фигуре можно видеть, что сигнал дейтерия локализован в области, соответствующей опухоли, а также в области, соответствующей печени, по данным ^1H МРТ.

На фигуре 6 показаны: дейтериевая томограмма (а) и фотография (б) опухоли, извлеченной из мышцы №3 через 150 минут после введения 2-аминно-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовой кислоты. Данная фигура показывает, что изолированная опухоль отчетливо видна на дейтериевой томограмме благодаря достаточному накоплению 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовой кислоты.

На фигуре 7 показаны томограммы, полученные на мышце №4 с опухолью через 20 минут после введения 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовой кислоты: (а) ^2H МРТ; (б) ^1H МРТ; (в) наложение ^2H МРТ и ^1H МРТ. На данной фигуре можно видеть, что сигнал дейтерия локализован в области, соответствующей наиболее молодой и активно растущей части опухоли, а также в области, соответствующей печени, по данным ^1H МРТ.

На фигуре 8 показаны томограммы, полученные на мышце №4 с опухолью через 360 минут после введения 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовой кислоты: (а) ^2H МРТ; (б) ^1H МРТ; (в) наложение ^2H МРТ и ^1H МРТ. На данной фигуре можно видеть,

что сигнал дейтерия локализован в области , соответствующей наиболее молодой и активно растущей части опухоли по данным ^1H МРТ .

На основании результатов , проиллюстрированных фигурами 7 и 8 можно заключить , что в случае обширных опухолевых образований диагностический препарат по изобретению позволяет визуализировать наиболее активно растущие части опухоли . Кроме того , на основании этих результатов можно заключить , что диагностический препарат выводится из опухоли в течение нескольких часов .

На фигуре 9 показаны томограммы , полученные на мыши №5 с опухолью через 30 минут после введения 10 мг 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовой кислоты : (а) ^2H МРТ ; (б) ^1H МРТ ; (в) наложение ^2H МРТ и ^1H МРТ . На данной фигуре можно видеть , что сигнал дейтерия локализован в области , соответствующей отдельным частям опухоли , вероятно , соответствующих зонам наиболее интенсивного роста , а также в области , соответствующей печени , по данным ^1H МРТ .

На фигуре 10 показаны томограммы , полученные на мыши N26 с опухолью через 30 минут после введения 5 мг 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовой кислоты : (а) ^2H МРТ ; (б) ^1H МРТ ; (в) наложение ^2H МРТ и ^1H МРТ . На данной фигуре можно видеть , что сигнал дейтерия локализован в области , соответствующей отдельным частям опухоли , вероятно , соответствующих зонам наиболее интенсивного роста , а также в области , соответствующей печени , по данным ^1H МРТ .

Следует отметить , что для других животных и для человека , а также при ином способе введения (например , оральном или внутривенном) и/или при иных злокачественных заболеваниях диапазон доз вводимого диагностического препарата может быть иным . В частности , с учетом аллометрических уравнений , описывающих фармакокинетику препаратов в организмах различного размера , можно ожидать снижение необходимой для человека дозы в несколько раз по сравнению с описываемыми здесь дозами .

На основании результатов , проиллюстрированных фигурами 3, 5, 7 и 8 можно заключить , что допустимый диапазон времени между введением 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- O_3 -пропионовой кислоты и регистрацией сигнала дейтерия может составлять , в частности , 20-360 мин . Следует отметить , что для других животных и для человека данный диапазон может быть существенно шире за счет разницы в фармакокинетики .

Пример 3. Использование дейтериевой томографии для визуализации глиомы крыс C6 *in vivo* с использованием 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты в качестве диагностического препарата .

В данном примере проводились эксперименты на крысах Wistar с привитой глиомой C6 и на здоровых крысах Wistar.

Животному весом 210 г вводился внутривенно раствор 150 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты в 1.5 мл физраствора . После инъекции животное содержалось в отдельной клетке со свободным доступом к пище и воде . Для регистрации томограмм и спектров животное обездвигивалось препаратом "изофлуран" . Поверхностная приемопередающая катушка закреплялась над головой крысы .

На фигуре 11 показаны томограммы , полученные на крысе с опухолью через 4 часа после введения 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты : (а) необработанная ²H MPT ; (б) ¹H MPT ; (в) наложение ²H MPT и ¹H MPT . На данной фигуре можно видеть , что сигнал дейтерия локализован в области , соответствующей опухоли по данным ¹H MPT .

На фигуре 12 показаны томограммы , полученные на крысе без опухоли через 4 часа после введения 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты : (а) необработанная ²H MPT ; (б) ¹H MPT ; (в) наложение ²H MPT и ¹H MPT . На данной фигуре можно видеть , что сигнал дейтерия не демонстрирует четкой локализации .

На основании результатов , проиллюстрированных фигурами 11 и 12, можно заключить , что диагностический препарат по изобретению , в частности включающий 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовую кислоту может использоваться в качестве диагностического препарата для обнаружения злокачественных образований , в том числе глиомы , с использованием ²H MPT .

Несмотря на то, что изобретение описано со ссылкой на раскрываемые варианты воплощения , для специалистов в данной области должно быть очевидно , что конкретные подробно описанные эксперименты приведены лишь в целях иллюстрирования настоящего изобретения , и их не следует рассматривать как каким-либо образом ограничивающие объем изобретения . Должно быть понятно , что возможно осуществление различных модификаций без отступления от сути настоящего изобретения .

Формула изобретения

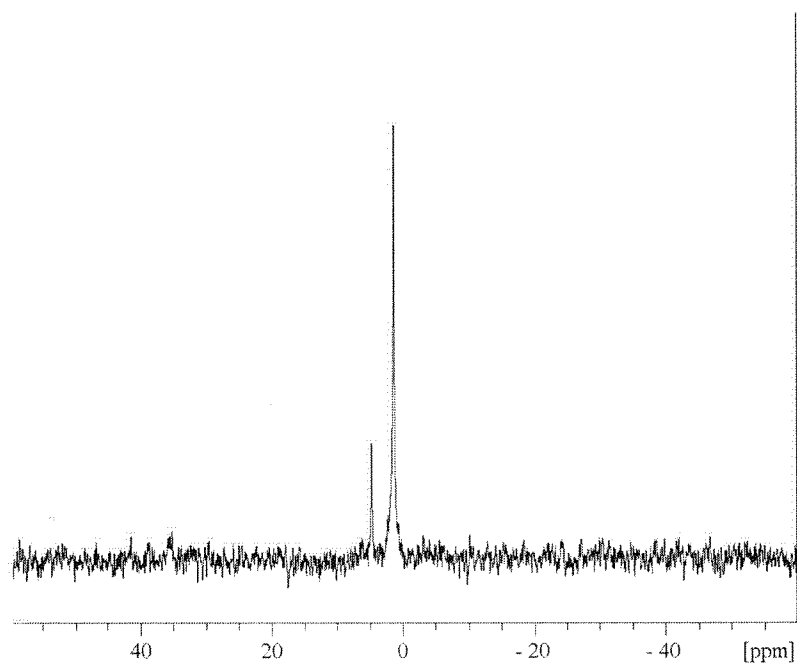
1. Диагностический препарат , включающий дейтерированное производное 2-амино -2- метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтики приемлемую соль , или смесь , по меньшей мере , двух дейтерированных производных 2-амино -2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(1^N-метиламино)-2- метилпропионовой кислоты и/или ее фармацевтики приемлемой соли , для диагностики онкологических заболеваний методом магнитно -резонансной томографии и/или магнитно -резонансной спектроскопии на ядрах дейтерия .
2. Диагностический препарат по п.1, который дополнительно включает , по меньшей мере , одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество .
3. Диагностический препарата по п.2, характеризующийся тем , что фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество представляет собой носитель , наполнитель и/или растворитель .
4. Диагностический препарат по п. 1, в котором дейтерированное производное 2-амино -2-метилпропионовой кислоты представляет собой 2-амино -2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовую кислоту или 2-амино -2-(CD₂H)-3,3,3-0₃-пропионовую кислоту или 2-амино -2-(CD₂H)-3,3,3-0₃-пропионовую кислоту или 2-амино -2-метил -3,3,3- D₃-пропионовую кислоту или 2-амино -2-(CD₂H)-3,3-0₂-пропионовую кислоту или 2-амино -2-(CDH₂)-3,3-0₂-пропионовую кислоту или 2-амино -2-метил -3,3-0₂-пропионовую кислоту или 2-амино -2-(CDH₂)-3-0- пропионовую кислоту или 2-амино -2-метил -3-0- пропионовую кислоту .
5. Диагностический препарат по п. 1, в котором дейтерированное производное 2-(1^N-метиламино)-2- метилпропионовой кислоты представляет собой 2-метиламино -2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовую кислоту или 2-(1^N-(CD₃)амино)-2-метилпропионовую кислоту или 2-(N-(CD₃)aMHHO)-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропnoHOByra кислоту .
6. Диагностический препарат по п.1, который включает смесь , по меньшей мере , двух разных дейтерированных производных 2-амино -2- метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2- метилпропионовой кислоты , выбранных из 2-амино -2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты и/или 2-aMHHO-2-(CD₂H)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты и/или 2-амино -2-(CD₂H)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты и/или 2-амино -2-метил -3,3,3- D₃-пропионовой кислоты и/или 2-aMHHO-2-(CD₂H)-3,3-D₂-пропионовой кислоты и/или 2-амино -2-(CDH₂)-3,3-0₂-пропионовой кислоты и/или 2-амино -2-метил -3,3-0₂-пропионовой кислоты и/или 2-aMHHO-2-(CDH₂)-3-D-пропионовой кислоты или 2-амино -2-метил -3-0- пропионовой кислоты и/или 2-метиламино -2-(CD₃)-3,3,3-0₃-пропионовой кислоты и/или 2-(N-(CD₃)aMHHO)-2-

метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-(CD₃)амино)-2-(CD₃)-3,3,3-⁰₃-пропионовой кислоты .

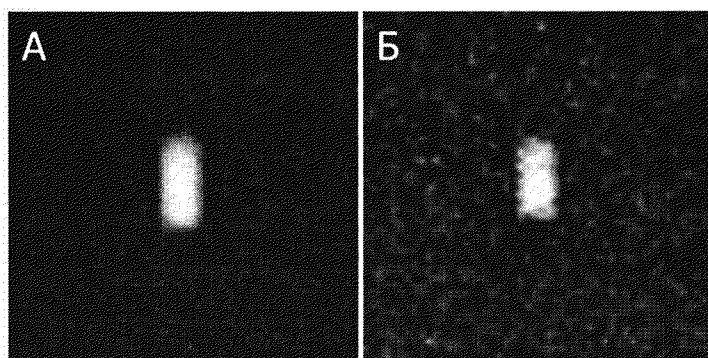
7. Диагностический препарата по п.1, который дополнительно включает недейтерированную 2-амино-2-метилпропионовую кислоту или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовую кислоту .
8. Диагностический препарат по п. 1, в котором дейтерированное производное 2-амино-2-метилпропионовой кислоты или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемая соль наряду с атомами дейтерия, связанными с атомами углерода, содержат атомы дейтерия, частично или полностью замещающие подвижные атомы водорода, связанные с атомами кислорода и/или азота .
9. Способ диагностики онкологического заболевания у субъекта, включающий следующие этапы :
- а) вводят субъекту диагностический препарат по п.1;
- б) проводят магнитно-резонансную томографию и/или магнитно-резонансную спектроскопию на ядрах дейтерия после введения диагностического препарата через время, достаточное для его накопления в опухолевой ткани, для получения, соответственно, томограммы и/или ЯМР спектра ;
- в) диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании наблюдаемой интенсивности сигнала ядер дейтерия, отражающей уровень накопления диагностического препарата .
10. Способ по п.9, в котором в случае отсутствия областей накопления диагностического препарата у субъекта диагностируют отсутствие онкологического заболевания .
11. Способ по п. 9, в котором проводят, по меньшей мере, одно дополнительное медицинское исследование, выбранное из магнитно-резонансной томографии на ядрах, отличных от ядер дейтерия, ультразвукового исследования, компьютерной томографии, рентгенографии, пальпации, биопсии, анализа биологических жидкостей на онкомаркеры, радионуклидной диагностики и/или визуального наблюдения .
12. Способ по п.8, в котором диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения интенсивности сигнала ядер дейтерия у исследуемого субъекта с типичной интенсивностью сигнала, наблюдаемой у здоровых субъектов в соответствующей ткани или соответствующем органе .

13. Способ по п.11, в котором диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения интенсивности сигнала ядер дейтерия в областях, соответствующих нормальной и аномальной ткани по данным дополнительного медицинского исследования.
- 5 14. Способ по п.11, в котором диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения интенсивности сигнала ядер дейтерия в соседних вокселях, находящихся по разные стороны границы нормальной ткани и ткани с подозрением на новообразование по данным ^1H МРТ.
- 10 15. Способ по п.11, в котором диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения дейтериевой томограммы исследуемого субъекта с изображением, полученным в результате магнитно-резонансной томографии у субъекта на ядрах протия.
- 15 16. Способ по п.9, в котором по интенсивности сигнала ядер дейтерия и/или ее изменению во времени делается вывод о структуре, злокачественности, агрессивности или степени дифференциации или уровне перфузии опухоли.
17. Способ по п.9, в котором онкологическое заболевание представляет собой рак молочной железы, глиому.
- 20 18. Способ по п.9, в котором при регистрации томограммы используется селективное возбуждение ядер дейтерия, входящих в состав дейтерированного производного 2-амино-2-метилпропионовой кислоты или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтики приемлемой соли, или смеси дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(1 H -метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтики приемлемой соли.
- 25 19. Способ по п.9, в котором при регистрации томограммы используется широкополосное возбуждение ядер дейтерия, входящих в состав дейтерированного производного 2-амино-2-метилпропионовой кислоты или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтики приемлемой соли, или смеси дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(1 H -метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтики приемлемой соли.
- 30 20. Способ по п.9, в котором диагностический препарат вводят субъекту перорально.
- 35 21. Способ по п.9, в котором диагностический препарат вводят субъекту парентерально.

22. Способ по п.9, в котором магнитно -резонансную томографию и/или магнитно - резонансную спектроскопию на ядрах дейтерия проводят через 20-360 минут после введения диагностического препарата .
23. Способ по п.9, в котором диагностический препарат вводят субъекту в количестве , соответствующем 0.25-1 г дейтерированного производного 2-амино -2-метилпропионовой кислоты или 2-(1⁴-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтики приемлемой соли , или смеси дейтерированных производных 2-амино -2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтики приемлемой соли на 1 кг массы тела субъекта .

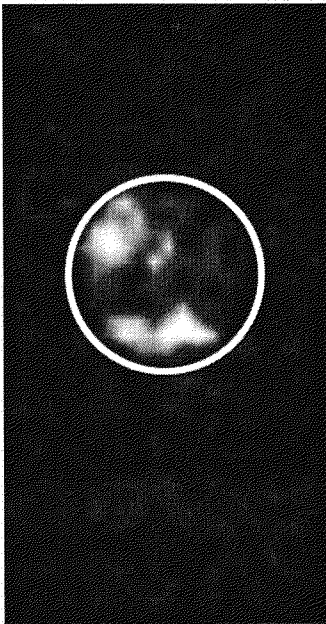


Фигура 1

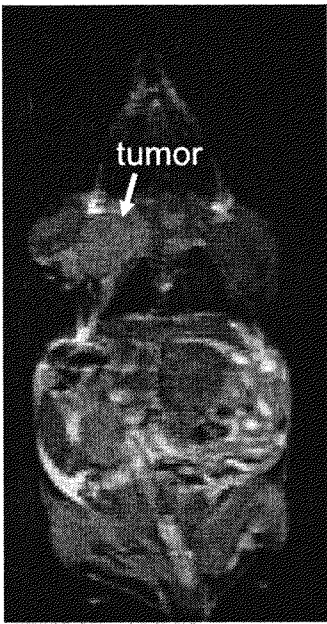


Фигура 2

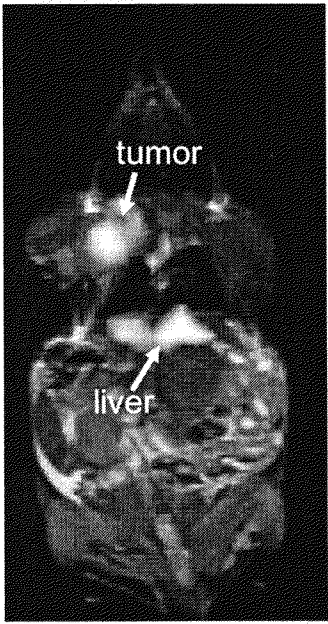
a)



б)

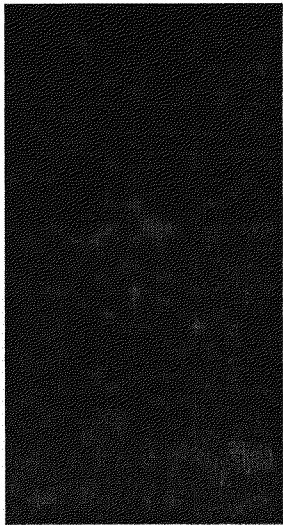


в)



Фигура 3

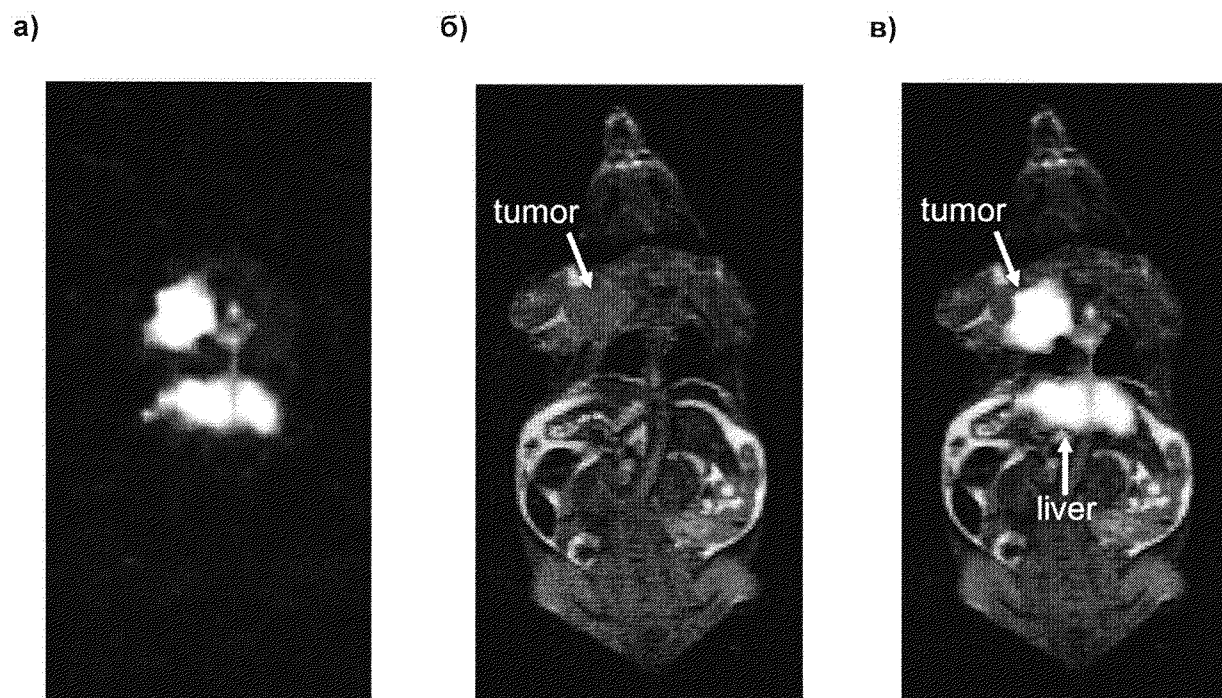
a)



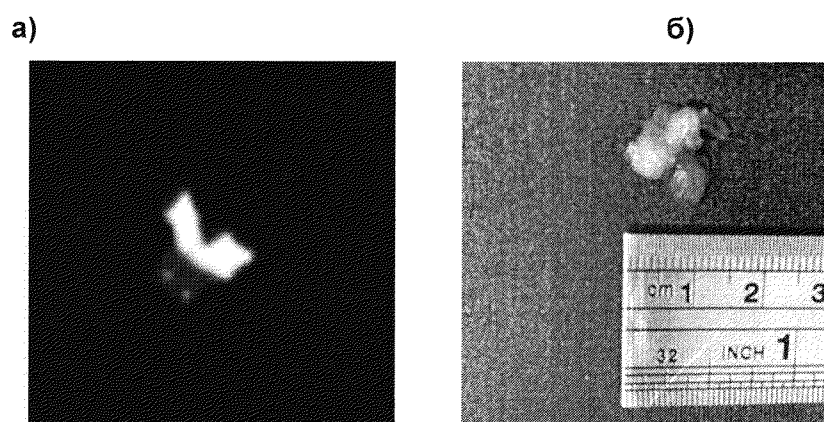
б)



Фигура 4

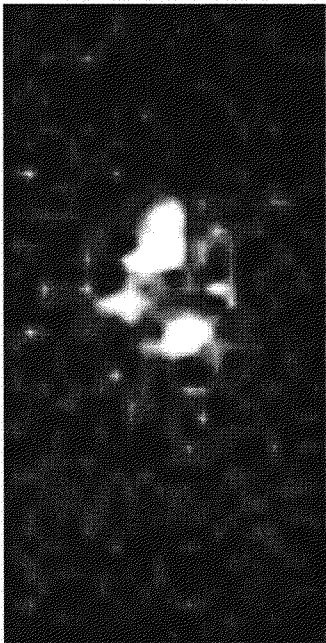


Фигура 5

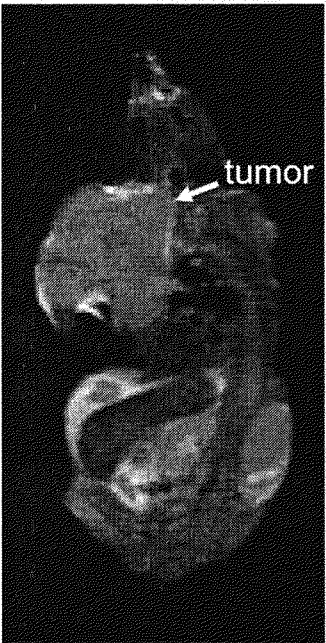


Фигура 6

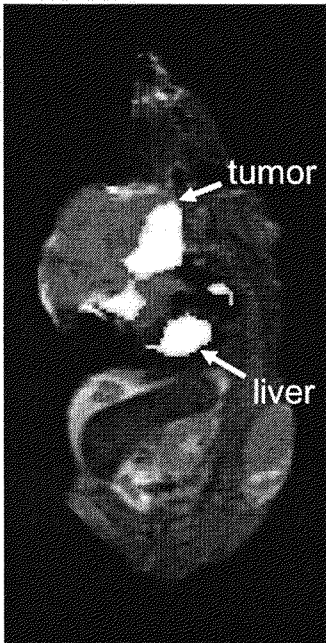
a)



б)

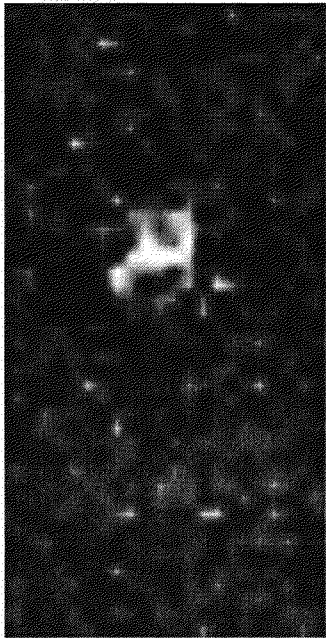


в)

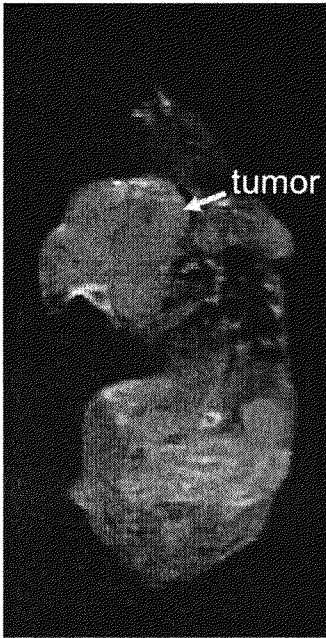


Фигура 7

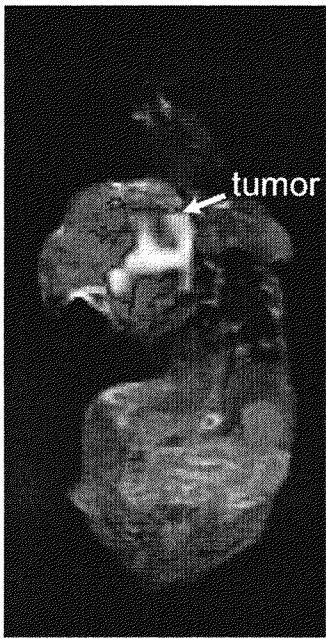
a)



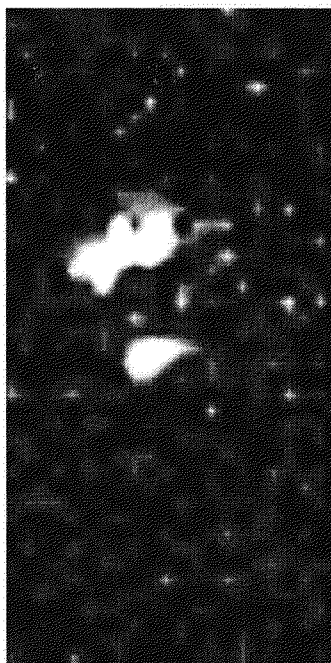
б)



в)



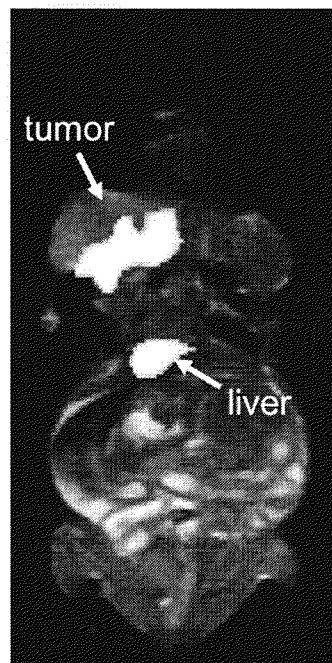
Фигура 8а)



б)

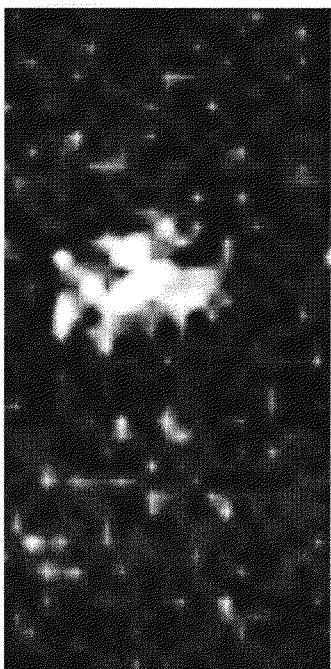


в)

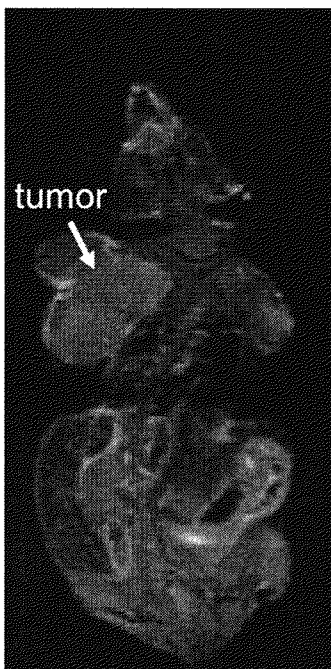


Фигура 9

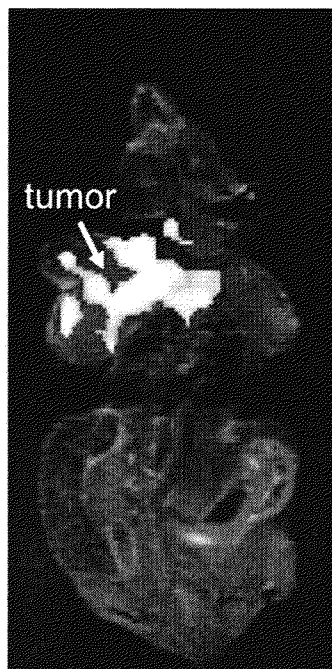
а)



б)

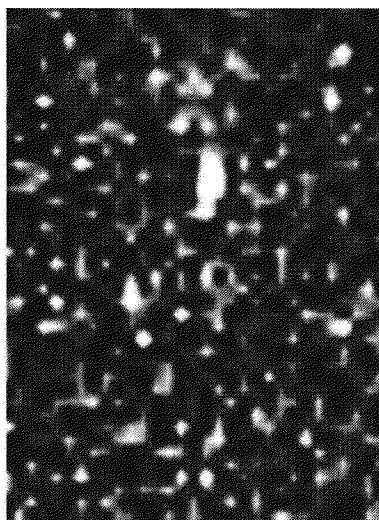


в)

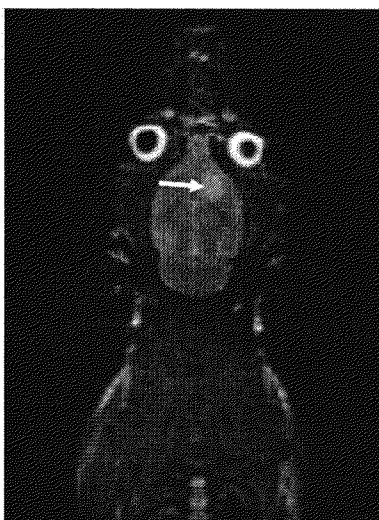


Фигура 10

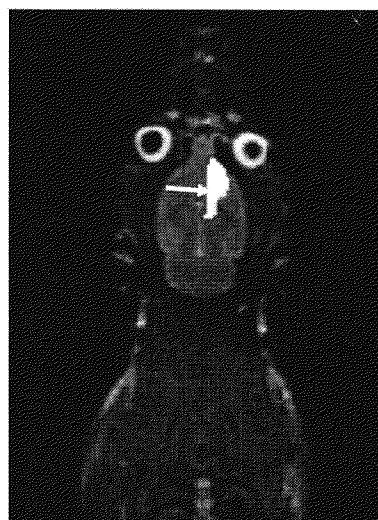
a)



б)

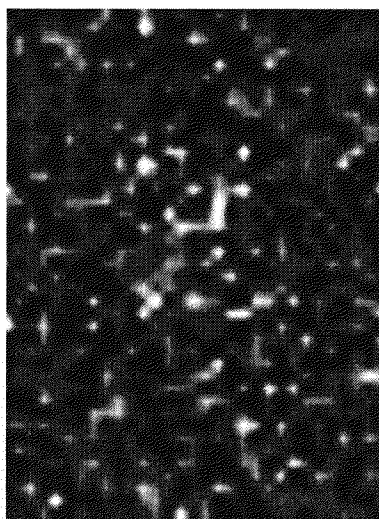


в)



Фигура 11

a)



б)



Фигура 12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/RU 2017/000870

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61B 5/055 (2006.01); A61K 49/00 (2006.01); A61K 49/06 (2006.01); A61K 49/10 (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61B 5/00, 5/055, A61K 49/00, 49/06, 49/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

PatSearch (RUPTO internal), Esp@cenet, PAJ, USPTO, Information Retrieval System of FIPS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2010/033511 A1 (CONCERT PHARMACEUTICALS, INC.) 25.03.2010, para. [7], [42] - [50]	1-23
A	US 5042488 A (THE WASHINGTON UNIVERSITY) 27.08.1991, col. 2-3, the claims	1-23
A	US 2010/0322865 A1 (JEFFREY L. DUERK et al.) 23.12.2010, para. [0021], [0043]	1-23
A	US 2003/0211036 A1 (HADASSA DEGANI et al.) 13.11.2003, para. [0004], [0005], [0029], [0065]	1-23
A	US 6574496 B1 (AMERSHAM HEALTH AS) 03.06.2003, col. 13-14	1-23

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

17 July 2018 (17.07.2018)

Date of mailing of the international search report

02 August 2018 (02.08.2018)

Name and mailing address of the ISA/

RU

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Номер международной заявки

PCT/RU 2017/000870

A. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ <i>A61B 5/055 (2006.01)</i> <i>A61K 49/00 (2006.01)</i> <i>A61K 49/06 (2006.01)</i> <i>A61K 49/10 (2006.01)</i> Согласно Международной патентной классификации МПК		
B. ОБЛАСТЬ ПОИСКА Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации) A61B 5/00, 5/055, A61K 49/00, 49/06, 49/10 Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины) PatSearch (RUPTO internal), Esp@cenet, PAJ, USPTO, Information Retrieval System of FIPS		
C. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:		
Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	WO 2010/033511 A1 (CONCERT PHARMACEUTICALS, INC.) 25.03.2010, параграфы [7], [42] - [50]	1-23
A	US 5042488 A (THE WASHINGTON UNIVERSITY) 27.08.1991, кол. 2-3, формула	1-23
A	US 2010/0322865 A1 (JEFFREY L. DUERK et al.) 23.12.2010, параграфы [0021], [0043]	1-23
A	US 2003/0211036 A1 (HADASSA DEGANI et al.) 13.11.2003, параграфы [0004], [0005], [0029], [0065]	1-23
A	US 6574496 B1 (AMERSHAM HEALTH AS) 03.06.2003, кол. 13-14	1-23
☐ последующие документы указаны в продолжении графы C. ☐ данные о патентах-аналогах указаны в приложении		
* "A" "E" "L" "O" "P"	Особые категории ссылочных документов: документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано) документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д. документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета	"T" более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение "X" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности "Y" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста "&" документ, являющийся патентом-аналогом
Дата действительного завершения международного поиска 17 июля 2018 (17.07.2018)		Дата отправки настоящего отчета о международном поиске 02 августа 2018 (02.08.2018)
Наименование и адрес ISA/RU: Федеральный институт промышленной собственности, Бережковская наб., 30-1, Москва, Г-59, ГСП-3, Россия, 125993 Факс: (8-495) 531-63-18, (8-499) 243-33-37		Уполномоченное лицо: И. Вилкова Телефон № (495)531-64-81