

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037512**

(13) **B1**

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

- | | |
|--|--|
| (45) Дата публикации и выдачи патента
2021.04.06 | (51) Int. Cl. <i>C07K 7/02</i> (2006.01)
<i>A61K 38/08</i> (2006.01)
<i>A61P 35/00</i> (2006.01)
<i>G01N 33/68</i> (2006.01)
<i>A61K 38/03</i> (2006.01)
<i>C07D 213/61</i> (2006.01)
<i>A61K 31/465</i> (2006.01) |
| (21) Номер заявки
201890282 | |
| (22) Дата подачи заявки
2016.09.19 | |

(54) **УЛУЧШЕННЫЕ ИНГИБИТОРЫ ПРОСТАТИЧЕСКОГО СПЕЦИФИЧЕСКОГО
МЕМБРАННОГО АНТИГЕНА (ПСМА), МЕЧЕННЫЕ ¹⁸F, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В
КАЧЕСТВЕ ВИЗУАЛИЗИРУЮЩИХ АГЕНТОВ ПРИ РАКЕ ПРОСТАТЫ**

- | | |
|---|------------------------------|
| (31) 15002800.9; 16164090.9; 16182764.7 | (56) WO-A1-2015055318 |
| (32) 2015.09.30; 2016.04.06; 2016.08.04 | |
| (33) EP | |
| (43) 2018.09.28 | |
| (86) PCT/EP2016/001573 | |
| (87) WO 2017/054907 2017.04.06 | |
| (71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ДОЙЧЕС
КРЕБСФОРШУНГСЦЕНТРУМ;
РУПРЕХТ-КАРЛС-УНИВЕРСИТЕТ
ГЕЙДЕЛЬБЕРГ (DE) | |
| (72) Изобретатель:
Кардинале Йенс, Шефер Мартин,
Копка Клаус, Эдер Маттиас, Баудер-
Вюст Ульрика, Айзенхут Михаэль,
Бенесова Мартина, Хаберкорн Уве,
Гизель Фредерик (DE) | |
| (74) Представитель:
Нилова М.И. (RU) | |

-
- (57) Изобретение в целом относится к области радиофармацевтических средств и их применению в ядерной медицине в качестве меток и визуализирующих агентов при различных болезненных проявлениях рака простаты.
-

B1

037512

**037512
B1**

Изобретение в целом относится к области радиофармацевтических средств и их применению в ядерной медицине в качестве меток и визуализирующих агентов при различных болезненных проявлениях рака простаты.

Уровень техники

Рак простаты (РСa) является самым распространенным раковым заболеванием у населения США и Европы. По меньшей мере 1-2 млн мужчин в западном полушарии страдают от рака простаты, и по оценкам этим заболеванием поражен каждый шестой мужчина возрастом от 55 до 85 лет. Каждый год в США диагностируется более 300000 новых случаев рака простаты. Заболевание является вторым по уровню смертности, уступая только раку легких. Существующие морфологические способы, такие как компьютерная томография (КТ), визуализация магнитным резонансом (МР) и ультразвуком, широко используются при клинической визуализации рака простаты. По оценкам в настоящее время по всему миру на хирургическую, лучевую, лекарственную терапию и малоинвазивные способы лечения расходуется 2 млрд долларов США. Тем не менее, в настоящее время не известны эффективные способы терапии рецидивирующего, метастатического, андроген-независимого рака простаты.

В настоящее время для клинических задач используются ряд экспериментальных низкомолекулярных визуализирующих агентов РСa, включая радиомеченные аналоги холина ($[^{11}\text{C}]$ холин, $[^{18}\text{F}]$ FECh, $[^{18}\text{F}]$ FMC, $[^{18}\text{F}]$ фтордигидротестостерон ($[^{18}\text{F}]$ FDHT), анти-1-амино-3- $[^{18}\text{F}]$ фторциклобутил-1-карбоновая кислота (анти- $[^{18}\text{F}]$ F-FACBC, $[^{11}\text{C}]$ ацетат и 1-(2-деокси-2- $[^{18}\text{F}]$ фтор-L-арабинофуранозил)-5-метилурацил($[^{18}\text{F}]$ FMAU) (Scher, B.; et al. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2007, 34, 45-53; Rinnab, L.; et al. *BJU Int.* 2007, 100, 786, 793; Reske, S.N.; et al. *J. Nucl. Med.* 2006, 47, 1249-1254; Zophel, K.; Kotzerke, J. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2004, 31, 756-759; Veas, H.; et al. *BJU Int.* 2007, 99, 1415-1420; Larson, S.M.; et al. *J. Nucl. Med.* 2004, 45, 366-373; Schuster, D.M.; et al. *J. Nucl. Med.* 2007, 48, 56-63; Tehrani, O.S.; et al. *J. Nucl. Med.* 2007, 48, 1436-1441). Каждый из указанных агентов имеет отличающийся механизм действия и определенные преимущества, например низкий уровень выведения с мочой в случае $[^{11}\text{C}]$ холина, и недостатки, такие как короткий физический период полураспада испускающих позитроны радионуклидов.

Хорошо известно, что опухоли могут экспрессировать уникальные белки, связанные с их злокачественным фенотипом, или могут иметь избыточную экспрессию повышенного числа обычных белковых компонентов по сравнению с нормальными клетками. Экспрессия отличительных белков на поверхности опухолевых клеток позволяет диагностировать и охарактеризовать заболевание путем исследования идентичности фенотипа и биохимического состава и активности опухоли. Радиоактивные молекулы, которые селективно связываются со специфическими белками на поверхности опухолевых клеток, обеспечивают привлекательный способ визуализации и лечения опухолей в неинвазивных условиях. Многообещающая новая группа низкомолекулярных визуализирующих агентов направленно действует на протатический специфический мембранный антиген (ПСМА) (Mease R.C. et al. *Clin. Cancer. Res.* 2008, 14, 3036-3043; Foss, C.A.; et al. *Clin. Cancer. Res.* 2005, 11, 4022-4028; Pomper, M.G.; et al. *Mol. Imaging* 2002, 1, 96-101; Zhou, J.; et al. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2005, 4, 1015-1026; WO 2013/022797).

ПСМА представляет собой трансмембранный гликопротеин II типа, состоящий из 750 аминокислот, который распространен на поверхности клеток РСa и экспрессируется только ими, в частности при андроген-независимом распространенном и метастатическом варианте заболевания (Schulke, N.; et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003, 100, 12590-12595). Последний факт наиболее важен, так как практически во всех случаях РСa становится андроген-независимым со временем. ПСМА отвечает критериям для использования в качестве многообещающей мишени при терапии, т.е. он распространен на всех стадиях заболевания и имеет ограниченную экспрессию (в простате), присутствует на клеточной поверхности, но не попадает в кровоток, и имеет ферментную или сигнальную активность (Schulke, N.; et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003, 100, 12590-12595). Ген ПСМА расположен на коротком плече хромосомы 11 и функционирует одновременно как фолатгидролаза и нейропептидаза. Он имеет функцию нейропептидазы, эквивалентную глутамат-карбоксипептидазе II (GCP II), и поэтому его называют "ПСМА мозга", и может модулировать глутаматергическую трансмиссию путем расщепления N-ацетиласпартилглутамата (NAAG) на N-ацетиласпартат (NAA) и глутамат (Nan, F.; et al. *J. Med. Chem.* 2000, 43, 772-774). В раковой клетке присутствует до 10^6 молекул ПСМА, это является дополнительным подтверждением того, что ПСМА является идеальной мишенью для визуализации и терапии способами, основанными на радионуклидах (Tasch, J.; et al. *Crit. Rev. Immunol.* 2001, 21, 249-261).

В настоящее время для диагностики метастазов и повторного появления рака простаты используют радиоиммуноконъюгат моноклонального антитела (mAb) к ПСМА 7E11, известный как скан PROSTAS-CINT®. Тем не менее, при использовании указанного агента часто получают изображения, которые трудно интерпретировать (Lange, P.H. PROSTAS-CINT scan for staging prostate cancer. *Urology* 2001, 57, 402-406; Haseman, M.K.; et al. *Cancer Biother Radiopharm* 2000, 15, 131-140; Rosenthal, S.A.; et al. *Tech Urol* 2001, 7, 27-37). В последнее время были разработаны моноклональные антитела, связывающиеся с внеклеточным доменом ПСМА, которые содержат радиоактивные метки, было показано, что они накапливаются в ПСМА-положительных моделях опухоли простаты у животных. Тем не менее, диагностика и обнаружение опухоли при использовании моноклональных антител ограничены низким уровнем про-

никновения моноклонального антитела в солидные опухоли.

Селективное направленное действие радиофармацевтических средств на раковые клетки для визуализации или в терапевтических задачах является затруднительным. Известен ряд радионуклидов, которые можно применять для радиовизуализации или лучевой терапии рака, включая ^{11}C , ^{18}F , ^{111}In , ^{90}Y , ^{68}Ga , ^{177}Lu , $^{99\text{mTc}}$, ^{123}I и ^{131}I . В последнее время было показано, что некоторые соединения, содержащие распознаваемый элемент глутамат-мочевина-глутамат (GUG) или глутамат-мочевина-лизин (GUL), связанный с конъюгатом радионуклид-лиганд, имеют высокую аффинность в отношении ПСМА.

Несколько соединений, меченных ^{18}F , которые могут взаимодействовать с ПСМА и подходят для детектирования рака простаты, показаны в европейском патенте EP 14003570.0. Указанные соединения, тем не менее, имеют сильные липофильные свойства, что до определенной степени затрудняет их использование и введение.

Необходимы новые агенты, которые позволят проводить быструю визуализацию рака простаты. Таким образом, задачей настоящего изобретения является разработка лигандов, которые взаимодействуют с ПСМА и содержат соответствующие радионуклиды, обеспечивающие многообещающий и новый вариант направленного действия для детектирования, лечения и борьбы с раком простаты.

Краткое описание изобретения

Решение указанной задачи достигнуто путем предложения вариантов реализации, охарактеризованных в формуле изобретения.

Авторы настоящего изобретения открыли новые соединения, которые можно применять в качестве радиофармацевтических средств, и способы их применения в ядерной медицине в качестве меток и визуализирующих агентов при различных болезненных проявлениях рака простаты.

Новые визуализирующие агенты со структурными модификациями в линкерной области имеют улучшенные свойства направленного действия на опухоль и фармакокинетику. Фармакофор содержит три карбоксильные группы, которые могут взаимодействовать с соответствующими боковыми цепями ПСМА, и кислород в составе агента, образующего комплекс с цинком в активном центре. Помимо указанных необходимых взаимодействий авторы настоящего изобретения смогли оптимизировать липофильные взаимодействия в линкерной области по сравнению с соединениями, описанными в европейском патенте EP 14003570.0. Более того, авторы настоящего изобретения смогли встроить некоторые гидрофильные строительные блоки в линкер для улучшения фармакокинетики.

Краткое описание фигур

- Фиг. 1 - введение метки ^{18}F в макромолекулы,
- фиг. 2 - фторирование ^{18}F по простетическим группам,
- фиг. 3 - ^{18}F -простетические группы в пептидах,
- фиг. 4 - ^{18}F -меченные простетические группы, полученные путем "клик-химии",
- фиг. 5 - получение [^{18}F]арилтрифторборонатов и фторидных сенсоров,
- фиг. 6 - комплексы ^{18}F -фторидов,
- фиг. 7 - введение ^{18}F -метки в RGD пептиды,
- фиг. 8 - распределение в органах [^{18}F]PSMA-1007 у ПСМА-положительных мышей LNCaP (в обычных условиях и при блокировке) и у ПСМА-отрицательных мышей PC3 и сравнение с [^{18}F]PSMA-1009 ([^{18}F]DCFPrL) у ПСМА-положительных мышей LNCaP,
- фиг. 9 - распределение в органах [^{18}F]PSMA-1007 у ПСМА-положительных мышей LNCaP (без блокировки и при блокировке) и сравнение с [^{18}F]PSMA-1003 у ПСМА-положительных мышей LNCaP (без блокировки),
- фиг. 10 - MIP [^{18}F]PSMA-1007 у ПСМА-положительных мышей LNCaP через 120-140 мин после инъекции,
- фиг. 11 - кривая зависимости активности [^{18}F]PSMA-1007 от времени у ПСМА-положительных мышей LNCaP, включая значения SUV через 120-140 мин после инъекции,
- фиг. 12 - структура PSMA-1003,
- фиг. 13 - структура PSMA-1009,
- фиг. 14 - MIP [^{18}F]PSMA-1007 у здоровых добровольцев,
- фиг. 15 - кривые зависимости активности в крови (черная) и сыворотке (серая) от времени, выраженные в процентах относительно инъекционной дозы у здоровых добровольцев,
- фиг. 16 - кривые зависимости активности от времени в нормальных органах с выделенными путем ПЭТ изучаемыми областями у здоровых добровольцев,
- фиг. 17 - распределение в органах [^{18}F]PSMA-1007 у десяти пациентов, страдающих от рака простаты, выраженное как SUV_{max} ,
- фиг. 18 - отношение сигнала опухоли к фону для [^{18}F]PSMA-1007 у десяти пациентов, страдающих от рака простаты, вычисленное на основании соответствующих значений SUV_{max} ,
- фиг. 19 - MIP у 77-летнего пациента с раком простаты (PSA 40 нг/мл), которому проводили сканирование с использованием [^{18}F]PSMA-1007 через 1 и 3 ч после инъекции; показано крупное опухолевое образование в средней и верхней части простаты и несколько метастазов в лимфатических узлах; внегазовой области метастазы обнаружены не были,

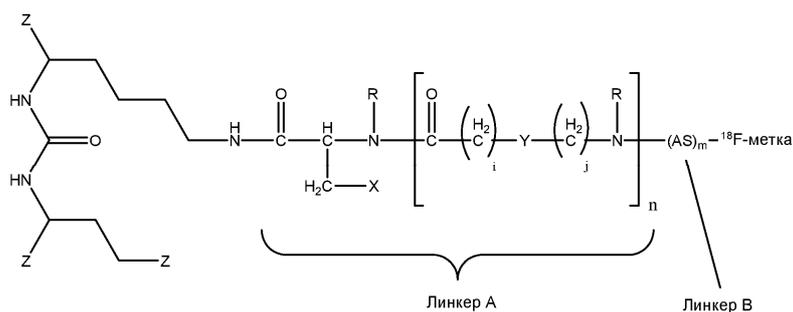
фиг. 20 - МР у 72-летнего пациента (PSA 15 нг/мл), у которого был диагностирован рак простаты с показателем Глисона 9 (5+4), которому проводили сканирование с использованием [^{18}F]PSMA-1007 через 1 и 3 ч после инъекции. У пациента наблюдается крупное опухолевое образование во всей предстательной железе и инфильтрация в левую семенную железу и несколько лимфатических узлов в тазовой области. Два метастатических лимфатических узла расположены вне тазовой области в параортальной области на уровне L3/4 и L5,

фиг. 21 - поперечный скан ПЭТ/КТ пациента (а, b) и соответствующая гистопатология образца, полученного после простатэктомии; окрашивание Н&Е (с); иммуноокрашивание ПСМА с выделенными контурами опухоли, очерченными пунктирной линией (d).

Подробное описание изобретения

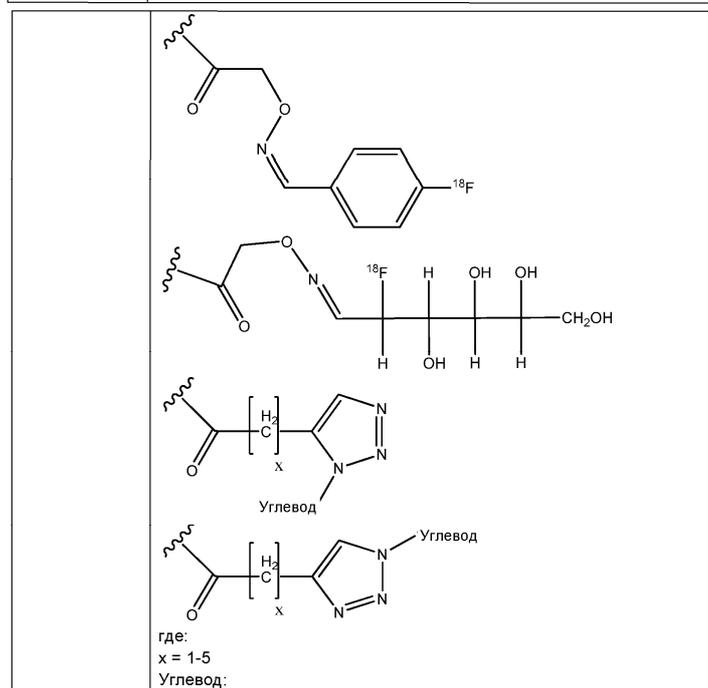
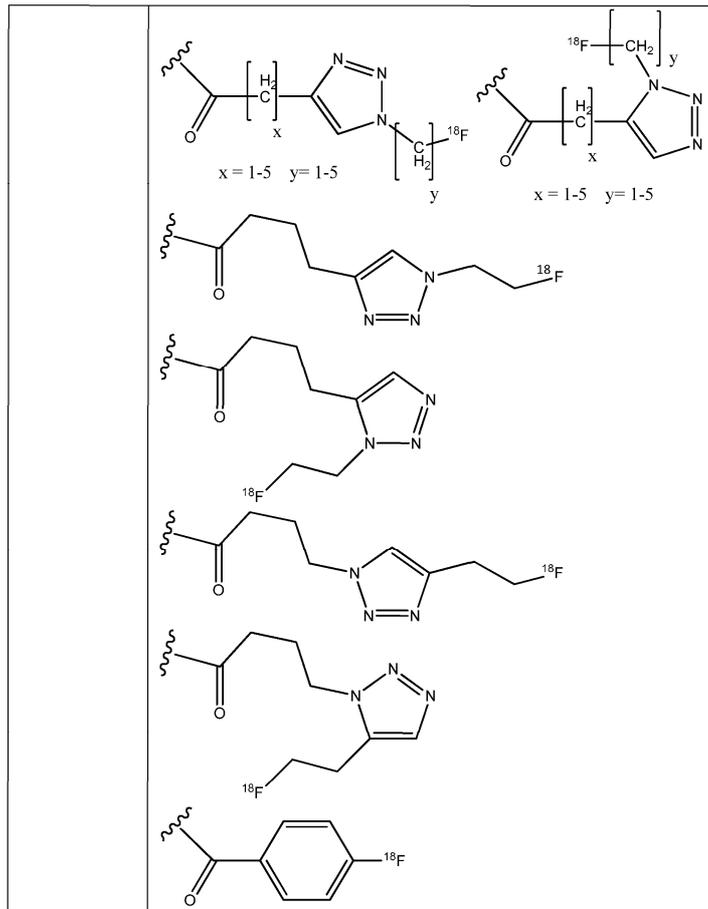
Настоящее изобретение относится к радиофармацевтическим средствам и их применению в ядерной медицине в качестве меток и визуализирующих агентов при различных болезненных проявлениях рака простаты.

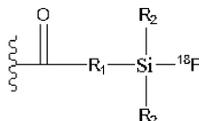
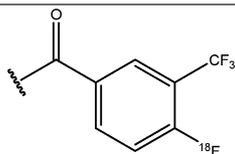
Таким образом, настоящее изобретение относится к соединениям, представленным общей формулой I



где

i, j	0, 1
m	1 – 5
n	0 – 3
R	H, CH_3
AS	природная или искусственная аминокислота
Z:	$-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_4\text{H}$, $-\text{PO}_2\text{H}$, $-\text{PO}_3\text{H}$, $-\text{PO}_4\text{H}_2$
X:	нафтил, фенил, бифенил, индолил (=2,3-бензопирролил), бензотиазол, хинолил
Y:	арил, алкиларил, циклоалкиларил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, N-пиперидил и соль N-метилированного пиперидила
^{18}F -метка:	



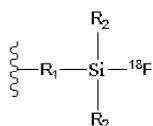


R₁: любой алкильный, циклоалкильный, арильный, арилалкильный или арилциклоалкильный линкер

в частности метил, 2-этил, 3-пропил, 2-, 3-, 4-фенил, 2-, 3-, 4-фенилметил, 2-, 3-, 4-фенилпропил

R₂: любая алкильная, циклоалкильная или арильная группа

в частности метил, изопропил, трет-бутил, фенил или 1-нафтил

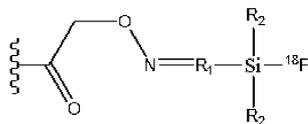


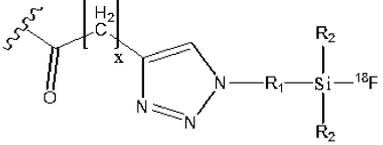
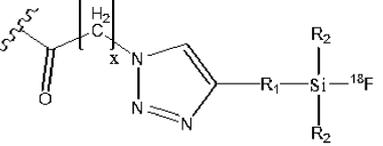
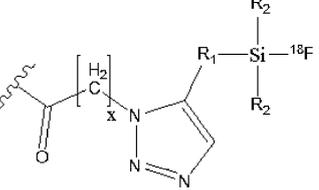
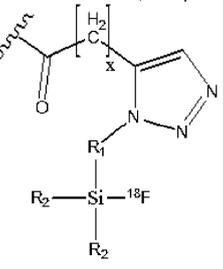
R₁: любой алкильный, циклоалкильный, арильный, арилалкильный или арилциклоалкильный линкер

в частности метил, 2-этил, 3-пропил, 2-, 3-, 4-фенил, 2-, 3-, 4-фенилметил, 2-, 3-, 4-фенилпропил

R₂: любая алкильная, циклоалкильная или арильная группа

в частности метил, изопропил, трет-бутил, фенил или 1-нафтил



	<p>R₁: любой алкильный, циклоалкильный, арильный, арилалкильный или арилциклоалкильный линкер</p> <p>в частности метил, 2-этил, 3-пропил, 2-, 3-, 4-фенил, 2-, 3-, 4-фенилметил, 2-, 3-, 4-фенилпропил</p> <p>R₂: любая алкильная, циклоалкильная или арильная группа</p> <p>в частности метил, изопропил, трет-бутил, фенил или 1-нафтил</p>  <p style="text-align: center;">x = 1-5</p> <p>R₁: любой алкильный, циклоалкильный, арильный, арилалкильный или арилциклоалкильный линкер</p> <p>в частности метил, 2-этил, 3-пропил, 2-, 3-, 4-фенил, 2-, 3-, 4-фенилметил, 2-, 3-, 4-фенилпропил</p> <p>R₂: любая алкильная, циклоалкильная или арильная группа</p> <p>в частности метил, изопропил, трет-бутил, фенил или 1-нафтил</p>  <p style="text-align: center;">x = 1-5</p> <p>R₁: любой алкильный, циклоалкильный, арильный, арилалкильный или арилциклоалкильный линкер</p> <p>в частности метил, 2-этил, 3-пропил, 2-, 3-, 4-фенил, 2-, 3-, 4-фенилметил, 2-, 3-, 4-фенилпропил</p> <p>R₂: любая алкильная, циклоалкильная или арильная группа</p> <p>в частности метил, изопропил, трет-бутил, фенил или 1-нафтил</p>
	 <p style="text-align: center;">x = 1-5</p> <p>R₁: любой алкильный, циклоалкильный, арильный, арилалкильный или арилциклоалкильный линкер</p> <p>в частности метил, 2-этил, 3-пропил, 2-, 3-, 4-фенил, 2-, 3-, 4-фенилметил, 2-, 3-, 4-фенилпропил</p> <p>R₂: любая алкильная, циклоалкильная или арильная группа</p> <p>в частности метил, изопропил, трет-бутил, фенил или 1-нафтил</p>  <p style="text-align: center;">x = 1-5</p> <p>R₁: любой алкильный, циклоалкильный, арильный, арилалкильный или арилциклоалкильный линкер</p> <p>в частности метил, 2-этил, 3-пропил, 2-, 3-, 4-фенил, 2-, 3-, 4-фенилметил, 2-, 3-, 4-фенилпропил</p> <p>R₂: любая алкильная, циклоалкильная или арильная группа</p> <p>в частности метил, изопропил, трет-бутил, фенил или 1-нафтил</p>

Если не указано иное, в настоящем изобретении термин "алкил" как таковой или как часть другой

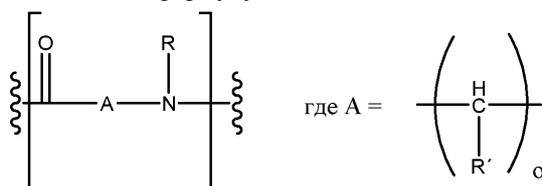
молекулы обозначает линейный или разветвленный углеводородный радикал или их комбинацию, который может быть полностью насыщенным, моно- или полиненасыщенным и может включать би- и поливалентные радикалы. "Алкильный" остаток предпочтительно представляет собой C_1 - C_{10} алкил и может быть незамещенным или замещенным (например, галогеном). Предпочтительными алкильными остатками являются метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, трет-бутил, н-пентил, н-гексил, н-гептил или н-октил и т.д. Циклоалкильные соединения предпочтительно содержат от 3 до 10 атомов углерода и могут представлять собой, например, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил и т.д. Ненасыщенная алкильная группа представляет собой группу, содержащую одну или более двойных или тройных связей. Примеры ненасыщенных алкильных групп включают, но не ограничиваются ими, винил, 2-пропенил, кротил, 2-изопентенил, 2-(бутадиенил), 2,4-пентадиенил, 3-(1,4-пентадиенил), этинил, 1- и 3-пропинил, 3-бутинил и высшие гомологи и изомеры. Предполагается, что термин "алкил", если не указано иное, также включает производные алкила, такие как "гетероалкил", "галогеналкил" и "гомоалкил".

Термин "арил" при использовании в настоящем описании относится к замкнутой кольцевой структуре, которая содержит по меньшей мере одно кольцо, содержащее сопряженную систему п-электронов, и включает карбоциклические арильные и гетероциклические арильные (или "гетероарильные" или "гетероароматические") группы. Карбоциклическая или гетероциклическая ароматическая группа может содержать от 5 до 20 атомов в кольце. Термин включает моноциклические кольца, ковалентно связанные или конденсированные полициклические (т.е. группы, в которых кольца имеют общую пару соседних атомов углерода) группы. Ароматическая группа может быть незамещенной или замещенной. Неограничивающие примеры "ароматических" или "арильных" групп включают фенил, 1-нафтил, 2-нафтил, 2-бифенил, 3-бифенил, 4-бифенил, антраценил и фенантраценил. Заместители каждой из указанных выше систем арильных и гетероарильных колец выбраны из группы приемлемых заместителей (например, алкила, циклоалкила, карбонила, карбоксила или галогена), описанных в настоящей заявке. Термин "арил" при использовании в комбинации с другими терминами (включая, но не ограничиваясь ими, арилокси, арилтиокси, аралкил) включает арильные и гетероарильные кольца. Таким образом, предполагается, что термин "аралкил" или "алкарил" включает радикалы, в которых арильная группа присоединена к алкильной группе (включая, но не ограничиваясь ими, бензил, фенэтил, пиридилметил и т.д.), включая алкильные группы, в которых атом углерода (включая, но не ограничиваясь ими, метиленовую группу) заменен на гетероатом, например на атом кислорода. Примеры указанных арильных групп включают, но не ограничиваются ими, феноксиметил, 2-пиридилоксиметил, 3-(1-нафтилокси)пропил и т.д.

"Гетероарил" относится к арильным группам, которые содержат по меньшей мере один гетероатом, выбранный из N, O и S; где атомы азота и серы необязательно могут быть окисленными, и атом(ы) азота необязательно может(гут) быть четвертичным(и). Гетероарильные группы могут быть замещенными или незамещенными. Гетероарильная группа может быть присоединена к остатку молекулы через гетероатом. Неограничивающие примеры подходящих групп включают 1-пирролил, 2-пирролил, 3-пирролил, 3-пиразолил, 2-имидазолил, 4-имидазолил, пиразинил, 2-оксазолил, 4-оксазолил, 2-фенил-4-оксазолил, 5-оксазолил, 3-изоксазолил, 4-изоксазолил, 5-изоксазолил, 2-тиазолил, 4-тиазолил, 5-тиазолил, 2-фурил, 3-фурил, 2-тиенил, 3-тиенил, 2-пиридил, 3-пиридил, 4-пиридил, 2-пиримидил, 4-пиримидил, 4-бензотиазолил, 5-бензотиазолил, 6-бензотиазолил, 7-бензотиазолил, пуринил, 2-бензимидазолил, 4-индолил, 5-индолил, 6-индолил, 7-индолил, 1-изохинолил, 5-изохинолил, 2-хиноксалинил, 5-хиноксалинил, 2-хинолил, 3-хинолил, 4-хинолил, 5-хинолил, 6-хинолил, 7-хинолил или 8-хинолил.

Термин "аминокислота" относится к природным и искусственным аминокислотам, а также к аналогам аминокислот и миметикам аминокислот, которые имеют функции, схожие с природными аминокислотами. Природными аминокислотами являются 20 распространенных аминокислот в D- или L-форме (аланин, аргинин, аспарагин, аспарагиновая кислота, цистеин, глутамин, глутаминовая кислота, глицин, гистидин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, фенилаланин, пролин, серин, треонин, триптофан, тирозин и валин) и пирролидин и селеноцистеин. Аналоги аминокислот относятся к соединениям, имеющим одинаковую базовую химическую структуру с природными аминокислотами, но в которых, например, α -атом углерода связан с водородом, карбоксильной группой, аминогруппой и группой R. Указанные аналоги могут содержать модифицированные группы R (например, норлейцин) или могут иметь модифицированные пептидные остовы, но при этом сохраняя такую же базовую химическую структуру, что и природная аминокислота. Неограничивающие примеры аналогов аминокислот включают гомосерин, норлейцин, метионина сульфоксид, метионин метилсульфоний. Аминокислоты могут быть описаны в настоящей заявке при помощи названия, традиционного трехбуквенного обозначения или однобуквенного обозначения, рекомендованного Комиссией по биохимической номенклатуре ИЮПАК-МИБ. "Искусственная аминокислота" относится к аминокислоте, которая не является ни одной из 20 распространенных аминокислот или пирролизином или селеноцистеином. Другими терминами, которые можно использовать в качестве синонимов термина "искусственная аминокислота", являются "искусственная кодированная аминокислота", "неприродная аминокислота", "не существующая в природе аминокислота" или "неестественная аминокислота". Термин "искусственная аминокислота" включает, но не ограничивается

ими, аминокислоты, которые образуются в результате модификации остова или боковых цепей природной аминокислоты. В некоторых вариантах реализации искусственная аминокислота содержит карбонильную группу, ацетильную группу, аминоксигруппу, гидразиновую группу, гидразидную группу, семикарбазидную группу, азидную группу или алкиновую группу. В предпочтительном варианте реализации искусственная аминокислота имеет формулу



и $R' = \text{H}, \text{CO}_2\text{H}, \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}, \text{C}_2\text{H}_4\text{CO}_2\text{H}, \text{CH}(\text{CO}_2\text{H})_2, \text{CH}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2, \text{CH}(\text{CO}_2\text{H})(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}), \text{CH}_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})_2, \text{SO}_3\text{H}$; $o = 1-3$; $R = \text{H}, \text{CH}_3$.

Предпочтительными являются те аминокислоты, которые встраивают гидрофильный элемент в соединение формулы I.

Некоторые из остатков, приведенных в настоящем описании (включая, но не ограничиваясь ими, искусственные аминокислоты), могут существовать в нескольких таутомерных формах. Все указанные таутомерные формы рассматривают как часть соединений, описанных в настоящей заявке. Кроме того, например, все кето-енольные формы любых соединений, описанных в настоящей заявке, также рассматривают как часть композиций, описанных в настоящей заявке.

Линкер В, т.е. природная аминокислота и/или искусственная аминокислота, может быть связан с молекулой посредством пептидной или амидной связи. В случае кислых аминокислот (например, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты), тем не менее, связывание может происходить в качестве альтернативы по α -, β - или γ -положению.

Несмотря на то, что предпочтительно группа Z представляет собой $-\text{CO}_2\text{H}$, она может быть легко заменена на биостерические заместители, такие как $-\text{SO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_4\text{H}$, $-\text{PO}_2\text{H}$, $-\text{PO}_3\text{H}$, $-\text{PO}_4\text{H}_2$, см., например, "The Practice of Medicinal Chemistry" (Academic Press New York, 1996), стр. 203.

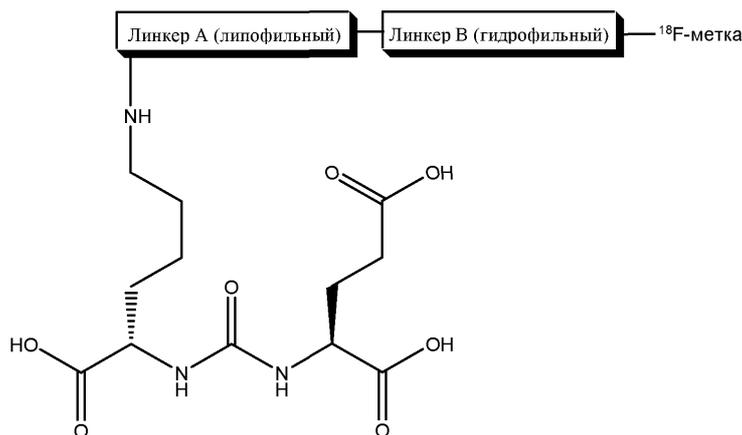
При трактовке настоящего изобретения предполагается, что все остатки могут быть объединены друг с другом, если в определении остатков явным образом не указано иное. Предполагается, что описаны все возможные варианты их группирования.

^{18}F -метки в приведенной выше таблице, содержащие триазолы, существуют в двух изомерных формах, обе из которых включены в изобретение и проиллюстрированы на приведенных формулах.

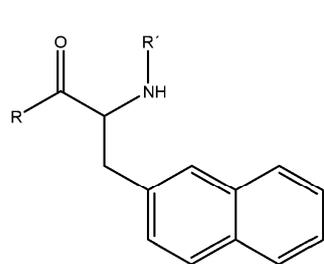
Таким образом, предпочтительные молекулы согласно настоящему изобретению состоят из трех основных компонентов (схема 1): гидрофильного мотива, связывающегося с ПСМА ($\text{Glu-мочевина-Lys} = \text{Glu-NH-CO-NH-Lys}$), двух переменных линкеров (линкер А и линкер В) и ^{18}F -метки.

Схема 1

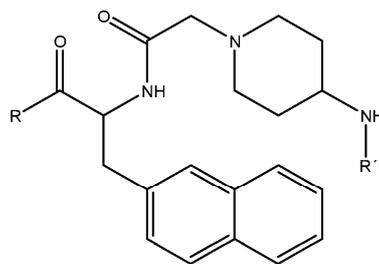
Структура предпочтительных соединений согласно настоящему изобретению



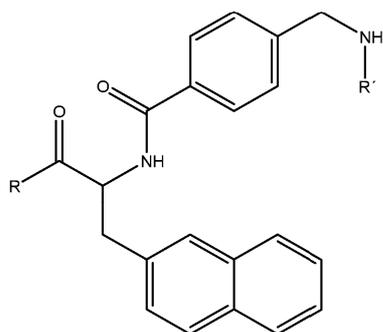
Некоторые предпочтительные липофильные линкеры (линкер А) показаны ниже, где $R = \text{Glu-мочевина-Lys}$ (мотив, связывающий ПСМА), и $R' = (\text{линкер В})_m - [^{18}\text{F-метка}]$, $m=1-5$



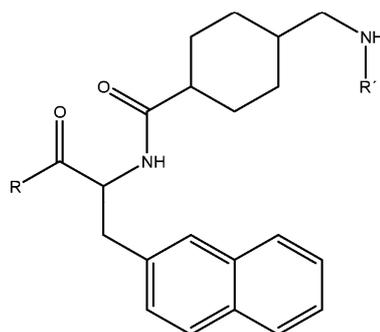
(2-Nal)



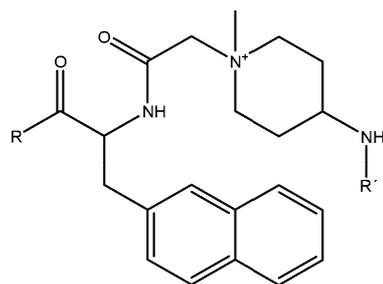
(2-Nal)-(AcAP)



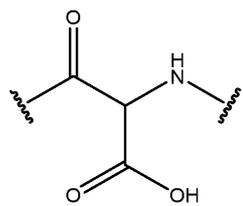
(2-Nal)-(Bn)



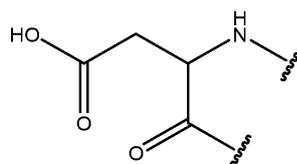
(2-Nal)-(Chx)

(В виде любой фармацевтически приемлемой соли)
(2-Nal)-(AcAMP)

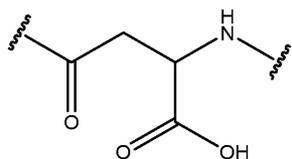
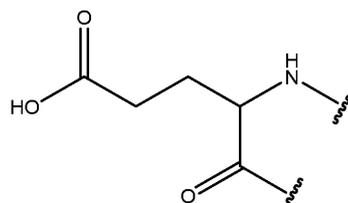
Различные предпочтительные строительные блоки для гидрофильных линкеров (линкер В) показаны ниже, где предпочтительные способы присоединения приведены для соответствующих отдельных аминокислот ($m = 1$ в общей структуре)



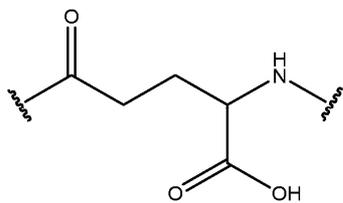
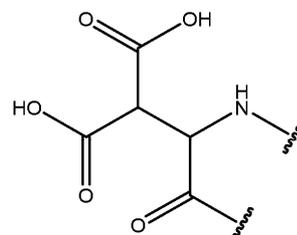
(Mal)



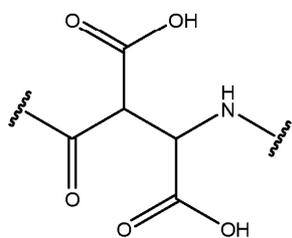
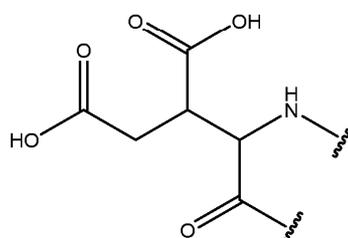
(Asp)

 $(\beta$ Asp)

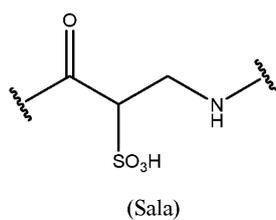
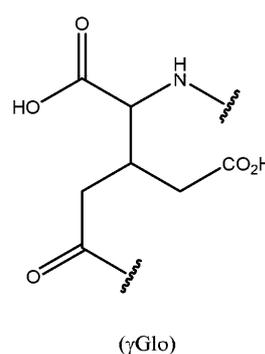
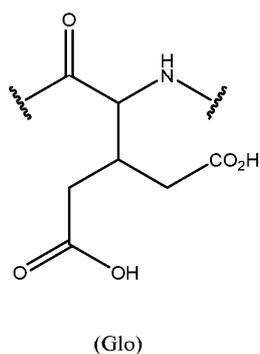
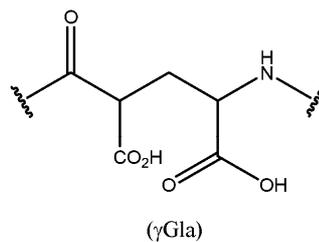
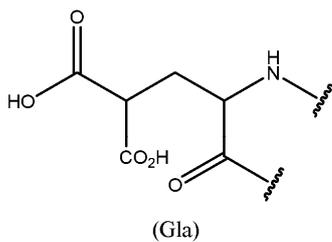
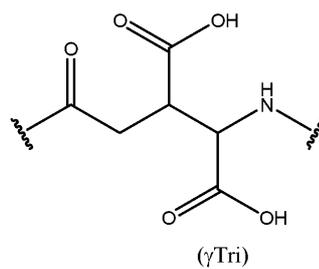
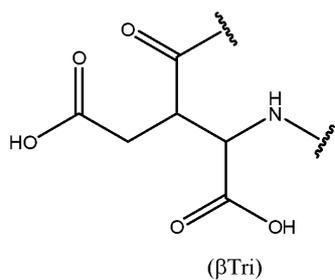
(Glu)

 $(\gamma$ Glu)

(Lym)

 $(\beta$ Lym)

(Tri)

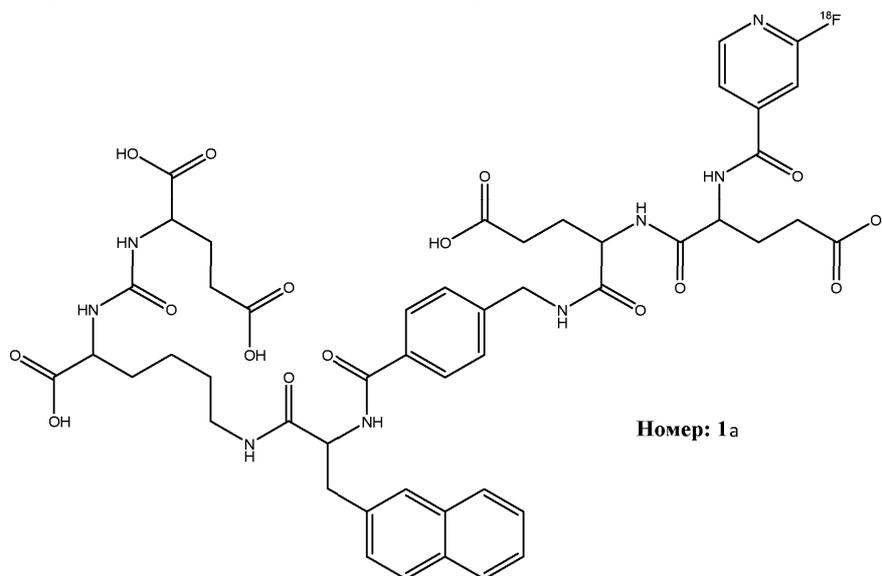


Предпочтительные гидрофильные линкеры также могут быть получены из двух или более строительных блоков ($m = 2-5$ в общей формуле), предпочтительно выбранных из кислотных строительных блоков, перечисленных выше. Предпочтительным является применение 1-3 строительных блоков.

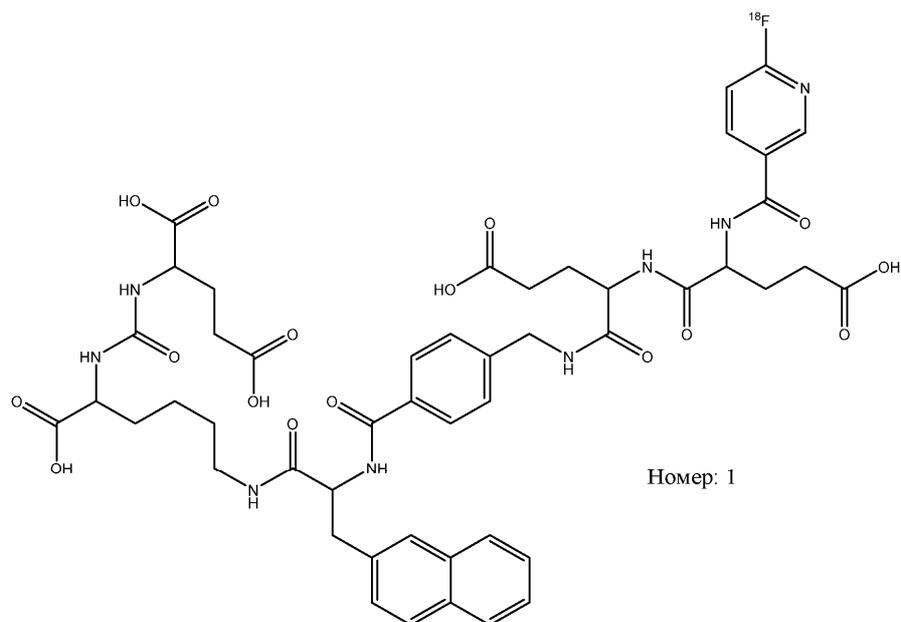
Ряд предпочтительных структур перечислен ниже в таблице

Номер	Липофильный линкер (= линкер А)	Гидрофильный линкер (= линкер В)			¹⁸ F-метка
		Пол. 1	Пол. 2	Пол. 3	
1	(2-Nal)-(Bn)	(Glu)	(Glu)	-	[¹⁸ F]FN
2	(2-Nal)	(Glu)	(Glu)	-	[¹⁸ F]FN
3	(2-Nal)	(γGlu)	(Glu)	-	[¹⁸ F]FN
4	(2-Nal)-(Bn)	(Glu)	-	-	[¹⁸ F]FN
5	(2-Nal)-(AcAMP)	(γGlu)	(γGlu)	-	[¹⁸ F]FN
6	(2-Nal)-(Bn)	(Glu)	(γGlu)	-	[¹⁸ F]FN
7	(2-Nal)-(Bn)	(γGlu)	(Glu)	-	[¹⁸ F]FN
8	(2-Nal)-(Bn)	(γGlu)	(γGlu)	-	[¹⁸ F]FN
9	(2-Nal)-(Bn)	(Asp)	(Glu)	-	[¹⁸ F]FN
10	(2-Nal)-(Bn)	(βAsp)	(Glu)	-	[¹⁸ F]FN
11	(2-Nal)-(Bn)	(Asp)	(γGlu)	-	[¹⁸ F]FN
12	(2-Nal)-(Bn)	(βAsp)	(γGlu)	-	[¹⁸ F]FN
13	(2-Nal)-(Bn)	(Mal)	(Glu)	-	[¹⁸ F]FN
14	(2-Nal)-(Bn)	(Mal)	(γGlu)	-	[¹⁸ F]FN
15	(2-Nal)-(Bn)	(Gla)	(Glu)	-	[¹⁸ F]FN
16	(2-Nal)-(Bn)	(γGla)	(Glu)	-	[¹⁸ F]FN
17	(2-Nal)-(Bn)	(Gla)	(γGlu)	-	[¹⁸ F]FN
18	(2-Nal)-(Bn)	(γGla)	(γGlu)	-	[¹⁸ F]FN

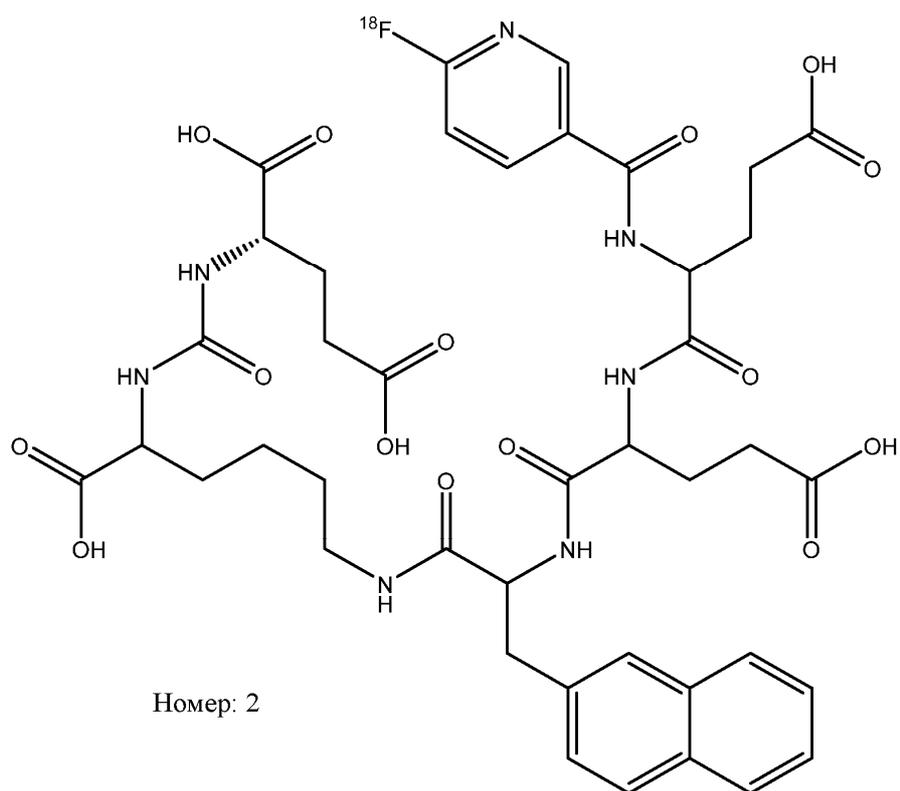
Структуры предпочтительных соединений 1-18, приведенных выше в таблице, показаны ниже



или

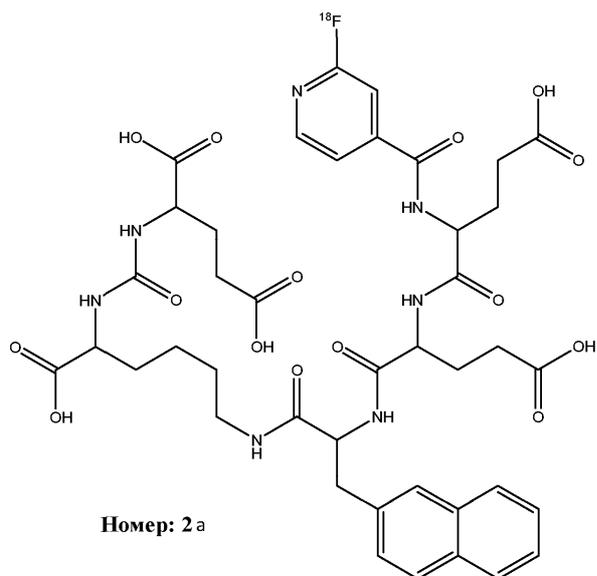


"PSMA 1007"

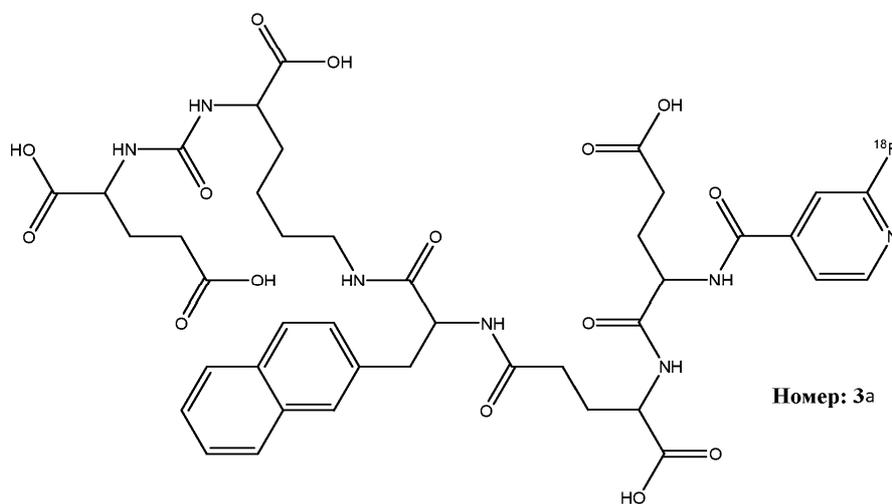


или

037512

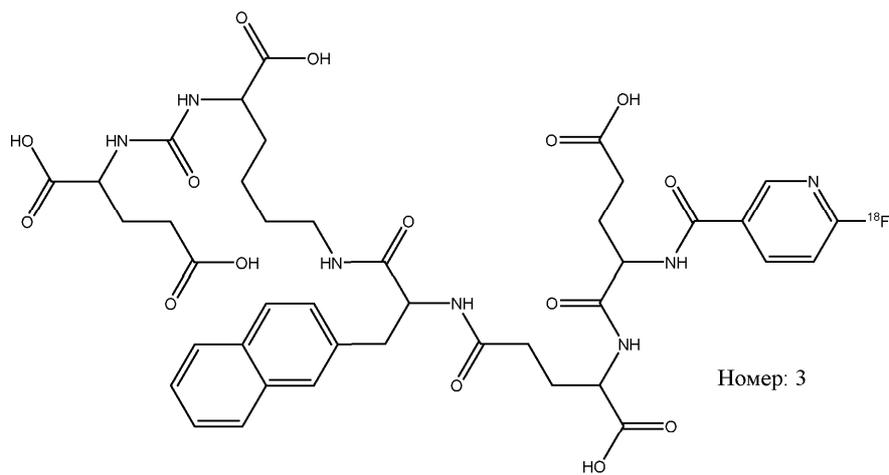


“PSMA1011”

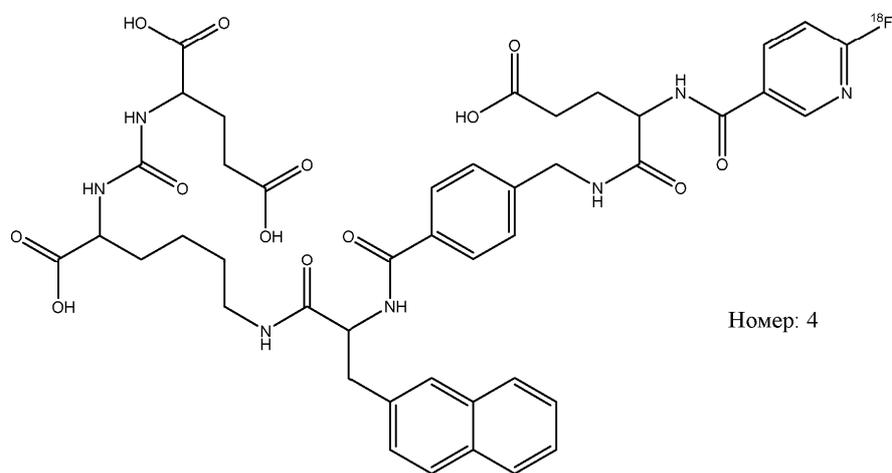


ИЛИ

037512

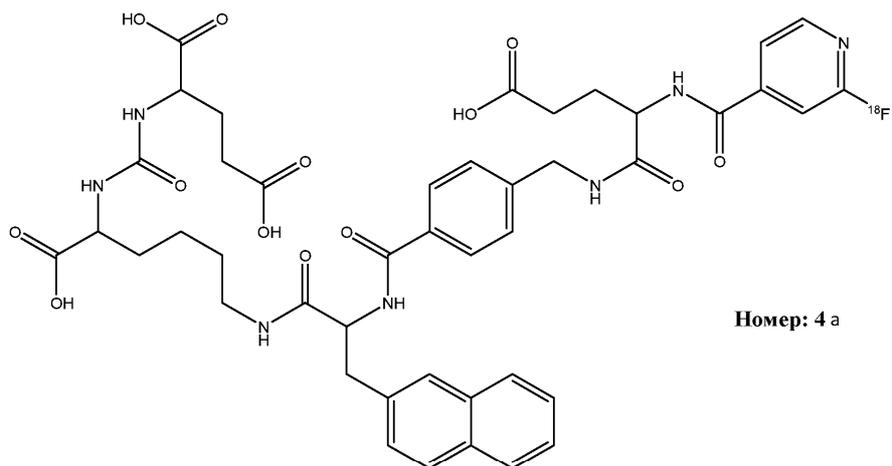


“PSMA1012”



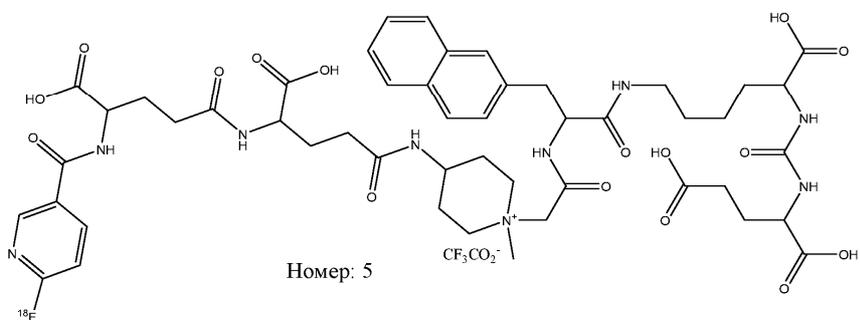
или

037512



Номер: 4 а

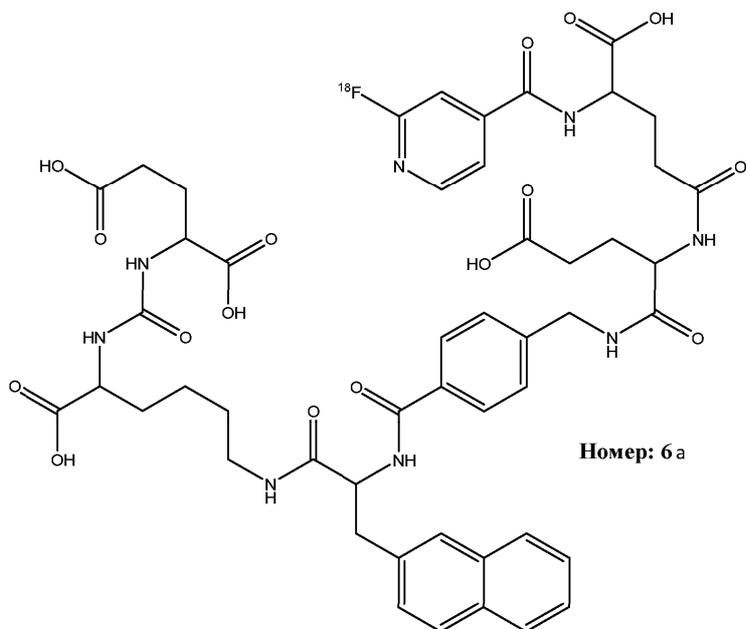
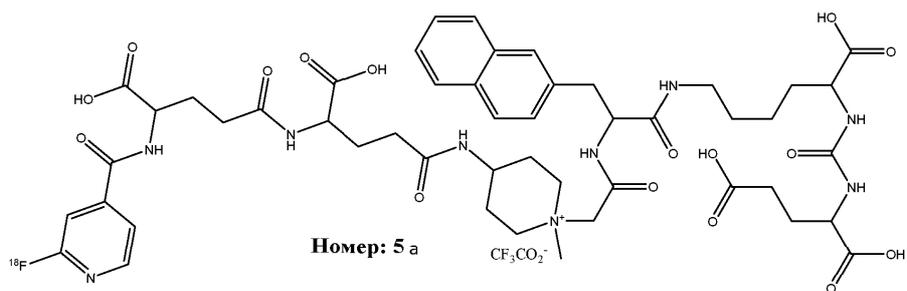
"PSMA1015"



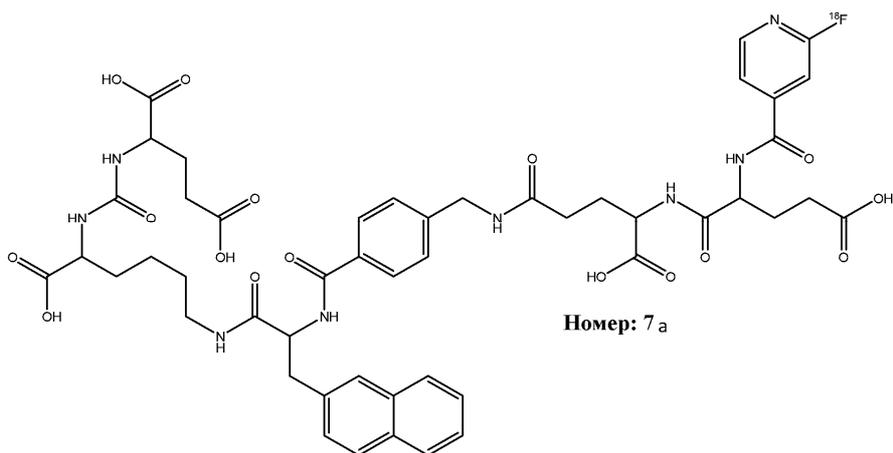
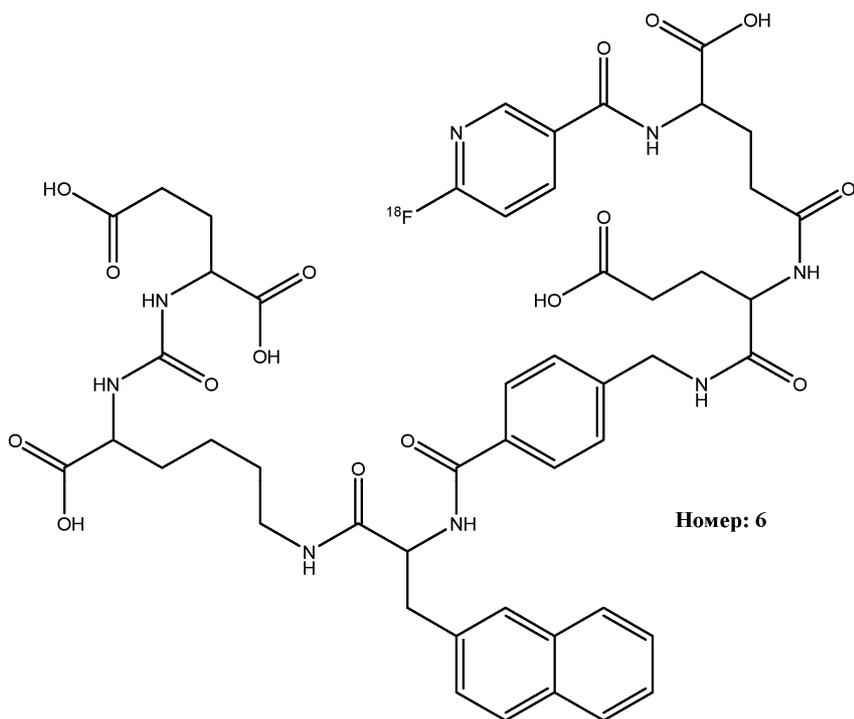
Номер: 5

ИЛИ

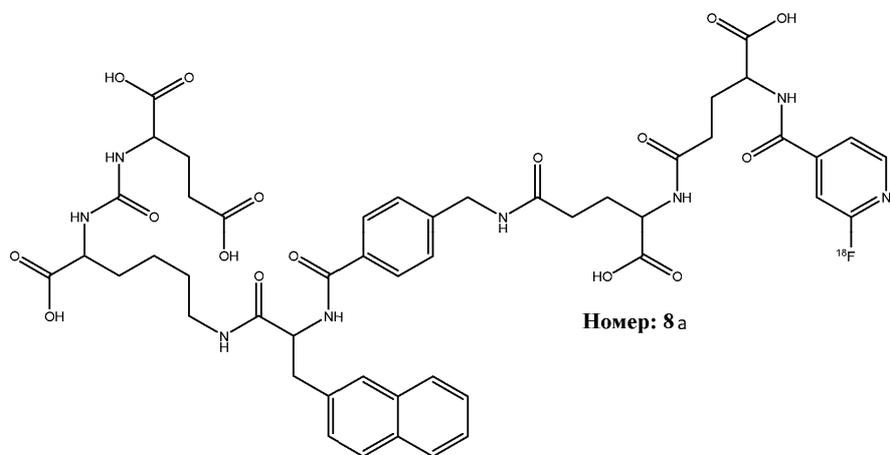
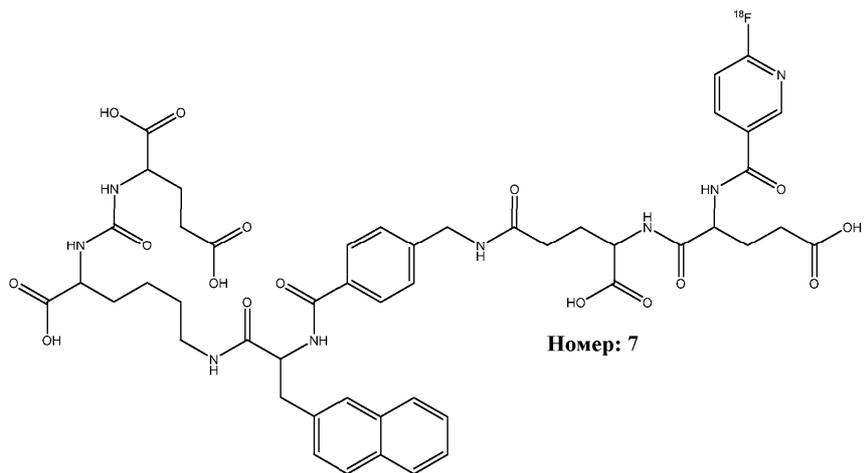
037512



ИЛИ

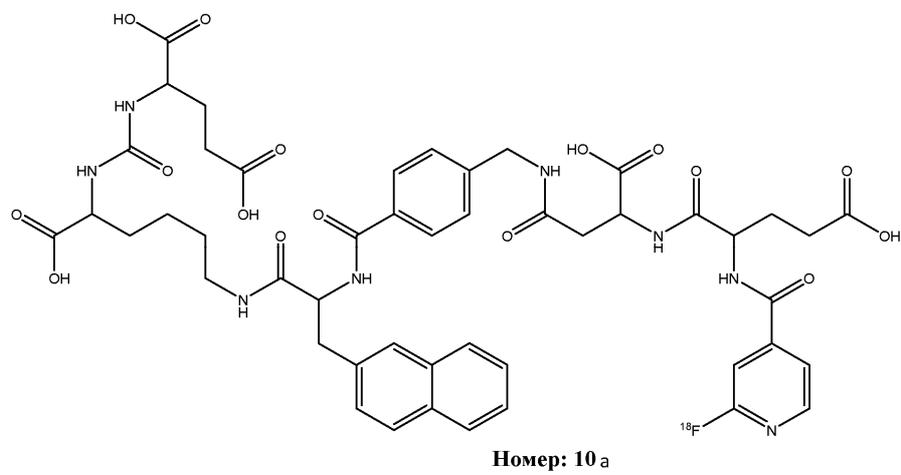
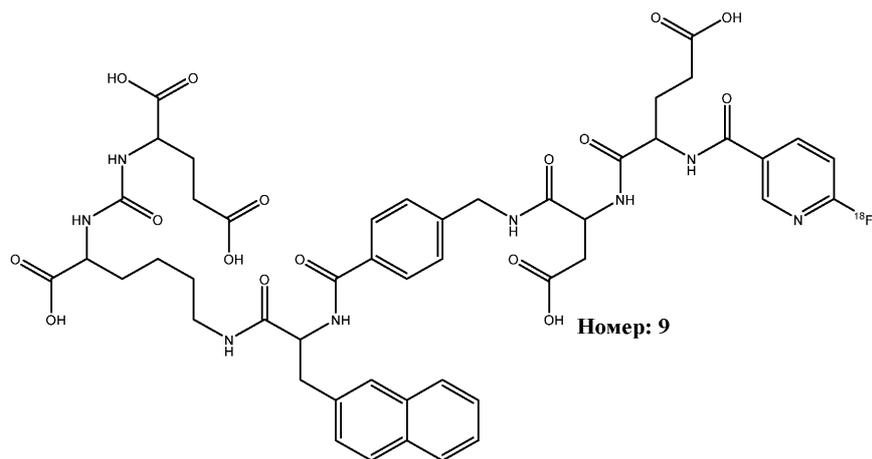


ИЛИ

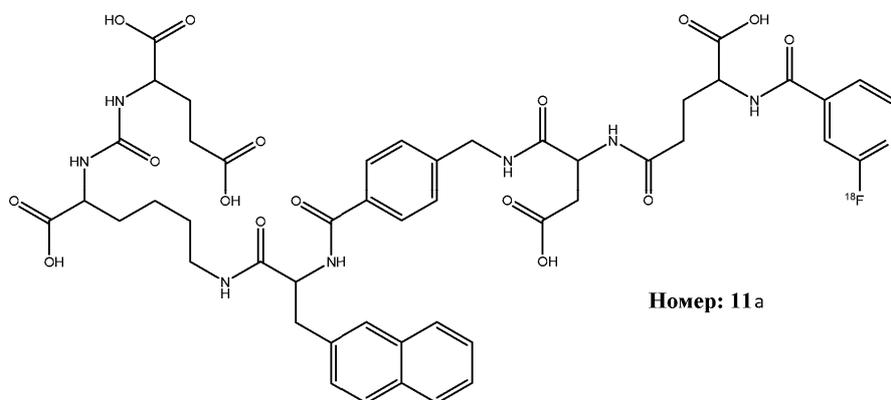
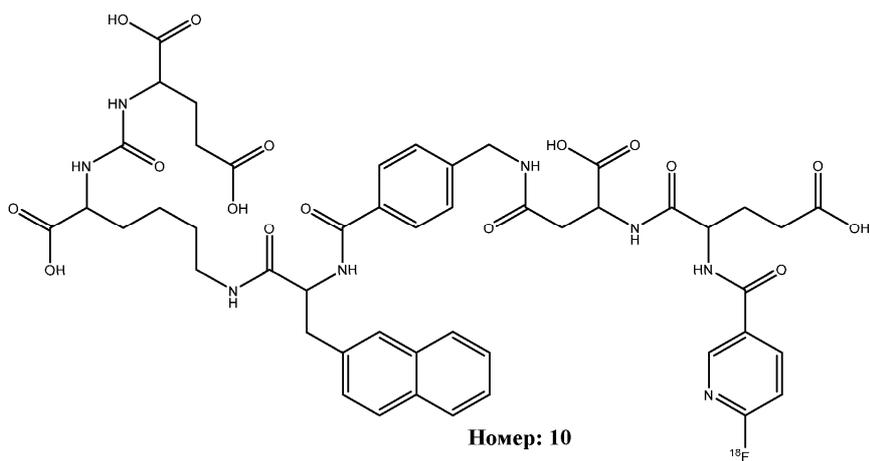


ИЛИ

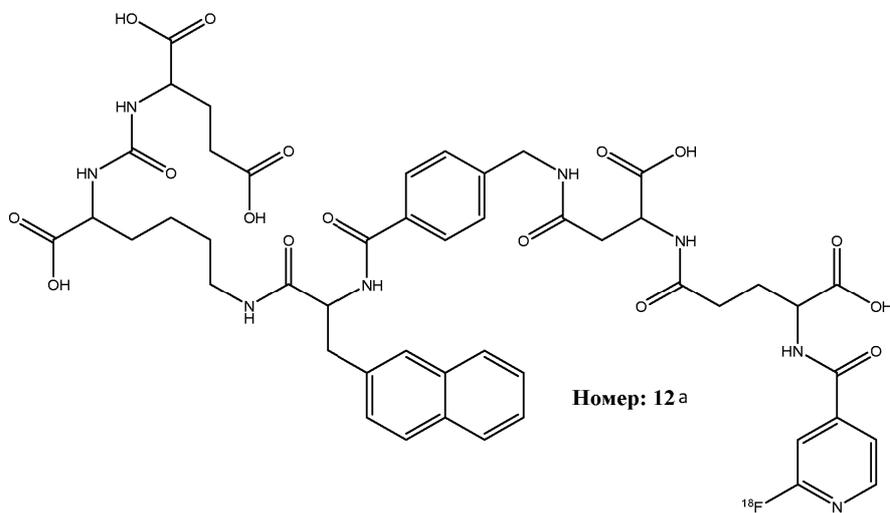
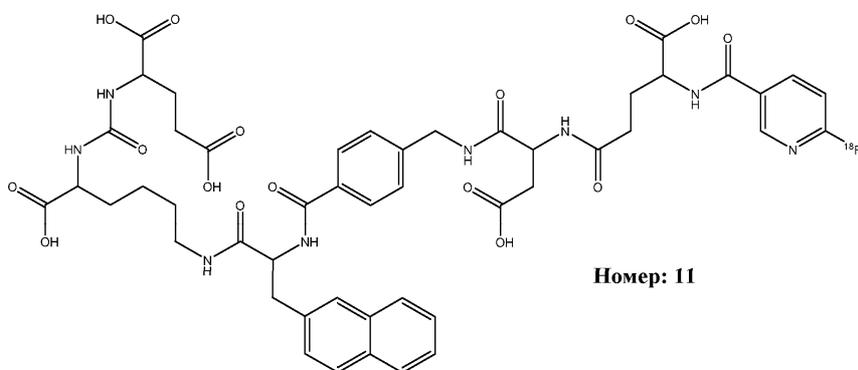
037512



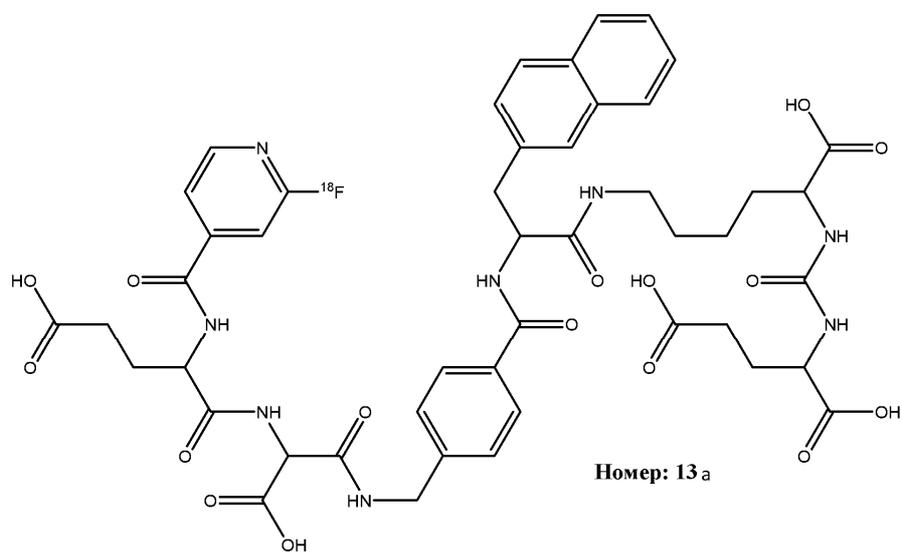
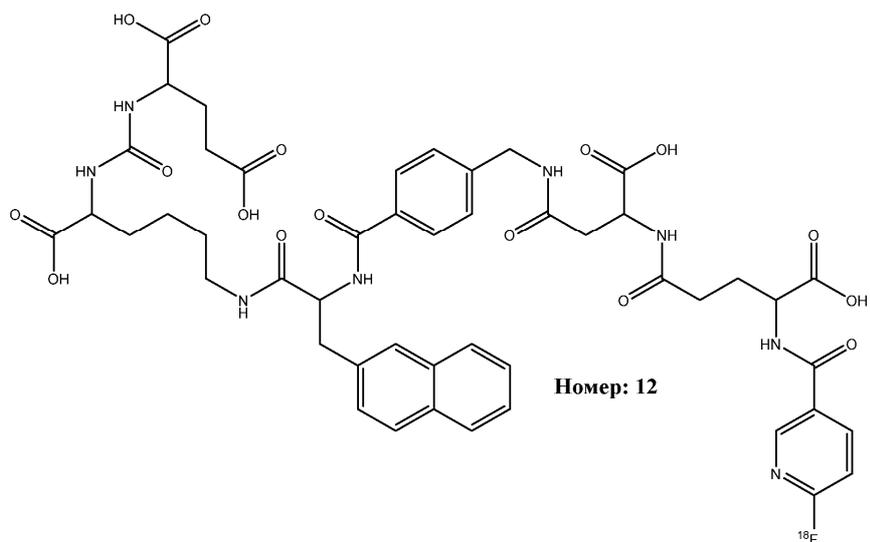
ИЛИ



ИЛИ

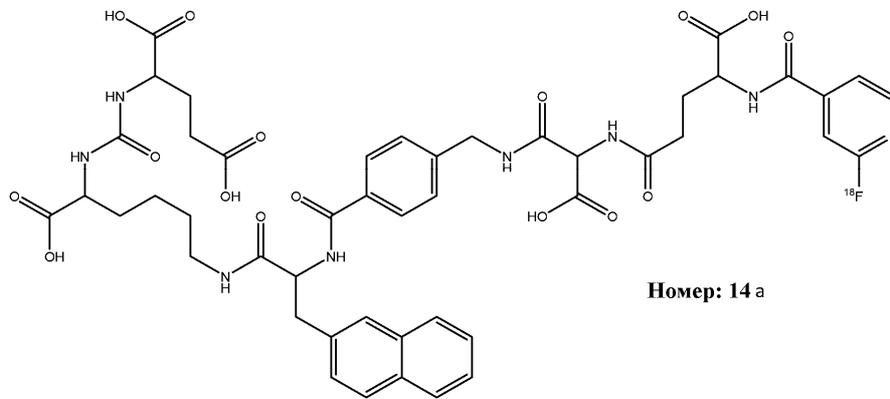
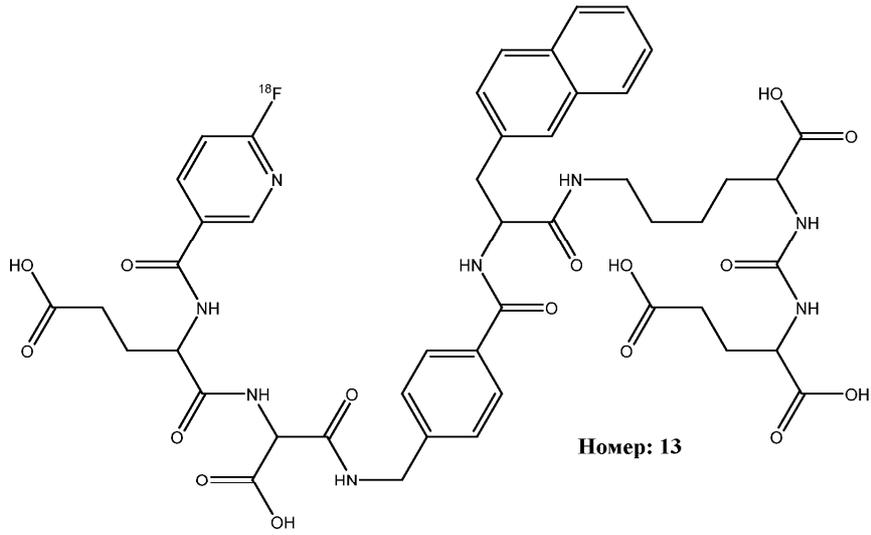


ИЛИ



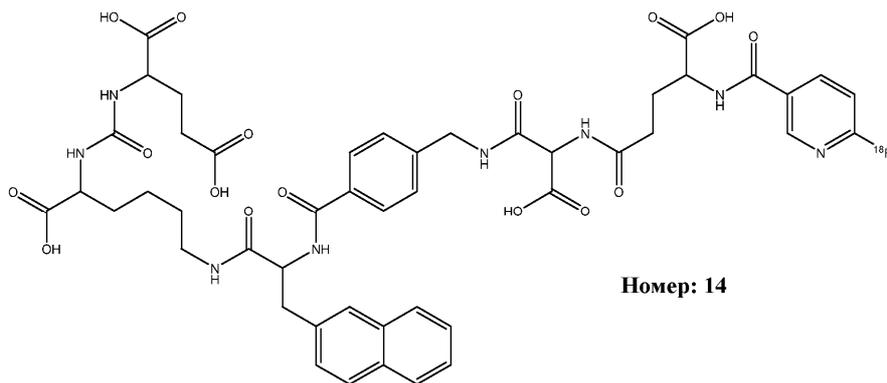
ИЛИ

037512

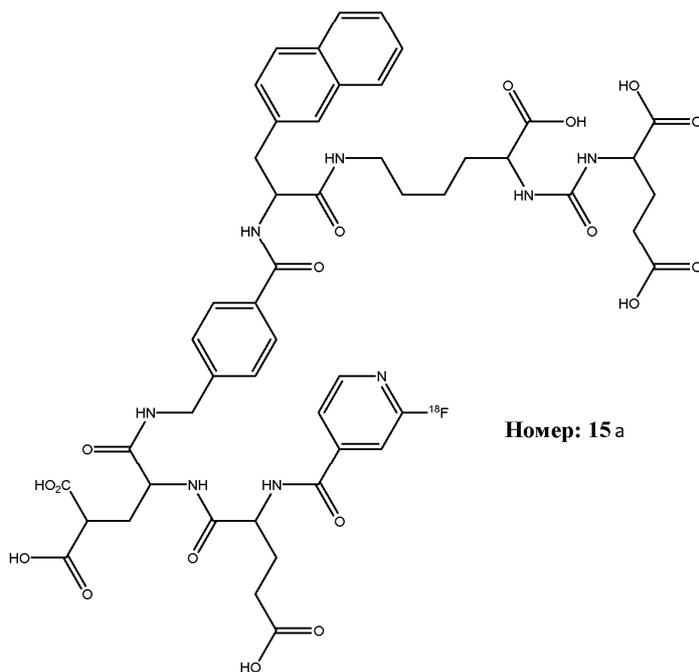


ИЛИ

037512



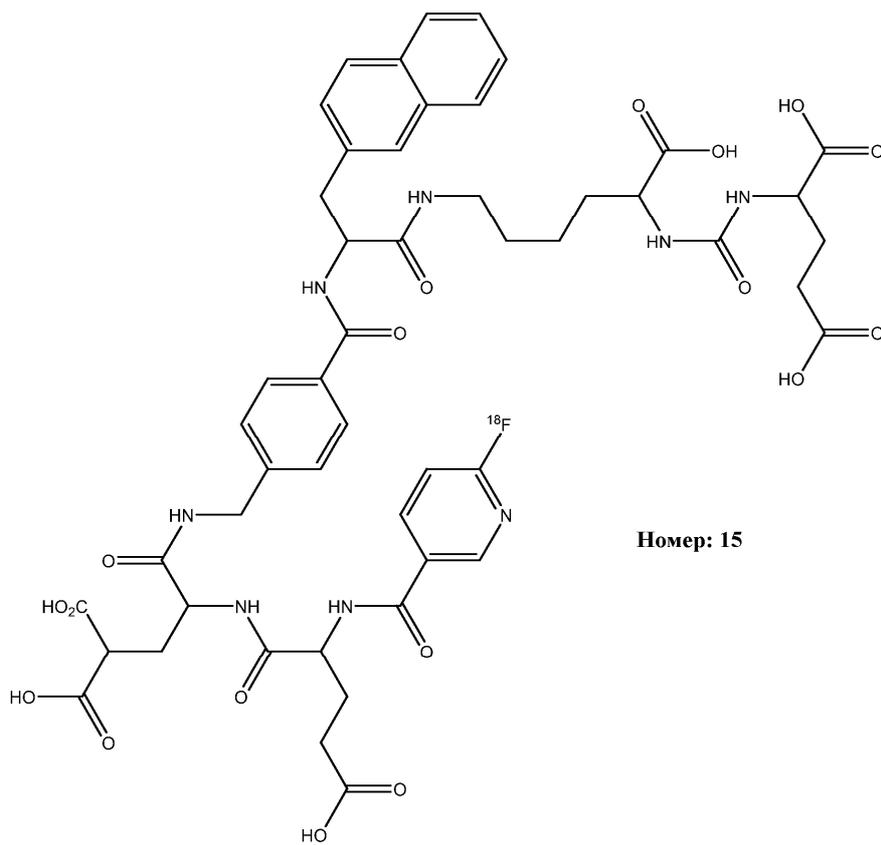
Номер: 14



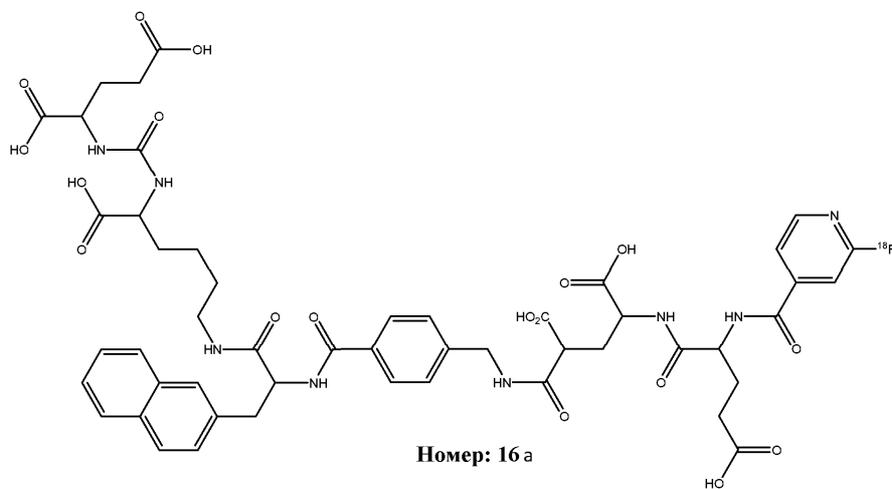
Номер: 15a

ИЛИ

037512



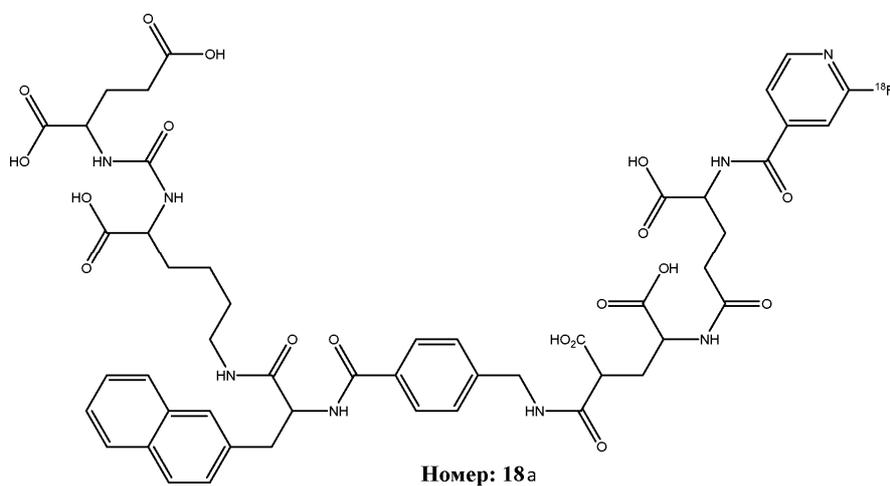
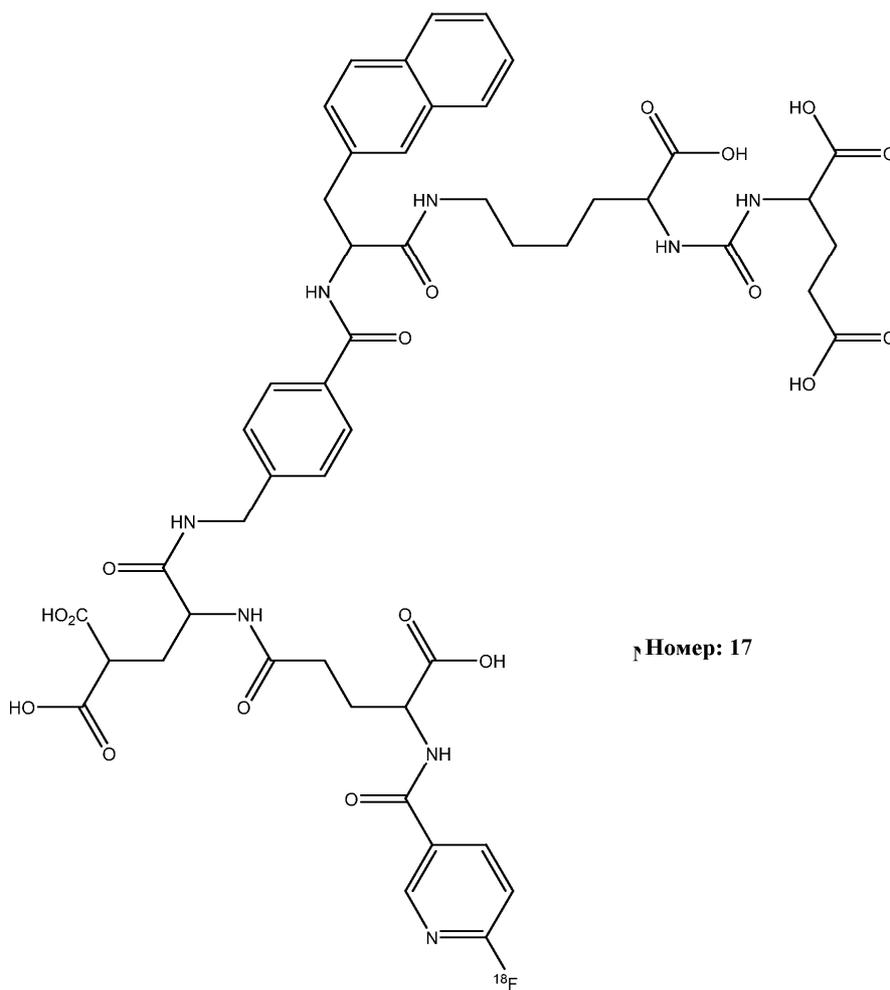
Номер: 15



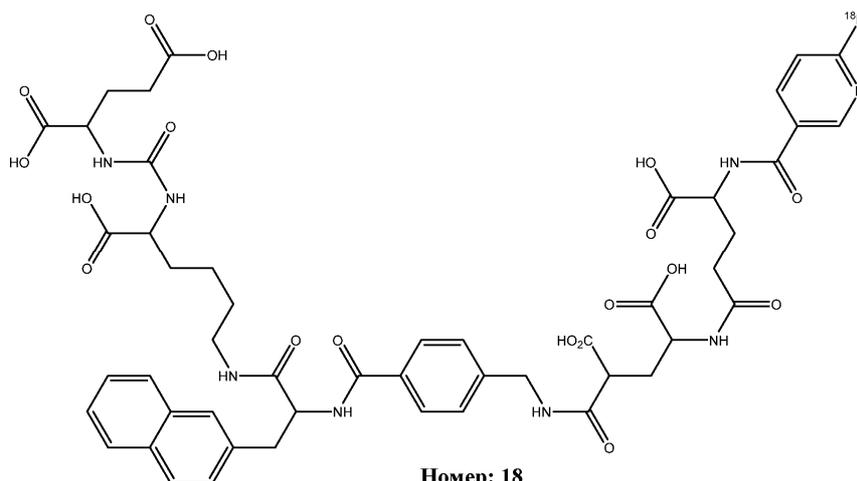
Номер: 16 а

ИЛИ

037512



ИЛИ



Номер: 18

Специалистам в данной области техники будет понятно, что указанные выше предпочтительные соединения 1-18 не ограничены показанными ^{18}F -метками, но ^{18}F -метки можно легко заменять стандартными способами, и можно применять любые ^{18}F -метки, предложенные для формулы I.

Изобретение также относится к предшественникам или фармацевтически приемлемым солям соединений общей формулы I. Изобретение также относится к сольватам соединений, включая их соли, а также активные метаболиты, и, если это возможно, к таутомерам, соответствующим общей формуле I, включая составы пролекарств.

"Фармацевтически приемлемая соль" представляет собой фармацевтически приемлемую органическую или неорганическую кислую или основную соль соединения согласно настоящему изобретению. Типовые фармацевтически приемлемые соли включают, например, соли щелочных металлов, соли щелочно-земельных металлов, соли аммония, водорастворимые и не растворимые в воде соли, такие как ацетат, карбонат, хлорид, глюконат, глутамат, лактат, лаурат, малат или тартрат.

Термин "пролекарство" относится к предшественнику лекарственного средства, представляющему собой соединение, которое при введении пациенту должно претерпевать конверсию под действием метаболических процессов перед превращением в активный фармакологический агент. Пролекарства в общем случае представляют собой предшественники лекарственных средств, которые после введения субъекту и последующего всасывания превращаются в активные или более активные вещества под действием некоторого процесса, такого как конверсия по метаболическому пути. Некоторые пролекарства содержат химическую группу пролекарства, которая делает их менее активными и/или придает растворимость или некоторое другое свойство лекарственному средству. После отщепления и/или модификации химической группы в пролекарстве образуется активное лекарственное вещество. Пролекарства превращаются в активное лекарственное вещество в организме в результате ферментных или неферментных реакций. Пролекарства могут обеспечивать улучшенные физико-химические свойства, такие как улучшенная растворимость, улучшенные характеристики доставки, такие как специфическое направленное воздействие на конкретную клетку, ткань, орган или лиганд, или улучшенную терапевтическую ценность лекарственного средства. Иллюстративными пролекарствами соединений общей формулы I являются сложные эфиры и амиды, предпочтительно сложные алкильные эфиры или сложные эфиры жирных кислот. Составы пролекарств согласно настоящему изобретению содержат все вещества, которые образуются в результате простого превращения, включая гидролиз, окисление или восстановление, которые могут происходить в результате ферментных, метаболических реакций или любыми другими способами. Подходящее пролекарство содержит, например, вещество общей формулы I, связанное посредством отщепляемого ферментами линкера (например, карбамата, фосфата, N-гликозида или дисульфидной группы) с веществом, улучшающим растворимость (например, с тетраэтиленгликолем, сахарами, муравьиной кислотой или глюкуроновой кислотой и т.д.). Указанное пролекарство соединения согласно настоящему изобретению можно вводить пациенту, и указанное пролекарство может превращаться в вещество общей формулы I для обеспечения целевого фармакологического эффекта.

Некоторые соединения формулы I включены в виде рацематов, энантиомеров и необязательно в виде диастереомеров и всех возможных смесей.

Согласно изобретению все хиральные атомы C могут иметь D- и/или L-конфигурацию; кроме того, возможны комбинации в рамках одного соединения, т.е. некоторые хиральные атомы C могут иметь D-, и другие могут иметь L-конфигурацию.

Полученные соединения можно необязательно разделять известными способами (например, Allinger, N.L. und Elliel E.L. в „Topics in Stereochemistry" Vol. 6, Wiley Interscience, 1971) на энантиомеры и/или диастереомеры. Одним из возможных способов разделения энантиомеров является использование хроматографии.

В изобретение также включены все предшественники соединений общей формулы I. Термин

"предшественник" относится к любому соединению, которое можно применять для получения соединенной формулы I. Типовой предшественник может представлять собой соединение, не содержащее ^{18}F -метку, которую вводят на более поздних стадиях для завершения получения соединения.

Изобретение также относится к фармацевтическим препаратам, которые содержат диагностически или терапевтически эффективное количество активных ингредиентов (соединения формулы I согласно изобретению) совместно с органическими или неорганическими твердыми или жидкими фармацевтически приемлемыми носителями, которые подходят для предполагаемого способа введения и взаимодействуют с активными ингредиентами в отсутствие нежелательных аспектов.

Фразу "фармацевтически приемлемый" используют в настоящей заявке для описания соединений, материалов, композиций и/или лекарственных форм, которые по результатам тщательного медицинского обследования подходят для применения в контакте с тканями пациента в отсутствие избыточной токсичности, раздражения, аллергического ответа или другой проблемы или осложнения и имеют приемлемое отношение польза/риск.

"Пациент" включает животное, такое как человек, обезьяна, корова, лошадь, кошка или собака. Животное может представлять собой млекопитающее, такое как млекопитающее, отличное от примата, или примат (например, обезьяна или человек). В одном из вариантов реализации пациент представляет собой человека.

В общем случае соединение формулы I или содержащие его фармацевтические композиции можно вводить перорально или парентеральным способом, как правило, путем инъекции или инфузии.

"Парентеральный способ введения" обозначает режимы введения, отличные от энтерального и местного введения, как правило, путем инъекции, и включает без ограничений внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрикапсулярную, внутриглазничную, внутрисердечную, внутрикожную, интраперитонеальную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную и внутригрудинную инъекцию и инфузию.

Дозировка соединений согласно настоящему изобретению определяется лечащим врачом на основании параметров конкретного пациента, таких как возраст, вес, пол, тяжесть заболевания и т.д. В соответствии со способом введения получают подходящий состав лекарственного средства, например, в виде растворов или суспензий, простых таблеток и драже, твердых или мягких желатиновых капсул, суппозиторий, вагинальных суппозиторий, препаратов для инъекции, которые получают согласно традиционным галеновым способам.

Соединения согласно настоящему изобретению можно вводить в состав, если это уместно, совместно с дополнительными активными веществами и вспомогательными веществами и носителями, традиционно используемыми в фармацевтических композициях, например, в зависимости от применяемого препарата, с тальком, аравийской камедью, лактозой, крахмалом, стеаратом магния, маслом какао, водными и неводными носителями, жирными веществами животного или растительного происхождения, производными парафинов, гликолями (в частности, полиэтиленгликолем), различными пластификаторами, диспергирующими агентами или эмульгаторами, фармацевтически совместимыми газами (например, с воздухом, кислородом, диоксидом углерода и т.д.), консервантами.

Для получения жидких препаратов можно использовать добавки, такие как раствор хлорида натрия, этанол, сорбит, глицерин, оливковое масло, миндальное масло, пропиленгликоль или этиленгликоль.

Используемые растворы для инфузии или инъекции предпочтительно представляют собой водные растворы или суспензии, их можно получать перед использованием, например, из лиофилизированных препаратов, которые содержат активное вещество, как таковое, или совместно с носителем, таким как маннит, лактоза, глюкоза, альбумин и т.д. Готовые к употреблению растворы стерилизуют и, если это уместно, смешивают со вспомогательными веществами, например с консервантами, стабилизаторами, эмульгаторами, веществами, увеличивающими растворимость, буферами и/или солями для регулирования осмотического давления. Стерилизацию можно проводить путем стерильного фильтрования с использованием фильтров, имеющих небольшой размер пор, в результате чего композицию можно лиофилизировать, если это необходимо. Для поддержания стабильности также можно добавлять небольшие количества антибиотиков.

Фразы "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" при использовании в настоящем описании обозначают такое количество соединения, материала или композиции, содержащей соединение согласно настоящему изобретению, или другого активного ингредиента, которое является эффективным для обеспечения некоторого желательного терапевтического эффекта по меньшей мере в субпопуляции клеток у животного при приемлемом отношении польза/риск, которое относится к любому медикаментозному лечению. Терапевтически эффективное количество при использовании в отношении соединения согласно настоящему изобретению обозначает такое количество терапевтического агента, применяемого отдельно или в комбинации с другими способами терапии, которое обеспечивает терапевтическое благоприятное действие при лечении или предупреждении заболевания. При использовании в отношении соединения согласно настоящему изобретению термин может включать количество, которое улучшает терапию в целом, ослабляет или предотвращает симптомы или причины заболевания

или увеличивает эффективность терапии или синергию с другим терапевтическим агентом.

Предполагается, что при использовании в настоящем описании термины "лечение" или "способ лечения" включают также диагностику, профилактику, предупреждение, терапию и исцеление.

Термины "предупреждать", "предотвращение" и "способ предупреждения" относятся к предупреждению появления, повторного появления или распространения заболевания у пациента в результате введения профилактического или терапевтического агента.

Как отмечалось выше, соединения общей формулы I подходят для применения в качестве агентов радиовизуализации или терапевтических средств при лечении быстро пролиферирующих клеток, например клеток рака простаты, экспрессирующих ПСМА. Согласно настоящему изобретению их называют "радиофармацевтическими средствами".

Предпочтительными способами визуализации являются позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) или однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ).

Соответственно, в одном из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы I, его соль, сольват, стереоизомер или таутомер и фармацевтически приемлемый носитель. Соответственно, предложена фармацевтическая композиция, которая подходит для визуализации *in vivo* и лучевой терапии. Подходящие фармацевтические композиции могут содержать соединение формулы I в количестве, которое является достаточным для визуализации, совместно с фармацевтически приемлемым радиологическим носителем. Радиологический носитель должен подходить для инъекции или аспирации, например, представляет собой альбумин сыворотки человека; водные буферные растворы, например трис(гидрометил)аминометан (и его соли), фосфатные, цитратные, бикарбонатные и т.д.; стерильный водный физиологический солевой раствор; и сбалансированные ионные растворы, содержащие хлоридные и/или дикарбонатные соли или обычные катионы плазмы крови, такие как кальций, калий, натрий и магний.

Концентрация визуализирующего агента или терапевтического агента в радиологическом носителе должна быть достаточной для обеспечения удовлетворительной визуализации. Например, при использовании водного раствора дозировка составляет от примерно 1,0 до 100 милликюри. Фактическая доза, вводимая пациенту для визуализации или в терапевтических целях, тем не менее, определяется врачом, проводящим лечение. Визуализирующий агент или терапевтический агент следует вводить таким образом, чтобы он удерживался в организме пациента от примерно 1 ч до 10 дней, хотя приемлемы более или менее продолжительные периоды времени. Таким образом, можно получать подходящие ампулы/пробирки, содержащие от 1 до 10 мл водного раствора.

Визуализацию можно проводить обычным способом, например путем инъекции достаточного количества визуализирующей композиции для обеспечения требуемой визуализации и последующего сканирования подходящим визуализирующим или сканирующим устройством, таким как томограф или γ -камера. В определенных вариантах реализации способ визуализации участка организма пациента включает стадии: (i) введения пациенту диагностически эффективного количества соединения, меченного радионуклидом; воздействия на участок организма в сканирующем устройстве; и (ii) получения изображения участка организма пациента.

Количество соединения согласно настоящему изобретению или его соли, сольвата, стереоизомера или таутомера, которое вводят пациенту, зависит от нескольких физиологических факторов, которые обычно учитывают лечащие врачи, включая природу проводимой визуализации, ткань, в которой необходимо проводить визуализацию или терапию, и массу тела и медицинскую историю пациента, которому необходимо проводить визуализацию или лечение с использованием радиофармацевтического средства.

В частности, заболевание или нарушение, связанное с пролиферацией клеток, которое лечат или визуализируют с использованием соединения, фармацевтической композиции или радиофармацевтического средства согласно настоящему изобретению, представляет собой рак, например рак простаты и/или метастазы рака простаты, например, в легком, печени, почке, костях, мозге, позвоночнике, мочевом пузыре и т.д.

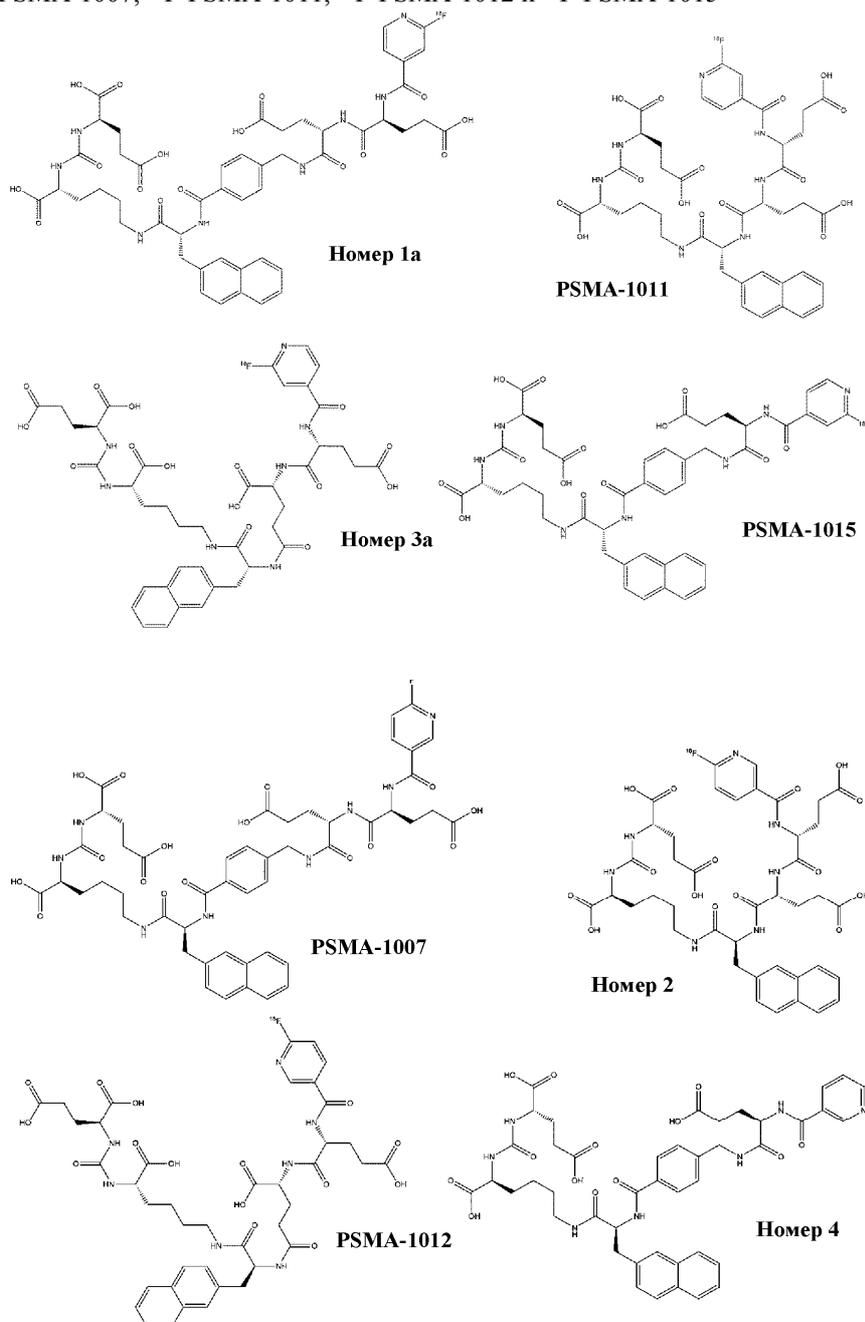
Синтез соединений согласно настоящему изобретению проводят согласно способам, хорошо известным из уровня техники (например, Hugenberg et al., *J. Med. Chem.* 2013, 56, стр. 6858-6870). Общие способы введения ^{18}F -метки в различные макромолекулы показаны на фиг. 1-7. Кроме того, см. Schubiger et al., *PET Chemistry: The Driving Force in Molecular Imaging*, Ernst Schering Research Foundation, Workshop 62, Springer Verlag, ISSN 0947-6075; Ross et al., *Current Radiopharmaceuticals*, 2010, 3, 202-223; Kuhnast et al., *Current Radiopharm* 3, 2010, 174; Bernard-Gauthier et al., *BioMed Research International*, 2014, 1; Maschauer and Prante, *BioMed Research International*, 2014, 1; Olberg et al., *J. Med. Chem.*, 2010, 53, 1732; Rostovtsev et al., *Angew. Chem.*, 2002, 114, 2708; Smith and Greaney, *Org. Lett.*, 2013, 15, 4826. Таким образом, специалисты в данной области техники смогут выбирать нужный способ введения ^{18}F -метки в зависимости от исходной молекулы. Синтез специфических линкерных молекул показан в Европейском патенте EP 13004991, содержание которого включено посредством ссылки.

Химические свойства синтезированных соединений охарактеризованы путем ОФ-ВЭЖХ, МС и/или ЯМР.

Новые меченные ^{18}F визуализирующие агенты со структурными модификациями в линкерной об-

ласти имеют улучшенные свойства направленного действия на опухоль и фармакокинетику. Фармакофор содержит три карбоксильные группы, которые могут взаимодействовать с соответствующими боковыми цепями ПСМА, и кислород в составе агента, образующего комплекс с цинком в активном центре. Помимо указанных необходимых взаимодействий авторы настоящего изобретения смогли оптимизировать липофильные взаимодействия в линкерной области по сравнению с соединениями, описанными в Европейском патенте EP 14003570.0. Более того, авторы настоящего изобретения смогли встроить некоторые гидрофильные строительные блоки в линкер в соединениях согласно настоящему изобретению (линкер В) для дополнительного улучшения фармакокинетики. Проводили оценку указанных соединений в исследованиях *in vitro* (аффинность, интернализация) и экспериментах *in vivo* (скрининг микро-ПЭТ и распределение в органах).

Четырнадцать предпочтительными соединениями, дающими наиболее многообещающие результаты, являются ^{18}F -PSMA-1007, ^{18}F -PSMA-1011, ^{18}F -PSMA-1012 и ^{18}F -PSMA-1015



ИЛИ

Все соединения метили фтором-18 с использованием ТФФ эфира 2- ^{18}F фторникотиновой кислоты с хорошим радиохимическим выходом. В табл. А показано, что аффинность связывания ингибиторов ПСМА, полученных к моменту подачи заявки, была по существу одинаковой и находилась в привычном диапазоне. Кроме того, все соединения, которые специфически интернализировали при 37°C, имели высокий уровень захвата клетками и значения интернализации (табл. В). Таким образом, исследуемые соединения имели оптимальные характеристики *in vitro* для высококонтрастной визуализации ПЭТ.

Соединения согласно настоящему изобретению изучали в исследованиях распределения в органах у мышей, имеющих опухоль LNCaP (ПСМА-положительные) с блоком РМРА или без него. Результаты, которые были получены для предложенного соединения PSMA-1007 (это не означает, что изобретение каким-либо образом ограничено только указанным конкретным соединением) приведены на фиг. 8 и 9. Захват в опухоли составлял примерно $8,0 \pm 2,4\%$ ИД/г. Так как в эксперименте блокировки не наблюдали поддающуюся измерению блокировку связывания, эксперимент распределения в органах повторяли у мышей, имеющих опухоль PC3 (ПСМА-отрицательная; результаты показаны на фиг. 8). В этом случае захват в опухоли практически не наблюдали. Таким образом, захват в опухоли рассматривали как специфический. Кроме того, по сравнению с распределением в органах, наблюдаемым для контрольного соединения PSMA-1003, описанного в европейском патенте EP 14003570.0 и показанного на фиг. 12, новое соединение PSMA-1007 имело значительно пониженный захват в нецелевых тканях, таких как печень и тонкий кишечник. Таким образом, проводили дополнительную оценку PSMA-1007 в эксперименте микро-ПЭТ. Результаты показаны на фиг. 10 и 11. В указанном эксперименте опухоль LNCaP удалось хорошо визуализировать ($SUV_{max} = 3,1$ через 120-140 мин п.и.). Нежелательный захват в желчном пузыре может являться показателем метаболитов. Новый класс меченных фтором-18 ингибиторов ПСМА, в целом, имел значительный потенциал в качестве возможной метки для детектирования рака простаты и его метастазов.

При введении [^{18}F]PSMA-1007 здоровому добровольцу были сделаны несколько важных выводов. Во-первых, эффективная доза для скана ПЭТ/КТ с 200-250 МБк составляет 4,3-5,4 мЗв ($2,15$ мЗв/МБк; фиг. 14). Более 95% активности в кровяном депо присутствует в сыворотке (инфильтрация красных кровяных телец является незначительной или не происходит), и в первые 3 ч после инъекции клиренс составляет более 90%. На момент подачи заявки полученные результаты были сравнимыми с другими важными метками ПСМА. Тем не менее, по сравнению с другими известными метками ПСМА соединения согласно настоящему изобретению, в частности [^{18}F]PSMA-1007, обеспечивают особенный гепатобилиарный клиренс, при котором клиренс по почечному пути является незначительным. Такой впечатляющий низкий клиренс в моче позволяет проводить превосходную оценку ложа предстательной железы. Таким образом, метки согласно настоящему изобретению превосходно подходят для первичной диагностики рака простаты и местных рецидивов.

Это было дополнительно продемонстрировано результатами исследования первого применения у человека. В указанном исследовании были получены превосходные отношения опухоль-фон, составляющие до 10 в случае первичной опухоли, при этом накопление метки в мочевом пузыре не влияло на сигнал. Кроме того, можно было детектировать метастазы в лимфатических узлах с диаметром менее 1 мм, что соответствует разрешающей способности сканов ПЭТ с использованием F-18. Исследование корреляции с образцами, полученными в анализе тазовой лимфаденэктомии, подтвердило специфичность 95%. Кроме того, проводили анализ образцов, полученных при простатэктомии, путем гистопатологии, была показана превосходная корреляция с изображениями, полученными путем ПЭТ. Полученные результаты явным образом демонстрируют возможность применения визуализации рака простаты с использованием соединений согласно настоящему изобретению, в частности [^{18}F]PSMA-1007.

В приведенных ниже примерах изобретение объясняется более подробно, но их не следует рассматривать как ограничивающие изобретение каким-либо образом только предложенными вариантами реализации.

Примеры

Пример 1. Синтез предшественников ингибиторов, конъюгированных с ^{18}F , и нерадиоактивных соединений сравнения.

Изоцианат в глутамильном фрагменте получали *in situ* путем добавления смеси 3 ммоль гидрохлорида бис(трет-бутил)-L-глутамата и 1,5 мл N-этилдизопропиламина (DIPEA) в 200 мл сухого CH_2Cl_2 в растворе 1 ммоль трифосгена в 10 мл сухого CH_2Cl_2 при 0°C в течение 4 ч. После перемешивания реакционной смеси в течение 1 ч при 25°C добавляли 0,5 ммоль иммобилизованного на смоле (2-хлор-третил-смола)-ε-аллилоксикарбонилзащищенного лизина в 4 мл ДХМ и проводили взаимодействие в течение 16 ч при осторожном перемешивании. Отфильтровывали смолу и аллилоксикарбонилзащитную группу удаляли с использованием 30 мг тетракис(трифенил)палладия(0) и 400 мкл морфолина в 4 мл CH_2Cl_2 в течение 3 ч.

Последующее сочетание с "линкерными аминокислотами" (такими как определено на формуле I и схеме 1, показанных выше) проводили постадийно с использованием 2 ммоль Fmoc-защищенной кислоты, 1,96 ммоль HBTU и 2 ммоль N-этилдизопропиламина в конечном объеме 4 мл ДМФ.

Продукт удаляли из смолы с использованием 2 мл смеси, состоящей из трифторуксусной кислоты, триизопропилсилана и воды (95:2,5:2,5). Очистку проводили путем ОФ-ВЭЖХ и анализировали очищенный продукт путем аналитической ОФ-ВЭЖХ и MALDI-МС.

Для получения нерадиоактивных соединений сравнения проводили сочетание с 50 мг активированной HBTU/DIPEA (0,98 и 1 экв.) 6-фторникотиновой-3-кислоты в конечном объеме 4 мл ДМФ и перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре, продукт удаляли из смолы согласно приведенному

выше описанию.

В некоторых примерах получения к терминальной аминогруппе присоединяли фрагменты, способные взаимодействовать с ^{18}F -меткой (например, пент-4-иновую кислоту или (Вос-аминоокси)уксусную кислоту) для последующего введения метки ^{18}F .

Пример 2. Получение и активация $[^{18}\text{F}]$ фторида.

Получение и активация $[^{18}\text{F}]$ фторида.

Фтор-18 получали путем облучения воды, обогащенной ^{18}O , 16,5 МэВ протонами по ядерной реакции $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$. Облучение проводили на циклотроне Scanditronix MC32NI в отделении радиофармацевтической химии (E030) в немецком центре изучения рака в Гейдельберге.

После переноса облученной воды в автоматическую систему (Trasis All In One 32) $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ выделяли из $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ путем пропускания через предварительно обработанный (5 мл 1М K_2CO_3 и 10 мл воды) анионообменный картридж (Waters AccelTM Plus QMA Cartridge light) и последующего элюирования смесью 800 мкл ацетонитрила и 150 мкл раствора бикарбоната тетрабутиламмония (320 мМ в воде). Смесью выпаривали досуха при температуре 100°C в токе азота. Указанную перегонку повторяли дважды, добавляя по 1,8 мл ацетонитрила на каждой стадии. После обработки остатка в максимально достижимом вакууме в течение 5 мин при 100°C и последующего охлаждения до 50°C сухой остаток растворяли в 2 мл смеси трет-бутанол/ацетонитрил (8:2) и использовали в реакциях введения метки.

В качестве альтернативы использовали систему с классической схемой активации Kryptofix[®] 2.2.2/ K_2CO_3 (20 мг 2.2.2 + 28 мкл 1М K_2CO_3) в ацетонитриле. Кроме того, растворитель для растворения активированного $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ заменяли на сухой ДМФ, ДМСО или ацетонитрил в некоторых экспериментах.

Пример 3. Радиохимический синтез тетрафторфенилового эфира 6- $[^{18}\text{F}]$ фторникотиновой кислоты ($[^{18}\text{F}]\text{FN-TFP}$).

К 10 мг трифторметансульфоната N,N,N-триметил-5-((2,3,5,6-тетрафторфенокси)карбонил)пиридин-2-аминия (полученного согласно описанию Olberg et al. J. Med. Chem., 2010, 53, 1732) добавляли 1 мл смеси трет-бутанол/ацетонитрил (8:2), содержащей высушенный комплекс $[^{18}\text{F}]\text{KF-Kryptofix 2.2.2}$ (0,1-10 ГБк ^{18}F) и грели смесь при 40°C. Через 10 мин разбавляли смесь 3 мл воды и помещали продукт в предварительно обработанный картридж Oasis MCX Plus Sep-Pak (Waters). Картридж промывали 10 мл воды и очищенный тетрафторфениловый эфир 6- $[^{18}\text{F}]$ фторникотиновой кислоты элюировали обратно в реакционный сосуд с использованием 2 мл смеси вода/ацетонитрил (7:13). Для достижения повышенной активности в некоторых случаях проводили концентрирование фракционированного элюируемого раствора. Таким образом, наполненный картридж промывали 500 мкл растворителя, который отбрасывали, и затем элюировали 400-800 мкл растворителя для проведения дополнительного взаимодействия. Как правило, более 50% исходной активности сохранялось при элюировании второй фракции.

Пример 4. PSMA-1007.

Синтез предшественника и нерадиоактивного соединения сравнения проводили согласно описанию примера 1.

Радиохимический синтез $[^{18}\text{F}]\text{PSMA-1007}$.

200 мкл ($[^{18}\text{F}]\text{FN-TFP}$) добавляли в 50 мкл 2 мг/мл раствора PSMA-1007-VL в ДМСО. Затем добавляли 50 мкл буфера (0,2М фосфатный буфер, pH 8,0) и грели смесь при 60°C в течение 20 мин. Продукты разделяли путем полупрепаративной радио-ВЭЖХ и идентифицировали путем аналитической радио-ВЭЖХ и сравнивали времена удерживания с соответствующими нерадиоактивными соединениями сравнения.

PSMA1007-VL (предшественник):

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(Glu)-(Glu); $C_{43}H_{53}N_7O_{15}$; 907,93 г/моль)

в частности (Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(L-Glu)-(L-Glu)

МС (MALDI): $m/z = 908,7 [M + H]^+$

PSMA-1007

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(Glu)-(Glu)-FN; $C_{49}H_{55}FN_8O_{16}$; (1031 г/моль)

в частности (Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(L-Glu)-(L-Glu)-FN;

МС (MALDI): $m/z = 1032,1 [M + H]^+$

$[^{18}F]$ PSMA-1007

RCA: примерно 6%

ВЭЖХ (градиент: 5% А / 95% В – 95% А / 5% В в течение 12,5 мин; расход: 3 мл/мин;

колонка: Merck Chromolith® Performance RP-18e 100-4,6 мм; растворитель А:

ацетонитрил, растворитель В: 0,1% водная ТФУ); $t_{уд.}$: 4,56 мин ($t_{мертв.}$: 0,56 мин)

Пример 5. PSMA-1011.

Синтез предшественника и нерадиоактивного соединения сравнения проводили согласно описанию примера 1. Синтез $[^{18}F]$ PSMA-1011 проводили согласно описанию примера 4.

PSMA-1011-VL (предшественник):

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-нафтилаланин)-(Glu)-(Glu); $C_{35}H_{46}N_8O_{14}$ (774,78 г/моль)

МС (MALDI): $m/z = 775,3 [M + H]^+$

PSMA-1011:

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-нафтилаланин)-(Glu)-(Glu)-FN; $C_{41}H_{48}FN_7O_{15}$

(897,86 г/моль)

МС (MALDI): $m/z = 898,3 [M + H]^+$

$[^{18}F]$ PSMA-1011:

RCA: примерно 7%

ВЭЖХ (градиент: 5% А / 95% В – 50% А / 50% В в течение 10,0 мин; расход: 3 мл/мин;

колонка: Merck Chromolith® Performance RP-18e 100-4,6 мм; растворитель А:

ацетонитрил, растворитель В: 0,1% водная ТФУ); $t_{уд.}$: 5,72 мин ($t_{мертв.}$: 0,56 мин)

Пример 6. PSMA-1012.

Синтез предшественника и нерадиоактивного соединения сравнения проводили согласно описанию примера 1. Синтез $[^{18}F]$ PSMA-1012 проводили согласно описанию примера 4.

PSMA-1012-VL (предшественник):

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-нафтилаланин)-(γGlu)-(Glu); C₃₅H₄₆N₈O₁₄ (774,78 г/моль)

МС (MALDI): m/z = 775,0 [M + H]⁺

PSMA-1012:

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-нафтилаланин)-(γGlu)-(Glu)-FN; C₄₁H₄₈FN₇O₁₅

(897,86 г/моль)

МС (MALDI): m/z = 897,9 [M + H]⁺

[¹⁸F]PSMA-1012:

RCA: примерно 4%

ВЭЖХ (градиент: 5% А / 95% В – 50% А / 50% В в течение 10,0 мин; расход: 3 мл/мин;

колонка: Merck Chromolith® Performance RP-18e 100-4,6 мм; растворитель А:

ацетонитрил, растворитель В: 0,1% водная ТФУ): t_{уд.}: 5,61 мин (t_{мертв.}: 0,56 мин)

Пример 7. PSMA-1015.

Синтез предшественника и нерадиоактивного соединения сравнения проводили согласно описанию примера 1. Синтез [¹⁸F]PSMA-1015 проводили согласно описанию примера 4.

PSMA-1015-VL (предшественник):

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(Glu); C₃₈H₄₆N₆O₁₂ (778,80 г/моль)

МС (MALDI): m/z = 779,4 [M + H]⁺

PSMA-1015:

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(Glu)-FN; C₄₄H₄₈FN₇O₁₃ (901,89 г/моль)

МС (MALDI): m/z = 902,5 [M + H]⁺

[¹⁸F]PSMA-1015:

RCA: примерно 7%

ВЭЖХ (градиент: 5% А / 95% В – 50% А / 50% В в течение 10,0 мин; расход: 3 мл/мин;

колонка: Merck Chromolith® Performance RP-18e 100-4,6 мм; растворитель А:

ацетонитрил, растворитель В: 0,1% водная ТФУ): t_{уд.}: 6,48 мин (t_{мертв.}: 0,56 мин)

Пример 8. Синтез сухого [¹⁸F]FN-TFP.

Радиохимический синтез проводили согласно описанию примера 3 до проведения элюирования [¹⁸F]FN-TFP из картриджа. После промывки картриджа 10 мл воды (пример 3) его продували 20-40 мл сухого воздуха. Затем картридж МСХ присоединяли к осушительному картриджу SepPak SodSulf и элюировали продукт 2 мл сухого ацетонитрила. Для обеспечения повышенной активности в некоторых случаях проводили концентрирование фракционированного элюируемого раствора. Таким образом, наполненный картридж МСХ промывали 500 мкл растворителя (после продувания картриджа досуха), который отбрасывали, и затем осушительный картридж присоединяли к картриджу МСХ и элюировали продукт 0,8-1,2 мл ацетонитрила для проведения дополнительного взаимодействия. Как правило, более 50% исходной активности сохранялось при элюировании второй фракции.

Пример 9. PSMA-1018.

Синтез предшественника и нерадиоактивного соединения сравнения проводили согласно описанию примера 1.

Радиохимический синтез [¹⁸F]PSMA-1018.

200 мкл сухого [¹⁸F]FN-TFP (пример 8) добавляли в 50 мкл 4 мг/мл раствора PSMA-1018-VL в ДМСО. Затем добавляли 10 мкл DIPEA и грели смесь при 60°C в течение 20 мин. Затем реакционную смесь подкисляли путем добавления 10 мкл ТФУ, продукты разделяли путем полупрепаративной радио-ВЭЖХ и идентифицировали путем аналитической радио-ВЭЖХ и проводили сравнение времени удерживания с соответствующими нерадиоактивными соединениями сравнения.

PSMA-1018-VL (предшественник):

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(Glu)-(Glu)-(Glu); C₄₈H₆₀N₈O₁₈ (1037,03 г/моль)

МС (MALDI): m/z = 1037,6 [M + H⁺]⁺

PSMA-1018:

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(Glu)-(Glu)-(Glu)-FN; C₅₄H₆₂FN₉O₁₉

(1160,12 г/моль)

МС (MALDI): m/z = 1160,8 [M + H⁺]⁺

[¹⁸F]PSMA-1018:

RCA: примерно 20%

ВЭЖХ (градиент: 5% А / 95% В – 95% А / 5% В в течение 10,0 мин; расход: 3 мл/мин;

колонка: Merck Chromolith® Performance RP-18e 100-4,6 мм; растворитель А:

ацетонитрил, растворитель В: 0,1% водная ТФУ): t_{уд.}: 3,87 мин (t_{мертв.}: 0,56 мин)

Пример 10: PSMA-1019.

Синтез предшественника и нерадиоактивного соединения сравнения проводили согласно описанию примера 1. Синтез [¹⁸F]PSMA-1019 проводили согласно описанию примера 9.

PSMA-1019-VL (предшественник):

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Chx)-(Glu)-(Glu); C₄₃H₅₉N₇O₁₅ (913,97 г/моль)

МС (MALDI): m/z = 914,4 [M + H⁺]⁺

PSMA-1019:

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Chx)-(Glu)-(Glu)-FN; C₄₉H₆₁FN₈O₁₆ (1037,05 г/моль)

МС (MALDI): m/z = 1037,7 [M + H⁺]⁺

[¹⁸F]PSMA-1019:

RCA: примерно 47%

ВЭЖХ (градиент: 5% А / 95% В – 95% А / 5% В в течение 12,5 мин; расход: 3 мл/мин;

колонка: Merck Chromolith® Performance RP-18e 100-4,6 мм; растворитель А:

ацетонитрил, растворитель В: 0,1% водная ТФУ): t_{уд.}: 4,43 мин (t_{мертв.}: 0,56 мин)

Пример 11: PSMA-1020.

Синтез предшественника и нерадиоактивного соединения сравнения проводили согласно описанию примера 1. Синтез [¹⁸F]PSMA-1020 проводили согласно описанию примера 9.

PSMA-1020-VL (предшественник):

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(γGlu)-(Glu)-(Glu); C₄₀H₅₃N₇O₁₇ (903,89 г/моль)

МС (MALDI): $m/z = 904,9 [M + H]^+$

PSMA-1020:

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(γGlu)-(Glu)-(Glu)-FN; $C_{46}H_{55}FN_8O_{18}$ (1026,97 г/моль)

МС (MALDI): $m/z = 1027,9 [M + H]^+$

[^{18}F]PSMA-1020:

RCA: примерно 60%

ВЭЖХ (градиент: 5% А / 95% В – 95% А / 5% В в течение 12,5 мин; расход: 3 мл/мин;
колонка: Merck Chromolith® Performance RP-18e 100-4,6 мм; растворитель А:
ацетонитрил, растворитель В: 0,1% водная ТФУ): $t_{уд.}$: 6,48 мин ($t_{мертв.}$: 0,56 мин)

Пример 12. PSMA-1022.

Синтез предшественника и нерадиоактивного соединения сравнения проводили согласно описанию примера 1. Синтез [^{18}F]PSMA-1022 проводили согласно описанию примера 9.

PSMA-1022-VL (предшественник):

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(γGlu)-(γGlu); $C_{35}H_{46}N_8O_{14}$ (774,78 г/моль)

МС (MALDI): $m/z = 775,4 [M + H]^+$

PSMA-1022:

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(γGlu)-(γGlu)-FN; $C_{41}H_{48}FN_7O_{15}$ (897,86 г/моль)

МС (MALDI): $m/z = 898,8 [M + H]^+$

[^{18}F]PSMA-1022:

RCA: примерно 29%

ВЭЖХ (градиент: 5% А / 95% В – 95% А / 5% В в течение 10,0 мин; расход: 3 мл/мин;
колонка: Merck Chromolith® Performance RP-18e 100-4,6 мм; растворитель А:
ацетонитрил, растворитель В: 0,1% водная ТФУ): $t_{уд.}$: 3,92 мин ($t_{мертв.}$: 0,56 мин)

Пример 13. PSMA-1023.

Синтез предшественника и нерадиоактивного соединения сравнения проводили согласно описанию примера 1. Синтез [^{18}F]PSMA-1023 проводили согласно описанию примера 9.

PSMA-1023-VL (предшественник):

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(D-Glu)-(D-Glu); $C_{43}H_{53}N_7O_{15}$ (907,93 г/ммоль)

МС (MALDI): $m/z = 907,8 [M + H]^+$

PSMA-1023:

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(D-Glu)-(D-Glu)-FN; $C_{49}H_{55}FN_8O_{16}$
(1031,00 г/моль)

МС (MALDI): $m/z = 1031,8 [M + H]^+$

[^{18}F]PSMA-1023:

RCA: примерно 24%

ВЭЖХ (градиент: 5% А / 95% В – 50% А / 50% В в течение 10,0 мин; расход: 3 мл/мин;
колонка: Merck Chromolith® Performance RP-18e 100-4,6 мм; растворитель А:
ацетонитрил, растворитель В: 0,1% водная ТФУ): $t_{уд.}$: 3,87 мин ($t_{мертв.}$: 0,56 мин)

Пример 14: PSMA-1024.

Синтез предшественника и нерадиоактивного соединения сравнения проводили согласно описанию примера 1. Синтез [^{18}F]PSMA-1024 проводили согласно описанию примера 9.

PSMA-1024-VL (предшественник):

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(D-Glu)-(Glu); $\text{C}_{43}\text{H}_{53}\text{N}_7\text{O}_{15}$ (907,93 г/моль)

МС (MALDI): $m/z = 908,6 [M + H]^+$

PSMA-1024:

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(D-Glu)-(Glu)-FN; $\text{C}_{49}\text{H}_{55}\text{FN}_8\text{O}_{16}$ (1031,00 г/моль)

МС (MALDI): $m/z = 1031,5 [M + H]^+$

[^{18}F]PSMA-1024:

RCA: примерно 27%

ВЭЖХ (градиент: 5% А / 95% В – 95% А / 5% В в течение 10,0 мин; расход: 3 мл/мин;
колонка: Merck Chromolith® Performance RP-18e 100-4,6 мм; растворитель А:
ацетонитрил, растворитель В: 0,1% водная ТФУ): $t_{\text{уд.}}$: 3,85 мин ($t_{\text{мертв.}}$: 0,56 мин)

Пример 15. PSMA-1025.

Синтез предшественника и нерадиоактивного соединения сравнения проводили согласно описанию примера 1. Синтез [^{18}F]PSMA-1025 проводили согласно описанию примера 9.

PSMA-1025-VL (предшественник):

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(Gla); $\text{C}_{39}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_{14}$ (822,21 г/моль)

МС (MALDI): $m/z = 822,8 [M + H]^+$

PSMA-1025:

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(Gla)-FN; $\text{C}_{49}\text{H}_{55}\text{FN}_8\text{O}_{16}$ (945,32 г/моль)

МС (MALDI): $m/z = 946,0 [M + H]^+$

[^{18}F]PSMA-1025:

RCA: примерно 24%

ВЭЖХ (градиент: 5% А / 95% В – 95% А / 5% В в течение 12,5 мин; расход: 3 мл/мин;
колонка: Merck Chromolith® Performance RP-18e 100-4,6 мм; растворитель А:
ацетонитрил, растворитель В: 0,1% водная ТФУ): $t_{\text{уд.}}$: 4,51 мин ($t_{\text{мертв.}}$: 0,56 мин)

Пример 16: PSMA-1026.

Синтез предшественника и нерадиоактивного соединения сравнения проводили согласно описанию примера 1. Синтез [^{18}F]PSMA-1026 проводили согласно описанию примера 9.

PSMA-1026-VL (предшественник):

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(Sala); C₃₆H₄₄N₆O₁₃S (800,83 г/моль)

МС (MALDI): m/z = 801,8 [M + H]⁺

PSMA-1026:

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(Sala)-FN; C₄₂H₄₆FN₇O₁₄S (923,92 г/моль)

МС (MALDI): m/z = 924,7 [M + H]⁺

[¹⁸F]PSMA-1026:

RCA: примерно 57%

ВЭЖХ (градиент: 5% А / 95% В – 95% А / 5% В в течение 12,5 мин; расход: 3 мл/мин; колонка: Merck Chromolith® Performance RP-18е 100-4,6 мм; растворитель А: ацетонитрил, растворитель В: 0,1% водная ТФУ): t_{уд.}: 4,03 мин (t_{мертв.}: 0,56 мин)

Пример 17: PSMA-1027.

Синтез предшественника и нерадиоактивного соединения сравнения проводили согласно описанию примера 1. Синтез [¹⁸F]PSMA-1027 проводили согласно описанию примера 9.

PSMA-1027-VL (предшественник):

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(Sala)-(Sala); C₃₉H₄₉N₇O₁₇S₂ (951,97 г/моль)

МС (MALDI): m/z = 952,7 [M + H]⁺

PSMA-1027:

(Glu)-(мочевина)-(Lys)-(2-Nal)-(Bn)-(Sala)-(Sala)-FN; C₄₅H₅₁FN₈O₁₈S₂ (1075,06 г/моль)

МС (MALDI): m/z = 1075,8 [M + H]⁺

[¹⁸F]PSMA-1027:

RCA: примерно 62%

ВЭЖХ (градиент: 5% А / 95% В – 95% А / 5% В в течение 10,0 мин; расход: 3 мл/мин; колонка: Merck Chromolith® Performance RP-18е 100-4,6 мм; растворитель А: ацетонитрил, растворитель В: 0,1% водная ТФУ): t_{уд.}: 3,10 мин (t_{мертв.}: 0,56 мин)

Пример 18. Клеточная культура.

Для исследований связывания и экспериментов *in vivo* выращивали клетки LNCaP (метастатические очаги аденокарциномы простаты человека, ATCC CRL-1740) в среде RPMI, дополненной 10% эмбриональной телячьей сывороткой и Glutamax (PAA, Austria). В клеточной культуре клетки выращивали при 37°C в инкубаторе с влажной атмосферой, уравновешенной 5% CO₂. Клетки собирали с использованием трипсин-этилендиаминтетрауксусной кислоты (трипсин-ЭДТА; 0,25% трипсина, 0,02% ЭДТА, все получали в PAA, Austria) и промывали ФБР.

Пример 19. Связывание клеток и интернализация.

Исследование конкурентного связывания клеток и эксперименты по интернализации проводили согласно известному описанию (Eder et al. Bioconjugate Chem. 2012, 23 (4), 688-697). Вкратце, соответствующие клетки (10⁵ на лунку) инкубировали с радиоактивным лигандом (⁶⁸Ga-меченный [Glu-мочевина-Lys(Ahx)]₂-HBED-CC (Schafer et al. EJNMMI Research 2012, 2:23 doi:10.1186/2191-219X-2-23))) в присутствии 12 различных концентраций анализируемого соединения (0-5000 нМ, 100 мкл/лунка). После инкубации проводили промывку с использованием многоситового вакуумного насоса (Millipore, Billerica, MA). Радиоактивность связанных клеток измеряли с использованием счетчика γ-излучения (Packard Cobra II, GMI, Minnesota, USA). Концентрацию 50% ингибирования (IC₅₀) вычисляли путем подстановки данных с использованием алгоритма нелинейной регрессии (GraphPad Software). Эксперименты проводили в трех повторностях. См. табл. А ниже.

Для определения специфического захвата в клетках и интернализации 10⁵ клеток высевали в 24-луночные планшеты для клеточных культур с покрытием поли-L-лизина за 24 ч до инкубации. После промывки клетки инкубировали с 30 нМ радиомеченных соединений в течение 45 мин при 37°C. Специ-

фический захват в клетках определяли путем конкурентного блокирования 2-(фосфонометил)пентандиовой кислотой (500 мкМ конечная концентрация, РМРА, Аххога, Loeggach, Germany). Захват в клетках обрывали путем 3-кратной промывки 1 мл ледяного ФБР. Затем клетки дважды инкубировали 0,5 мл глицин-HCl в ФБР (50 мМ, рН 2,8) в течение 5 мин для удаления фракции, связанной с поверхностью. Клетки промывали 1 мл ледяного ФБР и проводили лизис с использованием 0,3н. NaOH (0,5 мл). Уровень связанных с поверхностью и интернализированных фракций измеряли в счетчике γ -излучения. Захват в клетках вычисляли в процентах от введенной изначально радиоактивности в 10^5 клетках [%ИД/ 10^5 клеток]. Основные результаты приведены в табл. В.

Таблица А

Исследование аффинности связывания

Соединение	IC ₅₀ [нМ]
PSMA-1007	5
PSMA-1011	7
PSMA-1012	7
PSMA-1015	4
PSMA-1018	14
PSMA-1019	12
PSMA-1020	9
PSMA-1022	8
PSMA-1023	8
PSMA-1024	8
PSMA-1025	9
PSMA-1026	14
PSMA-1027	7

Таблица В

Специфическая интернализация

Соединение	Клеточная поверхность [%ИД/ 10^5 клеток]	Интернализированный агент [%ИД/ 10^5 клеток]	Интернализ. фракция [%]*
PSMA-1007	2,7	6,5	71
PSMA-1011	4,1	0,7	15
PSMA-1012	6,9	2,7	28
PSMA-1015	14,3	6,0	30
PSMA-1018	1,1	0,9	45
PSMA-1019	5,5	1,9	26
PSMA-1020	6,8	1,5	18
PSMA-1022	3,5	1,0	22
PSMA-1023	6,5	3,2	33
PSMA-1024	5,3	2,1	28
PSMA-1025	4,3	3,1	42
PSMA-1026	1,3	1,3	50
PSMA-1027	0,9	1,4	60

* (активность интернализированной фракции/общая активность)×100

Пример 20. микро-ПЭТ.

В исследованиях микро-ПЭТ вводили инъекцию 10-25 МБк радиомеченных соединений в объеме 0,10 мл (60 пмоль) в боковую хвостовую вену мышей, которым вводили ксенотрансплантаты опухоли LNCaP. Животных анестезировали (2% севофлуран, Abbott, Wiesbaden, Germany) и размещали в положении лежа в небольшой ПЭТ-сканер животных Inveon (Siemens, Knoxville, Tenn, USA) для получения динамических сканов микро-ПЭТ. Результаты показаны на фиг. 10 и 11.

Пример 21. Связывание в плазме и стабильность.

Для определения связывания плазмы 3 мкл примерно 6-микромольного раствора [¹⁸F]PSMA добавляли в 300 мкл сыворотки человека АВ и инкубировали при 37°C в течение 1 ч. Затем анализировали смесь продуктов путем гелипроникающей хроматографии.

Ни для одного из соединений не наблюдали связывание с плазмой.

Для определения стабильности в плазме 50 мкл примерно 6-микромольного раствора [¹⁸F]PSMA добавляли в 450 мкл сыворотки человека АВ и инкубировали при 37°C. Образцы получали через 1, 2 и 4 ч. Затем в 100 мкл ацетонитрила добавляли 100 мкл смеси метка/плазма. Затем смесь центрифугировали при 13000 об/мин в течение 3 мин. 100 мкл надосадочной жидкости добавляли в 100 мкл ацетонитрила, центрифугировали при 13000 об/мин в течение 5 мин, отделяли жидкость от каких-либо оставшихся

твердых веществ и анализировали путем ВЭЖХ.

Все соединения сохраняли стабильность в плазме человека при 37°C в течение по меньшей мере 4 ч.

Пример 22. Эксперименты *in vivo*.

Для экспериментов *in vivo* мышам BALB/c nu/nu возрастом 8 недель вводили подкожный инокулят 5×10^6 клеток LNCaP или PC3 в 50% Matrigel. Когда размер опухоли достигал примерно 1 см³, вводили инъекцию радиомеченого соединения в хвостовую вену (примерно 30 МБк, 60 пмоль для визуализации микро-ПЭТ; примерно 1 МБк, 60 пмоль, для определения распределения в органах).

Распределение в органах.

Вводили инъекцию меченных F-18 соединений в хвостовую вену (1-2 МБк мыши; 60 пмоль). Через 1 ч после инъекции животных умерщвляли. Получали срезы соответствующих органов, проводили сухой блоттинг и взвешивали. Измеряли радиоактивность на счетчике γ -излучения (Packard Cobra II, GMI, Minneapolis, USA) и вычисляли как % ИД/г. Основные результаты приведены на фиг. 8 и 9.

Соединения PSMA-1003 и PSMA-1009 приведены для сравнения и показаны на фиг. 12 и 13.

Пример 23. [¹⁸F]PSMA-1007 для применения у человека.

[¹⁸F]PSMA-1007 получали путем конъюгации сухого [¹⁸F]FN-TFP (пример 8) с PSMA-1007-VL (пример 4) в сухих условиях (аналогично примеру 9) в автоматическом модуле синтеза (Trasis AllInOne) и очищали путем полупрепаративной ВЭЖХ. Проводили радио-ВЭЖХ для химической идентификации и определения химической и радиохимической чистоты [¹⁸F]PSMA-1007. Содержание остаточных растворителей определяли путем газовой хроматографии. Чистоту радионуклидов контролировали путем измерения периода полураспада. Исследовали стерильность, уровень бактериальных эндотоксинов (LAL-тест), pH, бесцветность и содержание частиц в растворе продукта. Целостность стерильного фильтра после фильтрования оценивали методом точки пузырька.

Пример 24. Применение [¹⁸F]PSMA-1007 у здорового добровольца.

Здоровому субъекту вводили инъекцию с общей активностью 300 МБк и затем проводили сканирование ПЭТ на сканере Biograph mCT Flow (Siemens, Erlangen, Germany) в трех блоках. Блок 1 содержал сканы от ПЭТ-1 (начало через 5 мин п.и.) до ПЭТ-7 (завершение через 140 мин п.и.), блок 2 содержал ПЭТ-8 (начало через 180 мин п.и.) и ПЭТ-9 (240-270 мин п.и.), блок 3 содержал ПЭТ-10 (440-480 мин п.и.). Проводили неусиленную низкодозную КТ (по оценкам 1,43 мЗв соответственно) для поправки на затухание на старте каждого блока, затем получали серию эмиссионных сканов, при этом доброволец не двигался во время сканирования.

Проводили сегментирование почек, печени, селезенки, сердца в целом, верхнего и нижнего отдела толстого кишечника, околоушных желез, поднижнечелюстных желез и мочевого пузыря на исследуемые объемные области (VOI) с максимальным пороговым значением от 20 до 30% с использованием соответствующих рекомендаций по проведению КТ и затем для всех органов строили кривые активность-время (ТАС). ТАС для красного костного мозга получали с использованием образцов венозной крови и затем вычисляли дозу для красного костного мозга (S. Shen et al., JNM 2002, 43, 1245-1253; G. Sgouros et al., JNM 1993, 34, 689-694.). ТАС для мочевого пузыря представляла собой комбинацию оценочной активности VOI мочевого пузыря, определенной в ПЭТ, и активности, измеренной в свежесобранной моче. Подстановку в кривую проводили для всех ТАС. Подстановку значений для почек, слюнных желез, верхнего и нижнего отдела толстого кишечника и сердца проводили с использованием биэкспоненциальной функции. Для печени, селезенки и мочевого пузыря проводили моноэкспоненциальную подстановку по меньшей мере для трех временных точек.

Вычисления поглощенной и эффективной дозы проводили с использованием пакета программного обеспечения IDAC 1.0, одобренного ICRP, интегрированного в QDOSE. Кроме того, время удерживания для всех включенных исходных органов и в остальном организме экспортировали в виде файла OLINDA для вычисления дозы (OLINDA 1.1). Поглощенные дозы для слюнных желез (околоушных и поднижнечелюстных желез) определяли с использованием сферической модели. Масса органов в случае слюнных желез по оценкам составляла 25 г для околоушной железы и 12,5 г для поднижнечелюстной железы (публикация ICRP 89). Результаты приведены на фиг. 14-16.

Пример 25. Применение [¹⁸F]PSMA-1007 у пациентов, страдающих от рака простаты.

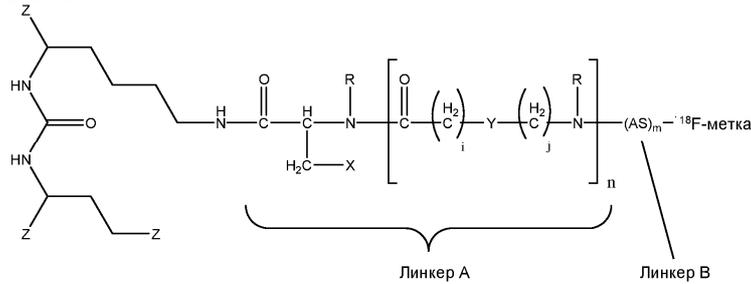
Десяти пациентам (возрастом 60-80 лет), страдающим от недавно диагностированного рака простаты высокого риска с показателем Глисона 7-9 и начальным уровнем PSA 5-90 нг/мл, инъекцировали 100-360 МБк [¹⁸F]-PSMA-1007 и затем проводили сканирование ПЭТ на сканере Biograph mCT Flow (Siemens, Erlangen, Germany) через 1 и 3 ч п.и. Результаты изображены на фиг. 17 и 18 в виде средних значений SUV_{средн} и SUV_{max} соответственно. Изображения полученные при сканировании ПЭТ, приведены на фиг. 19 и 20 в виде проекций максимальной интенсивности.

Восьми пациентам проводили радикальную простатэктомию с расширенной тазовой лимфаденэктомией. Анализы образцов простатэктомии проводили независимо от результатов ПЭТ под руководством специалистов-уропатологов согласно стандартам международного общества урологической патологии (T.H. van der Kwast et al. Mod. Pathol. 2011, 24, 16-25). Типовые срезы окрашивали путем иммуногистохимии. Срезы депарафинизировали в ксилоле и повторно гидратировали в этаноле постепенно уве-

личивающейся концентрации. Демаскирование антигена проводили в пароварке с использованием демаскирующего буфера (Target Retrieval Solution, Dako). Использовали мышинное моноклональное антитело к ПСМА (клон 3E6, Dako) в разведении 1:100 и инкубировали в течение ночи при 4°C и затем проводили иммунодетектирование с использованием детектирующего набора Histostain-Plus (Invitrogen). Окрашенные срезы сканировали с использованием Nanozoomer 2.0-NT Scansystem (Hamamatsu Photonics) для получения цифровых изображений образцов в целом. При помощи окрашивания была выявлена практически идеальная корреляция со сканом ПЭТ, что показано на фиг. 21.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

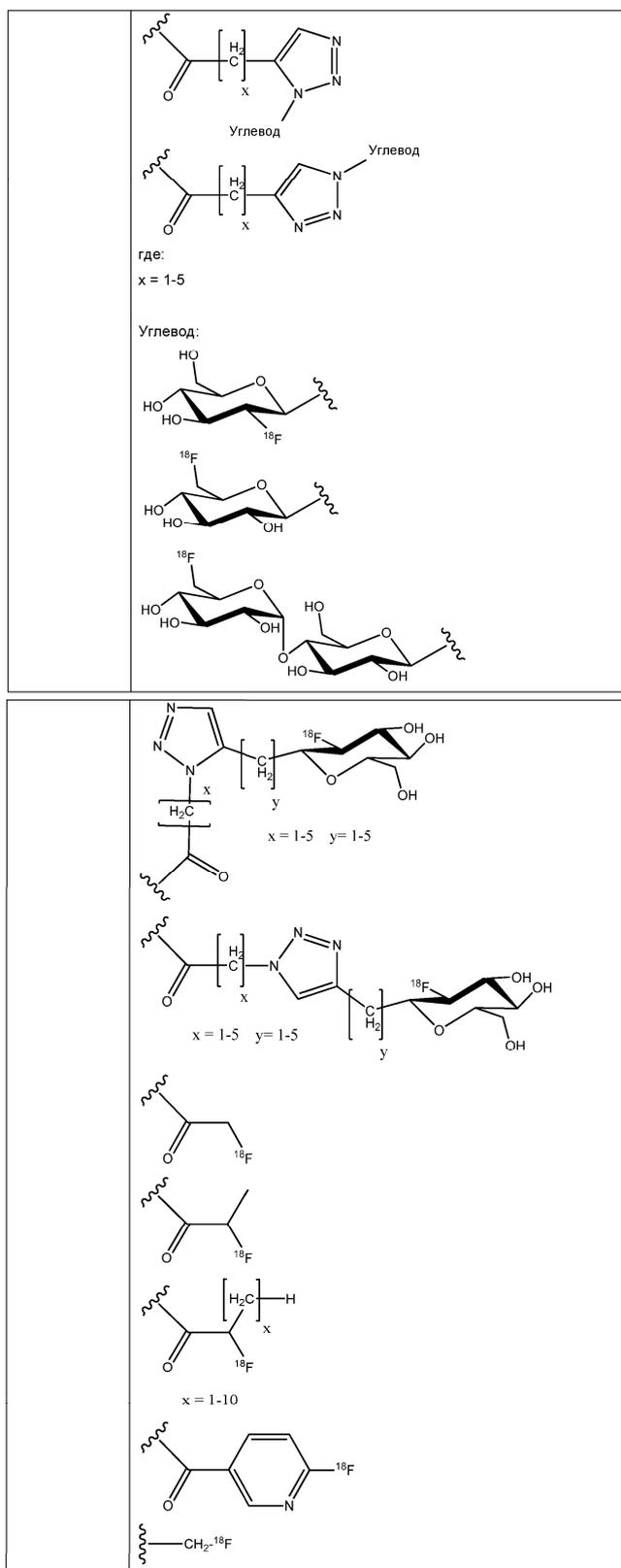
1. Соединение формулы I

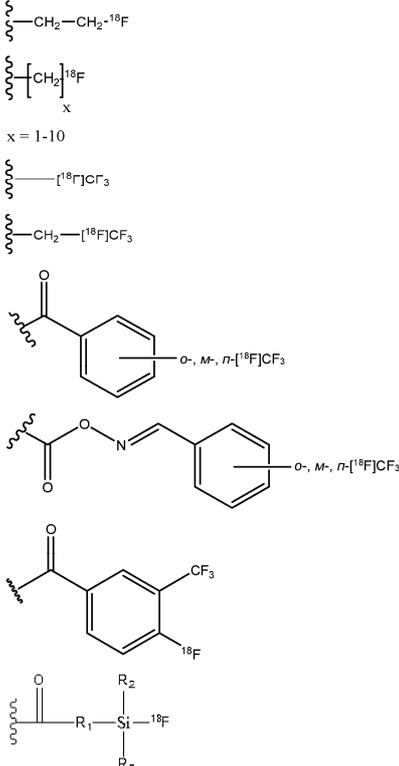
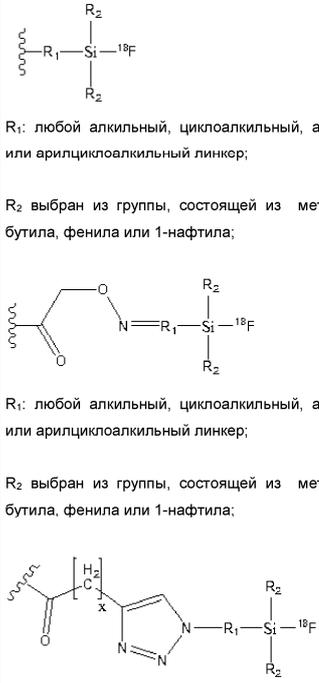


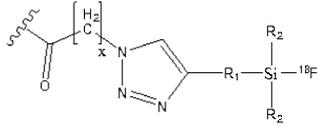
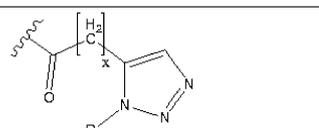
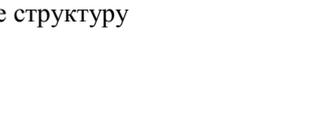
где

i, j	0, 1
m	1 – 5
n	0 – 3
R	H, CH ₃
AS	<p>природная или искусственная аминокислота, причем искусственная аминокислота имеет формулу</p> <p>где $A = \left(\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{R}' \end{array} \right)_o$;</p> <p>R' = H, CO₂H, CH₂CO₂H, C₂H₄CO₂H, CH(CO₂H)₂, CH(CH₂CO₂H)₂, CH(CO₂H)(CH₂CO₂H), CH₂CH(CO₂H)₂, SO₃H;</p> <p>o = 1-3; R = H, CH₃</p>

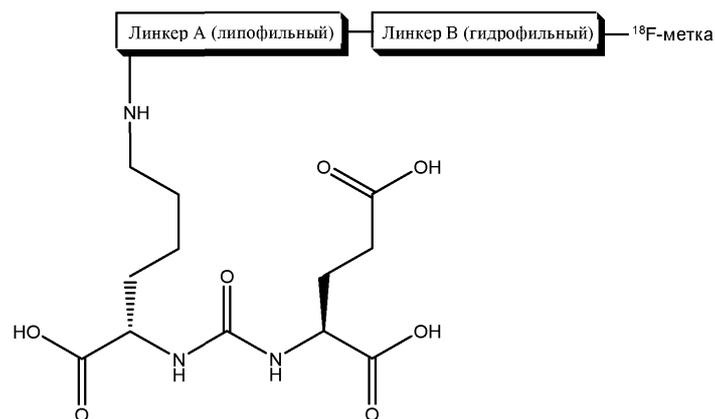
Z:	-CO ₂ H, -SO ₂ H, -SO ₃ H, -SO ₄ H, -PO ₂ H, -PO ₃ H, -PO ₄ H ₂
X:	нафтил, фенил, бифенил, индолил, бензотиазолил, хинолил
Y:	арил, алкиларил, циклоалкиларил, где циклоалкил содержит от 3 до 10 атомов углерода, циклопентил, циклогексил, циклогептил, <i>N</i> -пиперидил или соль <i>N</i> -метилированного пиперидила; где указанный алкил представляет собой линейный или разветвленный C ₁ -C ₁₀ углеводородный радикал; и указанный арил представляет собой карбоциклическую ароматическую группу, содержащую 5-20 кольцевых атомов, или гетероциклическую ароматическую группу, содержащую 5-20 кольцевых атомов, из которых по меньшей мере один кольцевой атом представляет собой гетероатом, выбранный из N, O или S
¹⁸ F-метка:	



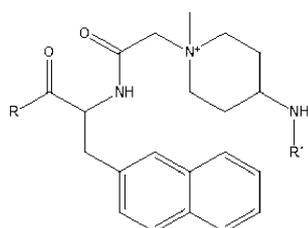
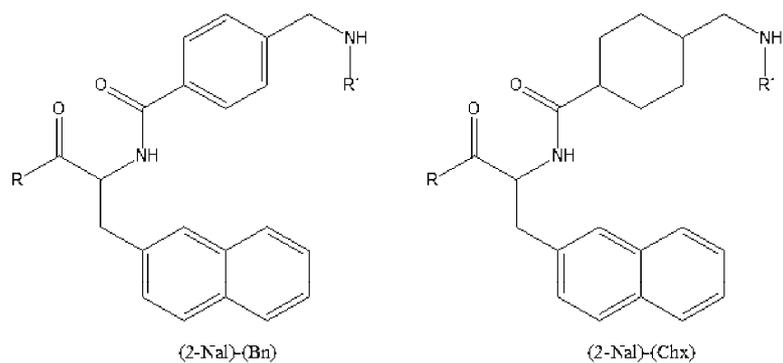
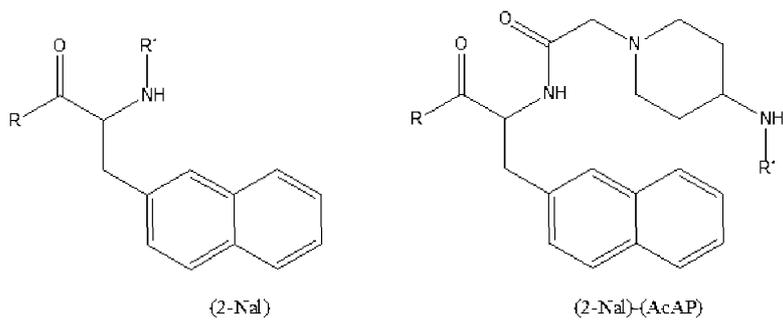
	 <p>R_1: любой алкильный, циклоалкильный, арильный, арилалкильный или арилциклоалкильный линкер;</p> <p>R_2 выбран из группы, состоящей из метила, изопропила, <i>трет</i>-бутила, фенила или 1-нафтила;</p>
	 <p>R_1: любой алкильный, циклоалкильный, арильный, арилалкильный или арилциклоалкильный линкер;</p> <p>R_2 выбран из группы, состоящей из метила, изопропила, <i>трет</i>-бутила, фенила или 1-нафтила;</p> <p>R_1: любой алкильный, циклоалкильный, арильный, арилалкильный или арилциклоалкильный линкер;</p> <p>R_2 выбран из группы, состоящей из метила, изопропила, <i>трет</i>-бутила, фенила или 1-нафтила;</p> <p>R_1: любой алкильный, циклоалкильный, арильный, арилалкильный или арилциклоалкильный линкер;</p> <p>R_2 выбран из группы, состоящей из метила, изопропила, <i>трет</i>-бутила, фенила или 1-нафтила;</p>

	 <p style="text-align: center;">$x = 1-5$</p> <p>R₁: любой алкильный, циклоалкильный, арильный, арилалкильный или арилциклоалкильный линкер;</p> <p>R₂ выбран из группы, состоящей из метила, изопропила, <i>трет</i>-бутила, фенила или 1-нафтила;</p>
	 <p style="text-align: center;">$x = 1-5$</p> <p>R₁: любой алкильный, циклоалкильный, арильный, арилалкильный или арилциклоалкильный линкер;</p> <p>R₂ выбран из группы, состоящей из метила, изопропила, <i>трет</i>-бутила, фенила или 1-нафтила;</p>
	 <p style="text-align: center;">$x = 1-5$</p> <p>R₁: любой алкильный, циклоалкильный, арильный, арилалкильный или арилциклоалкильный линкер;</p> <p>R₂ выбран из группы, состоящей из метила, изопропила, <i>трет</i>-бутила, фенила или 1-нафтила,</p> <p>где алкил представляет собой линейный или разветвленный C₁-C₁₀ углеводородный радикал;</p> <p>циклоалкил содержит от 3 до 10 атомов углерода, и</p> <p>арил представляет собой карбоциклическую ароматическую группу, содержащую 5-20 кольцевых атомов, или гетероциклическую ароматическую группу, содержащую 5-20 кольцевых атомов, из которых по меньшей мере один кольцевой атом представляет собой гетероатом, выбранный из N, O или S.</p>

2. Соединение по п.1, имеющее структуру



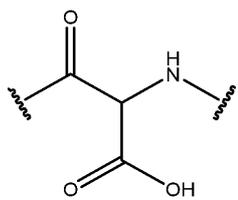
где линкер А выбран из группы ($R = (\text{Glu})\text{-}(\text{мочевина})\text{-}(\text{Lys})$) и $R' = (\text{линкер В})_m\text{-}^{18}\text{F}\text{-метка}$; $m = 1\text{-}5$)



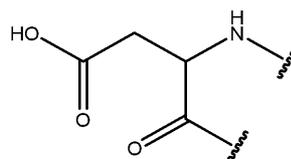
(2-Nal)-(AcAMP)

(в виде любой фармацевтически приемлемой соли)

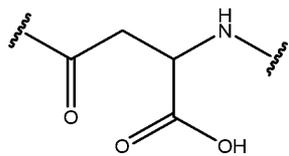
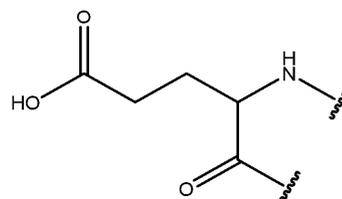
и линкер В может включать 1-5 повторов и выбран из группы



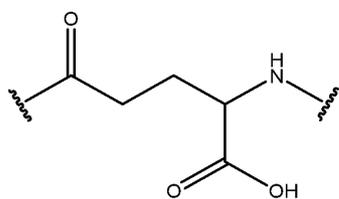
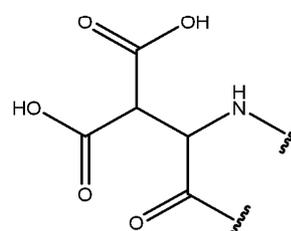
(Mal)



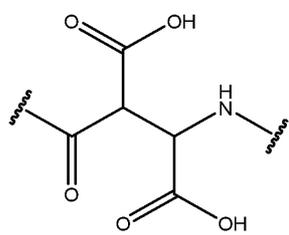
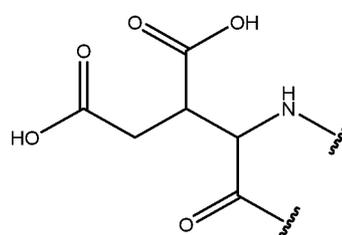
(Asp)

 $(\beta$ Asp)

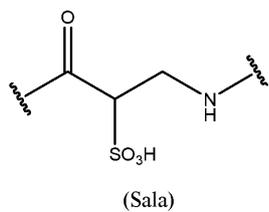
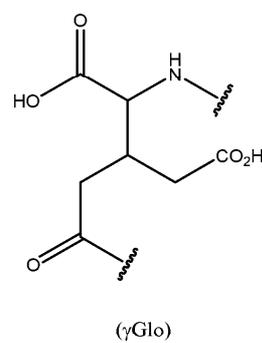
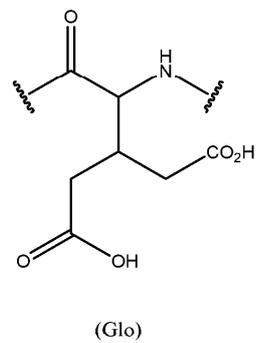
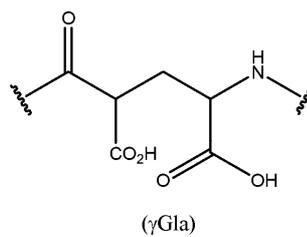
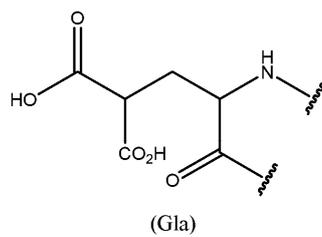
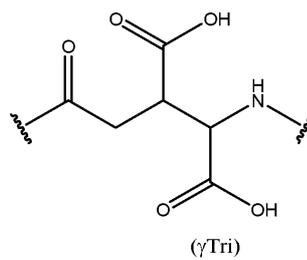
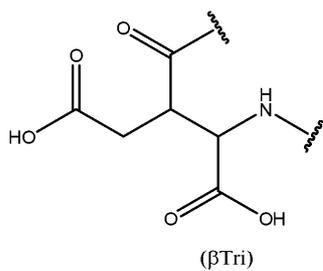
(Glu)

 $(\gamma$ Glu)

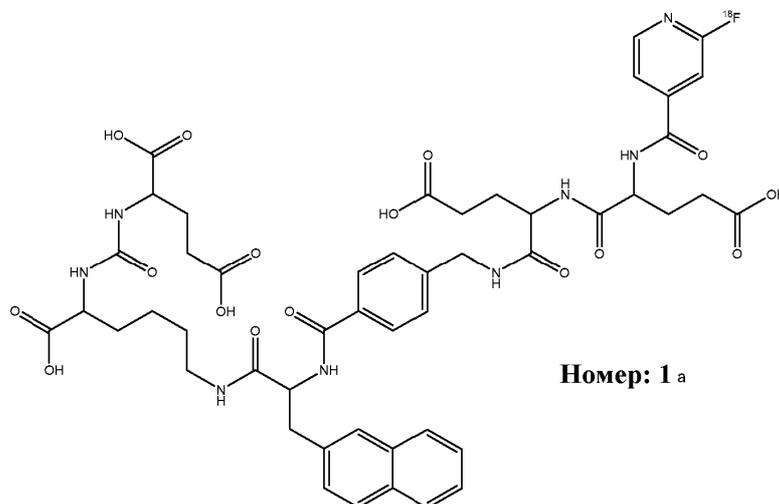
(Lym)

 $(\beta$ Lym)

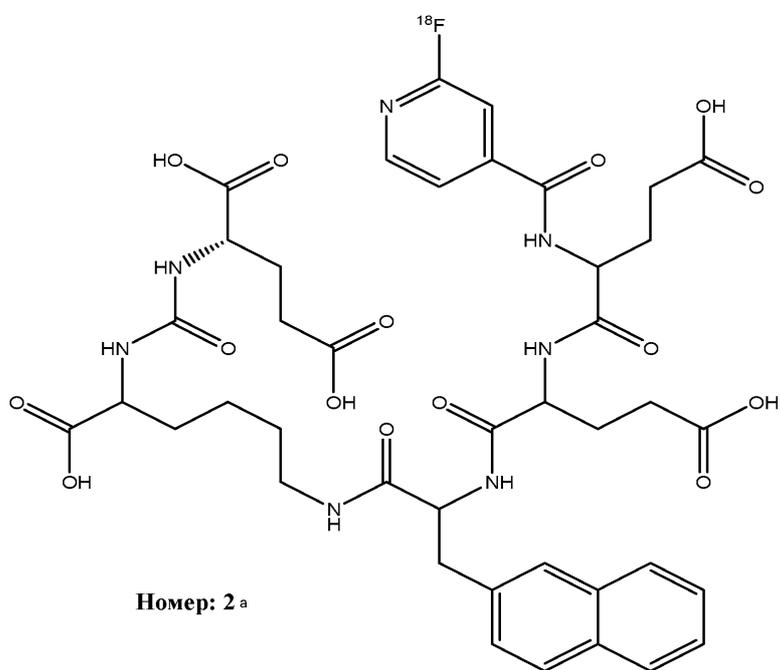
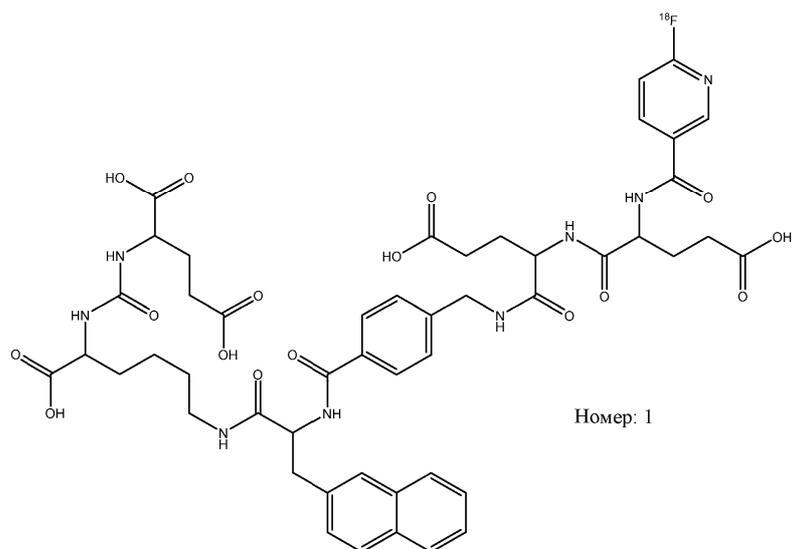
(Tri)



3. Соединение, выбранное из

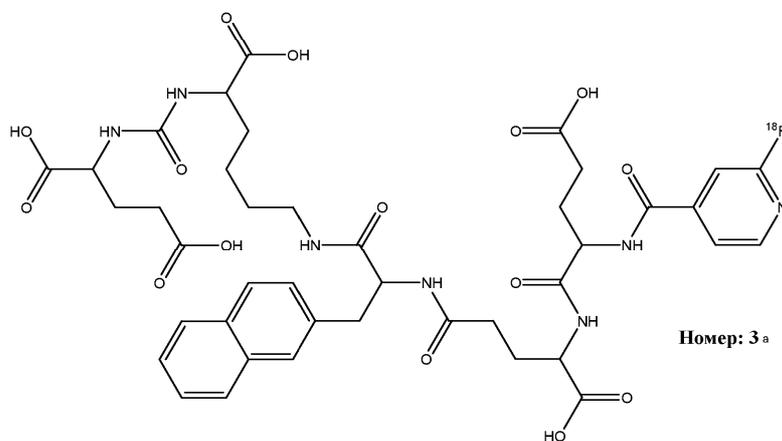
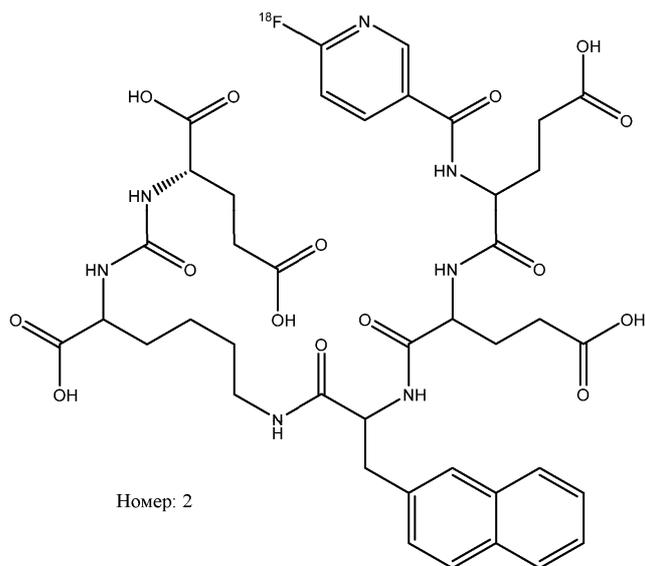


или



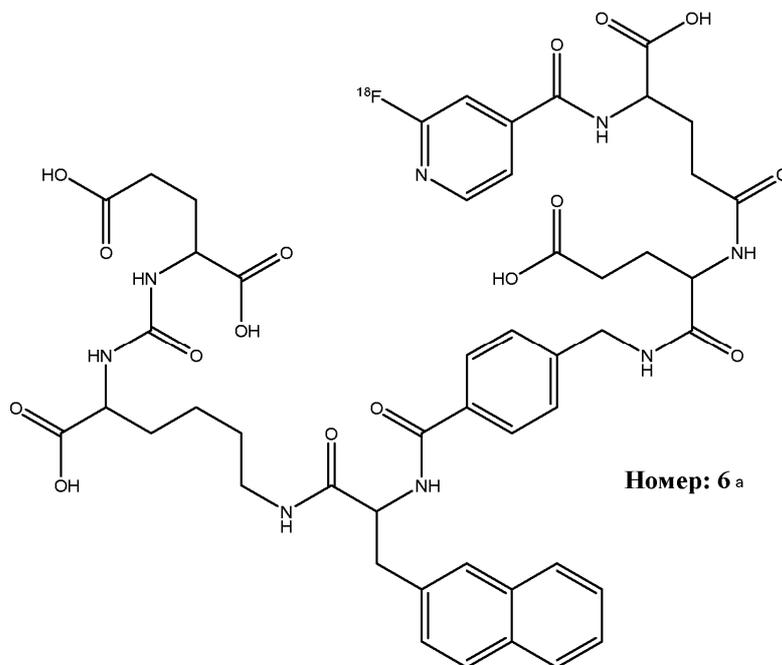
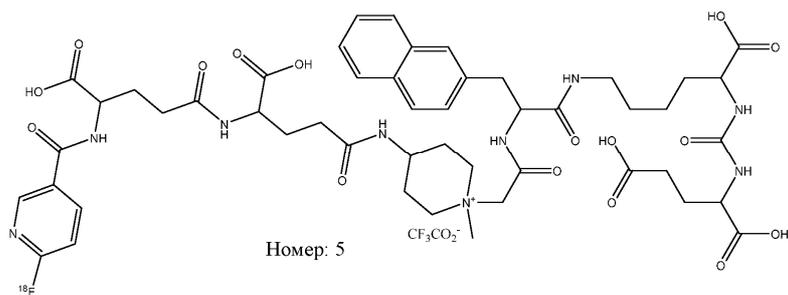
ИЛИ

037512

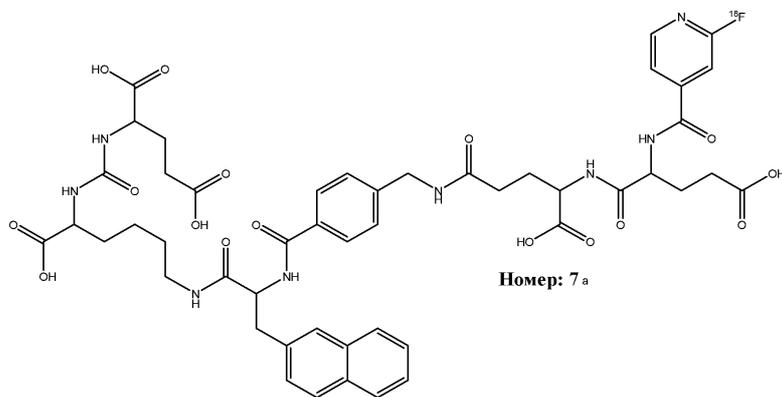
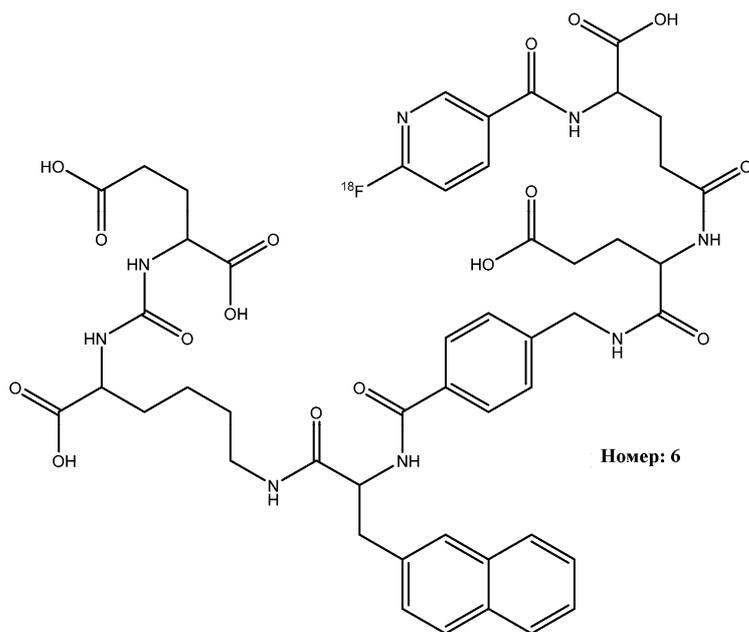


ИЛИ

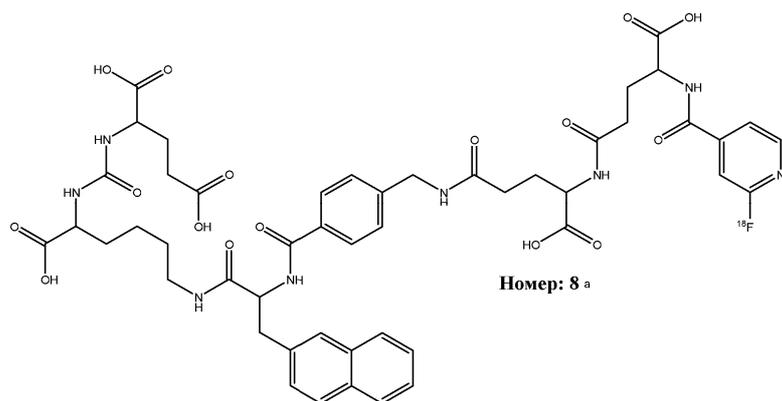
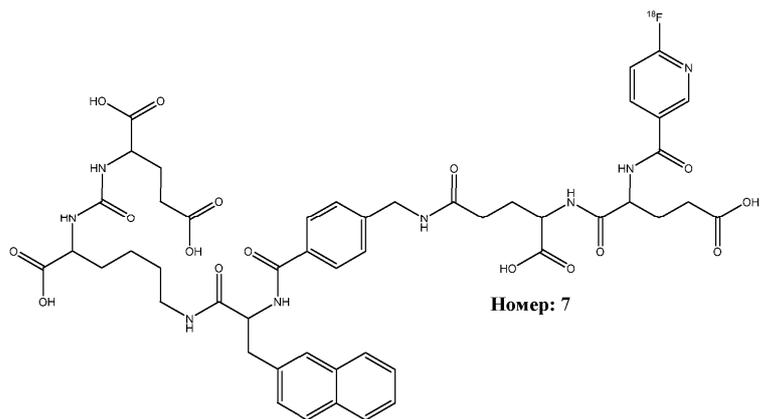
037512



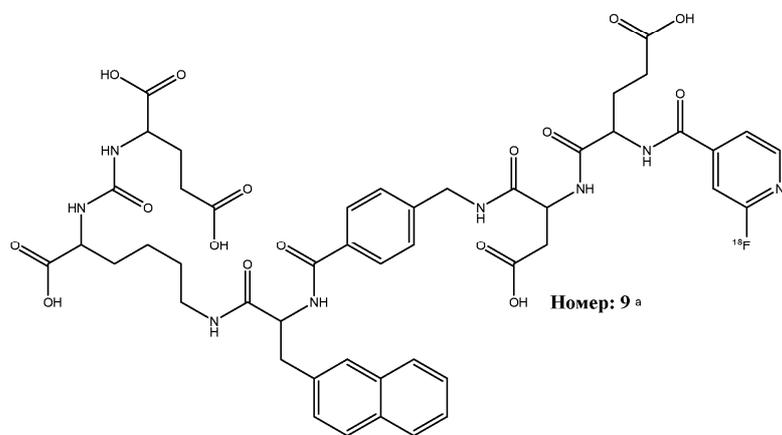
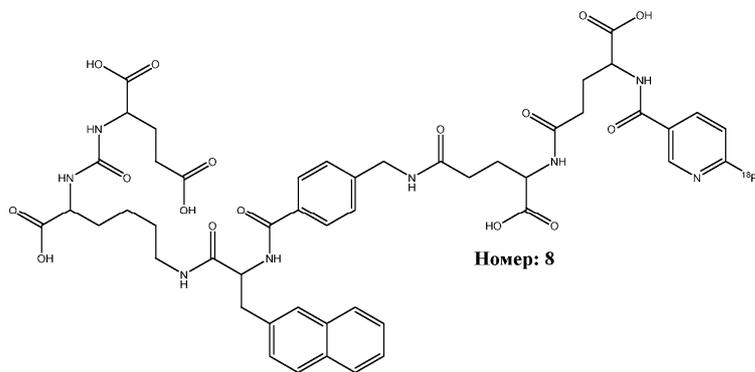
ИЛИ



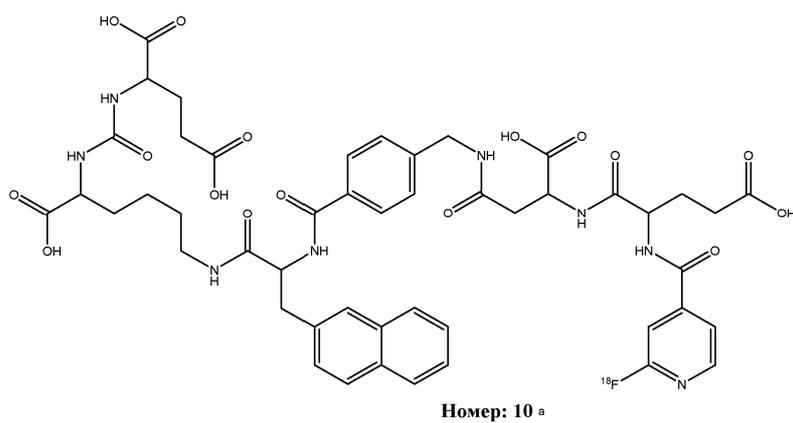
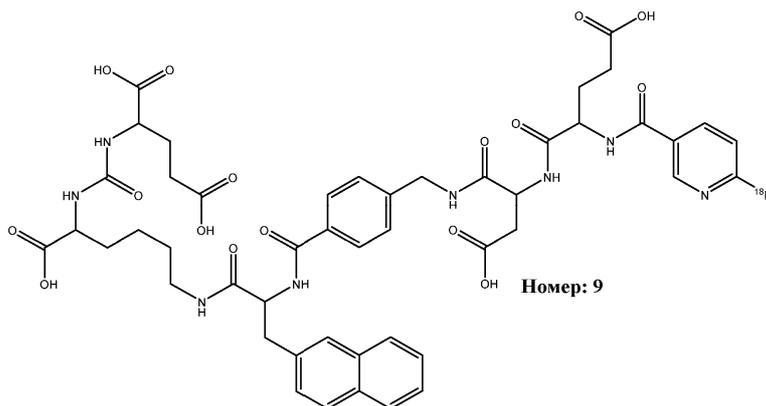
ИЛИ



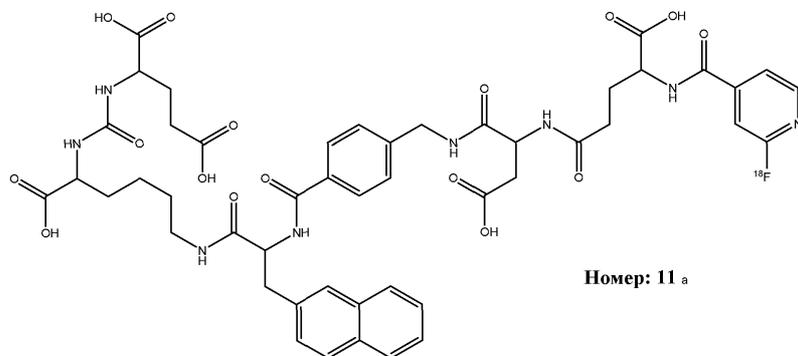
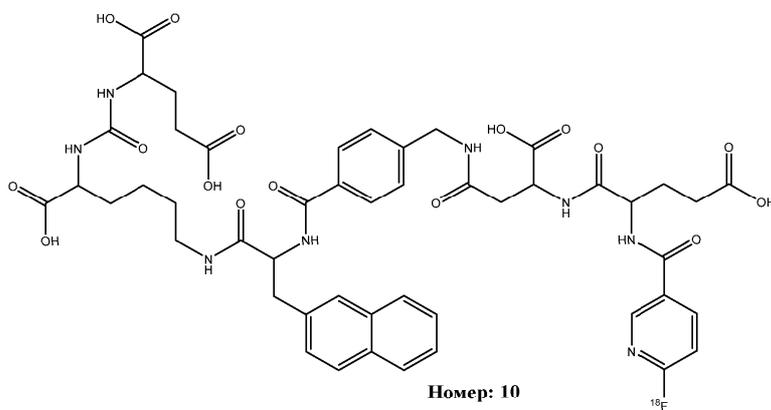
ИЛИ



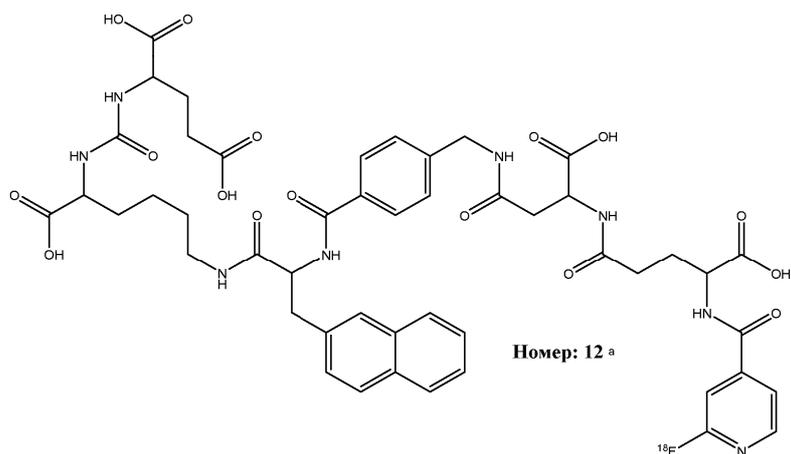
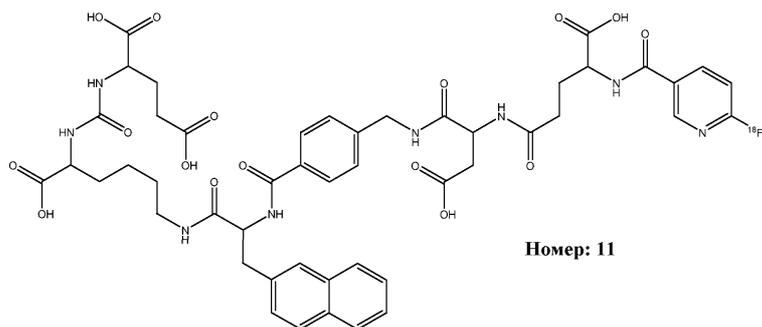
ИЛИ



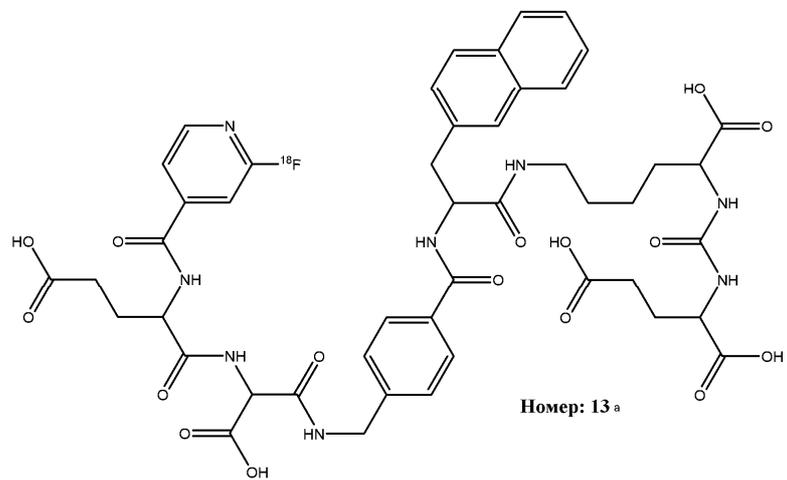
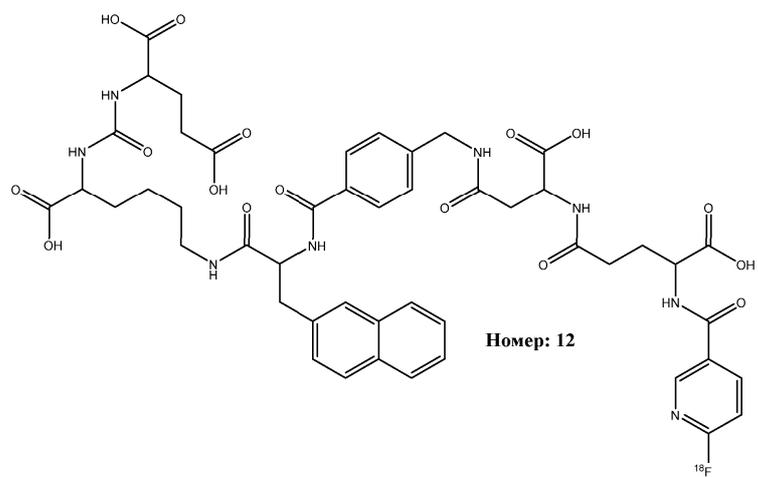
ИЛИ



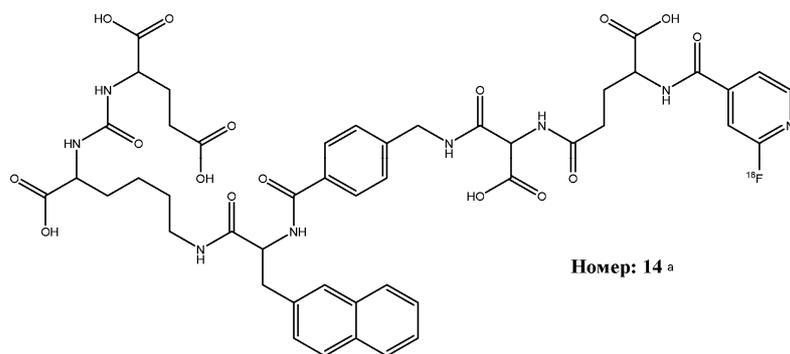
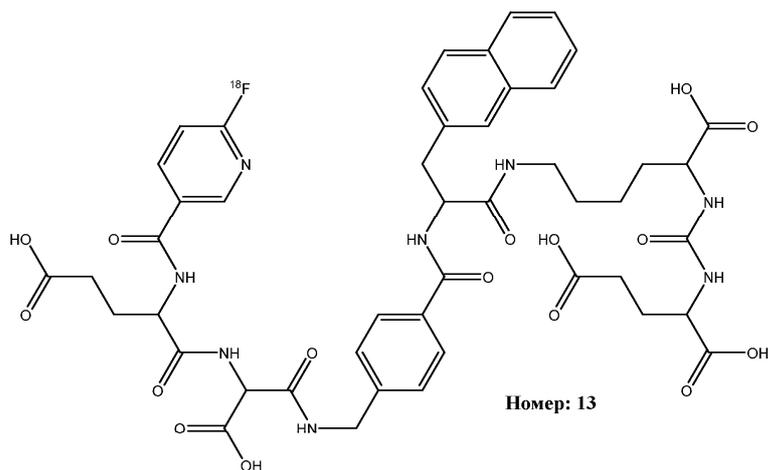
ИЛИ



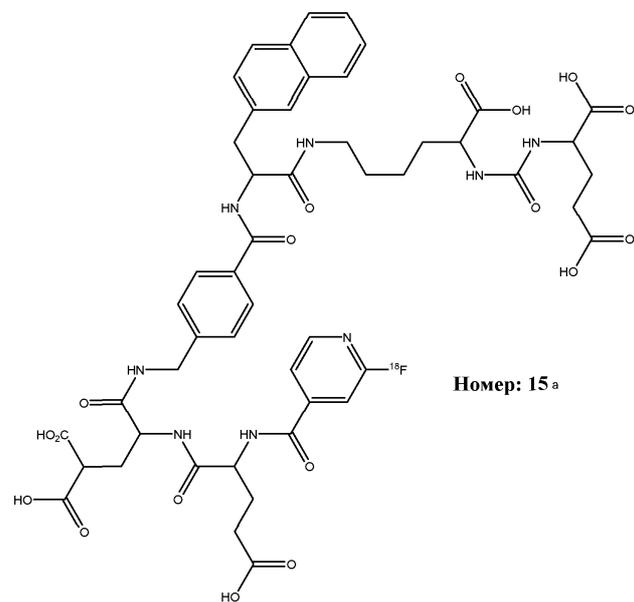
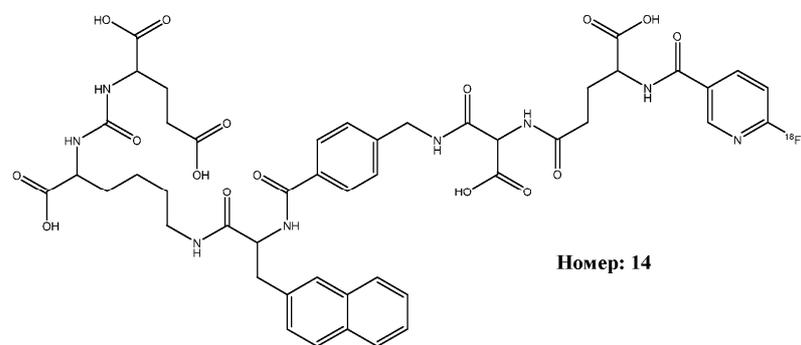
ИЛИ



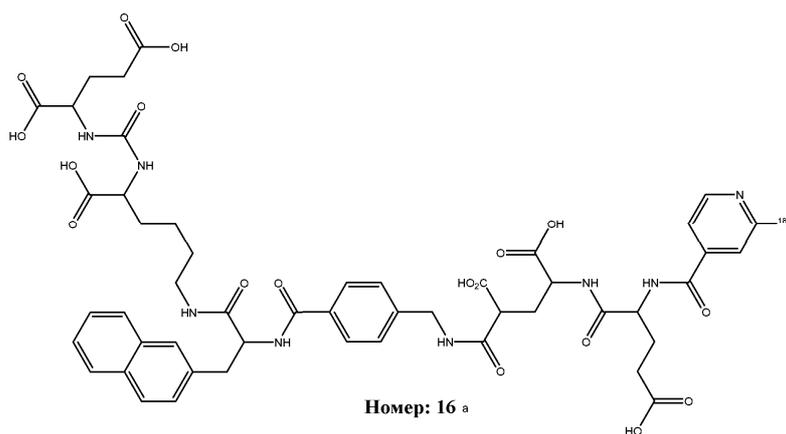
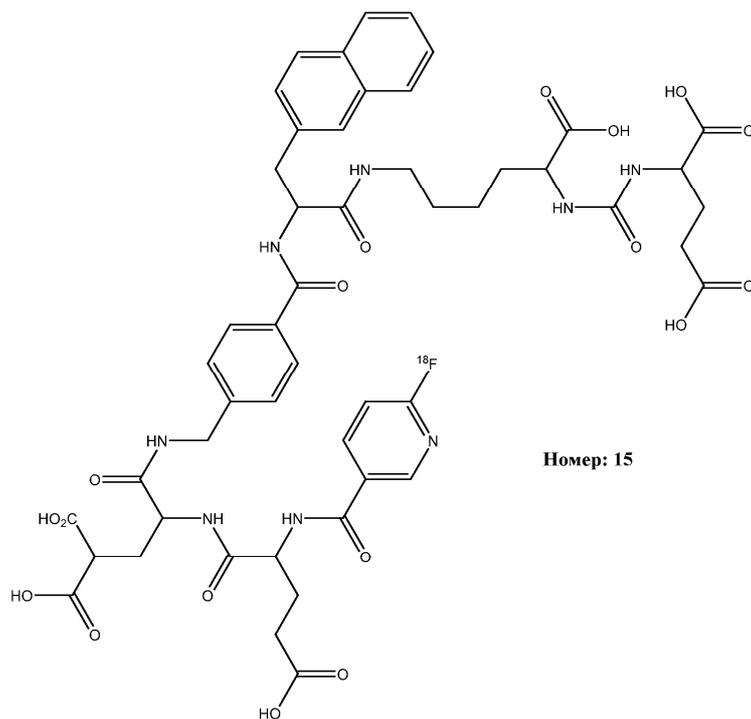
ИЛИ



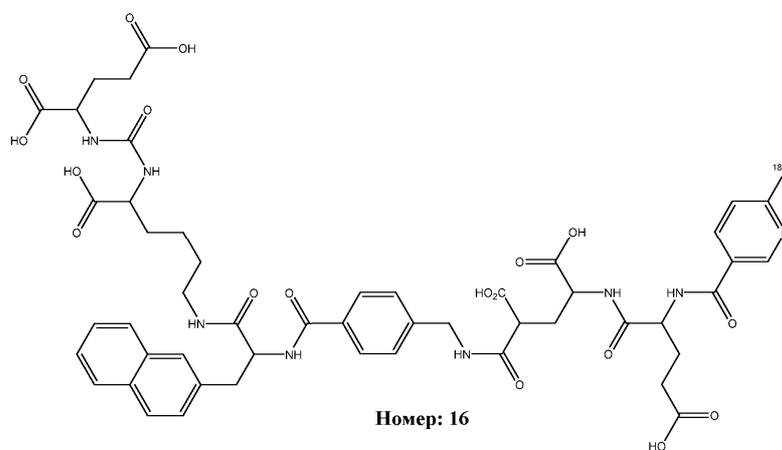
ИЛИ



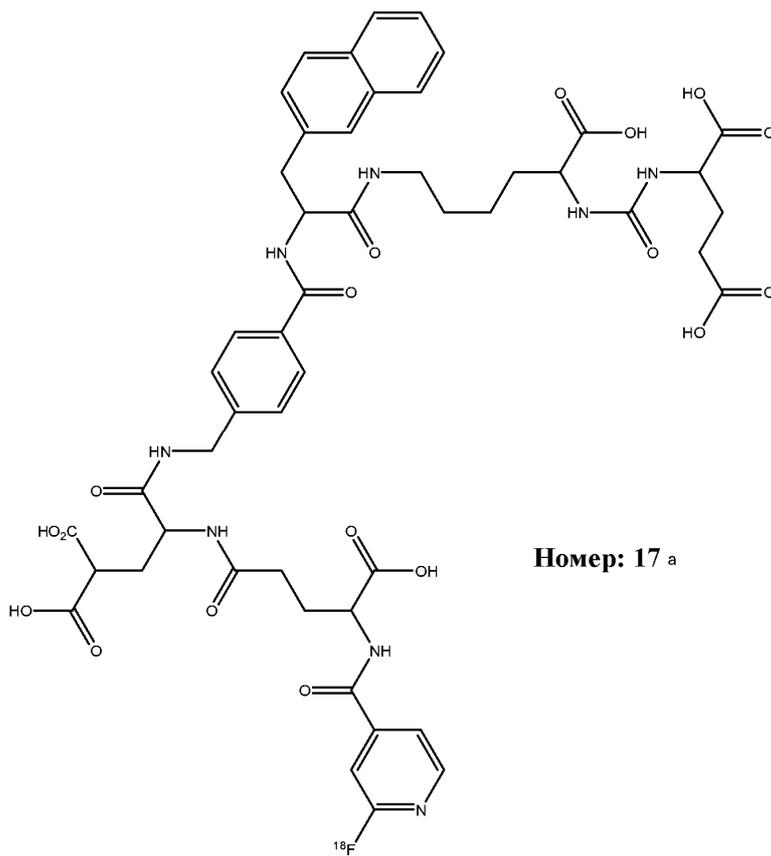
ИЛИ



ИЛИ

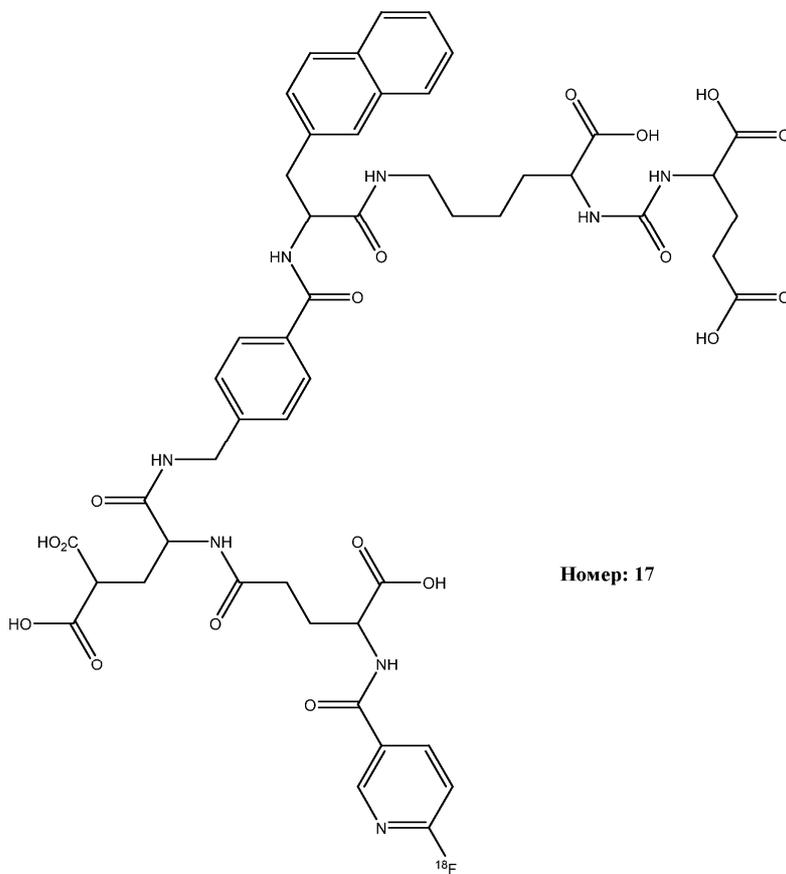


037512



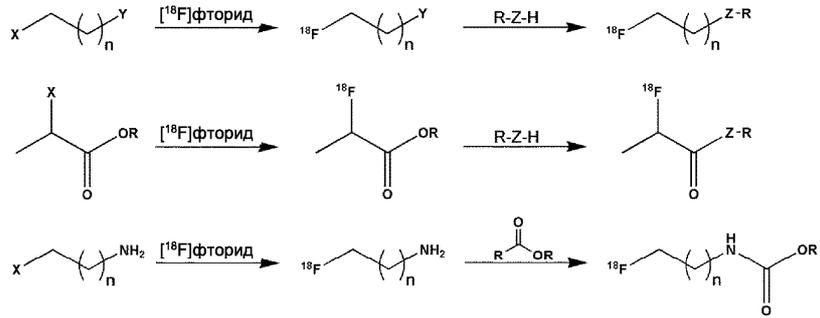
Номер: 17 а

ИЛИ



Номер: 17

^{18}F -фторирование по простетическим группам:
 ^{18}F -фторалкилирование, ^{18}F -фторацелирование и ^{18}F -фторамидирование

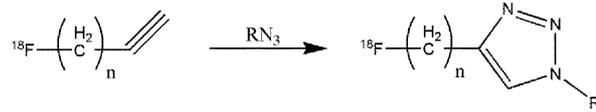


X, Y = Br, I, OTs; Z = N, O, S; R = алкил, арил

Coenen, H. H. в *PET Chemistry, The Driving Force in Molecular Imaging*, Schubiger, P.A., Lehmann, L., Friebe, M., ред.; Springer: Berlin, 2007; pp 15-50

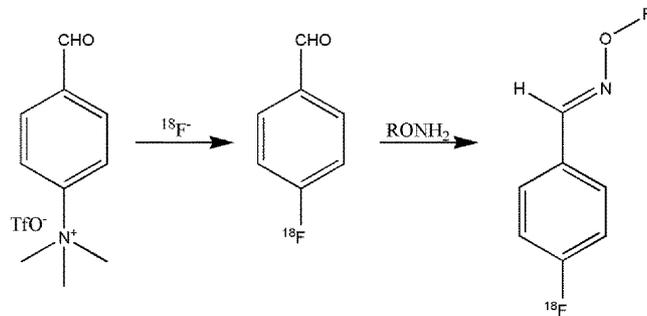
Фиг. 2

^{18}F алкины для «клик-химии» при получении триазолов

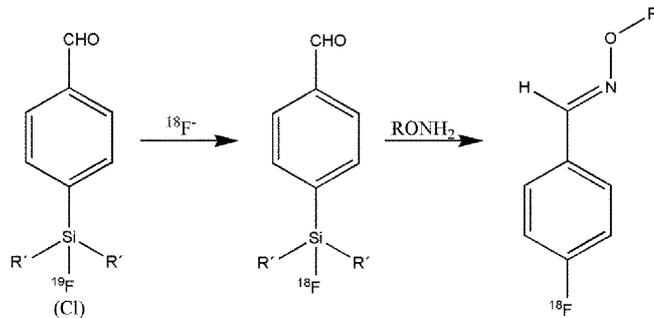


Marik and Sutcliffe Tetrahedron Lett., 2006, 47, 6681.

^{18}F фторбензальдегиды для получения оксимов



Poethko et al. J. Nucl. Med., 2004, 45, 892.

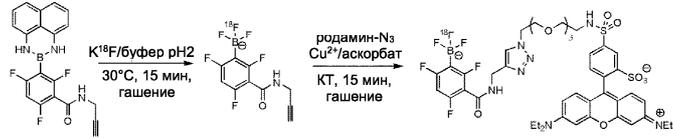


Schirmacher et al. Angew. Chem. Int. Ed., 2006, 45, 6047.

Фиг. 3

Стехиометрическое увеличение мольной активности при
получении [^{18}F]арилтрифторборонатов с использованием NCA

Двухстадийный синтез азидо-родамин-[^{18}F]трифторбороната



Мольная активность [Ки/мкмоль]

	^{18}F - (BOS)	[^{18}F]продукт
п.с.а.	6,5	15 ± 0,5
с.а.	2,7	7,7 ± 0,3

Z. Lin et al., Angew. Chem. 125, 2359 - 2362 (2013)

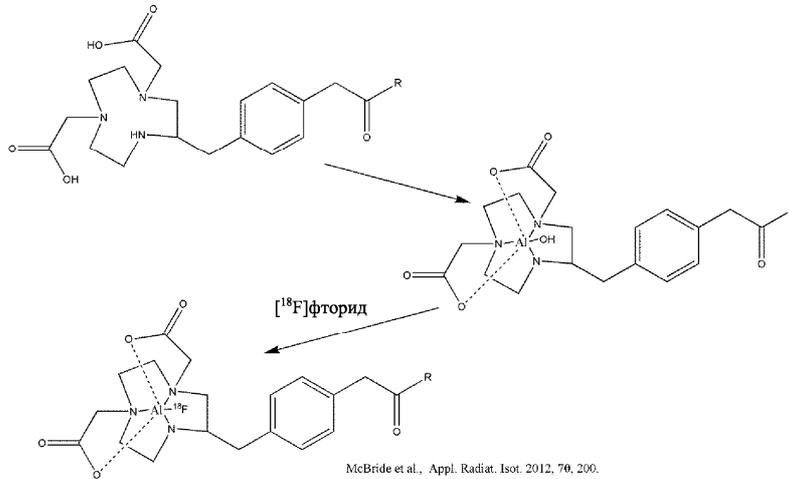
Исследование саморазрушаемого флуоресцентного
фторидного сенсора



S. Y. Kim and J. I. Hong, 9, 3109-3112 (2007)

Фиг. 5

Комплексы [^{18}F]фторида алюминия

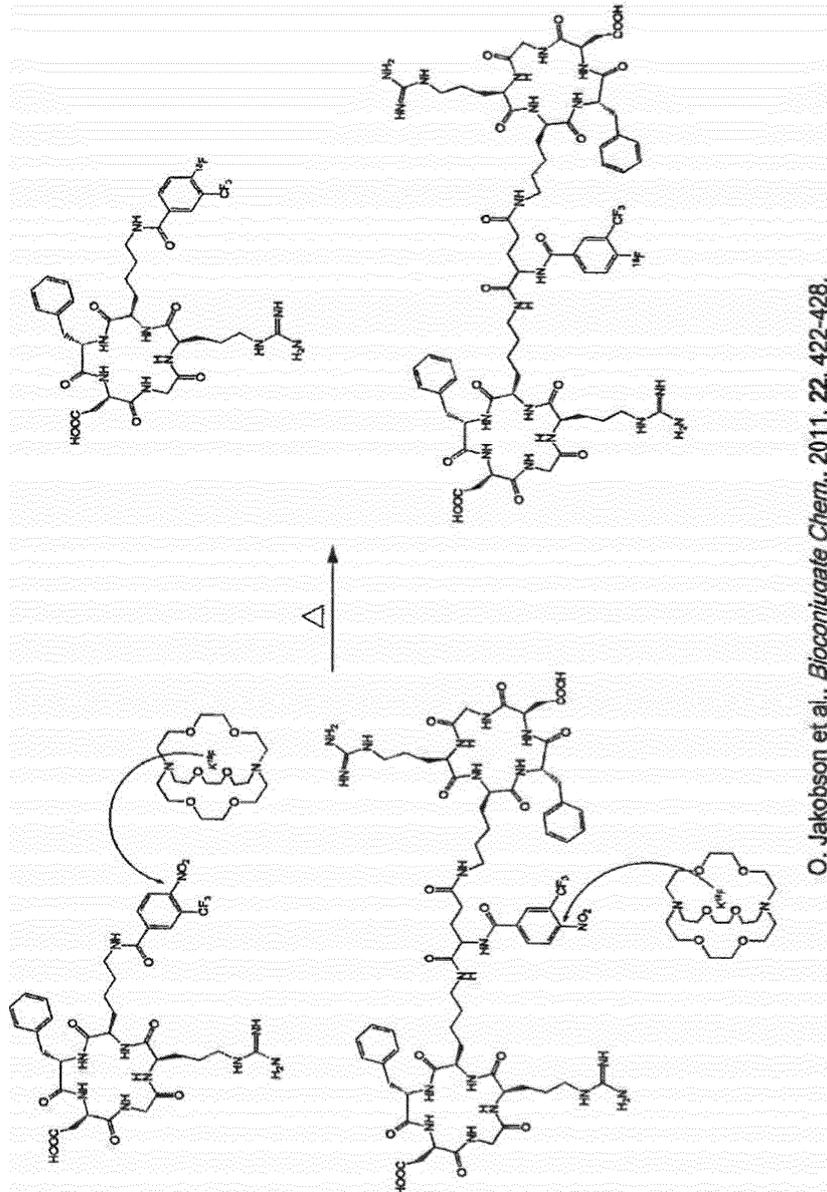


McBride et al., Appl. Radiat. Isot. 2012, 70, 200.

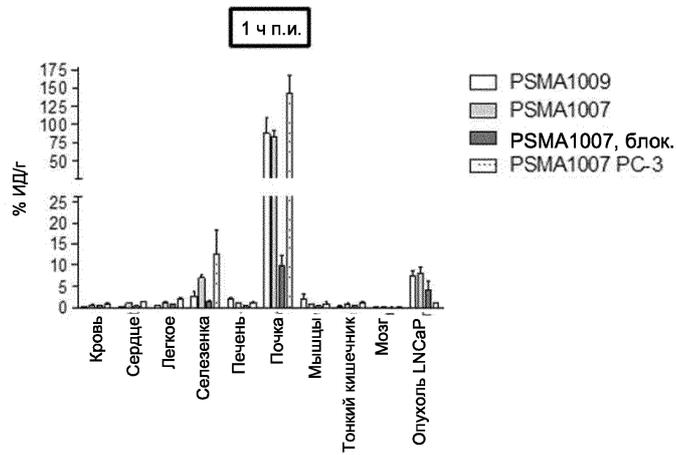
Kit-formulation possible: McBride et al., Bioconjugate Chem. 2012, 23, 538.

Фиг. 6

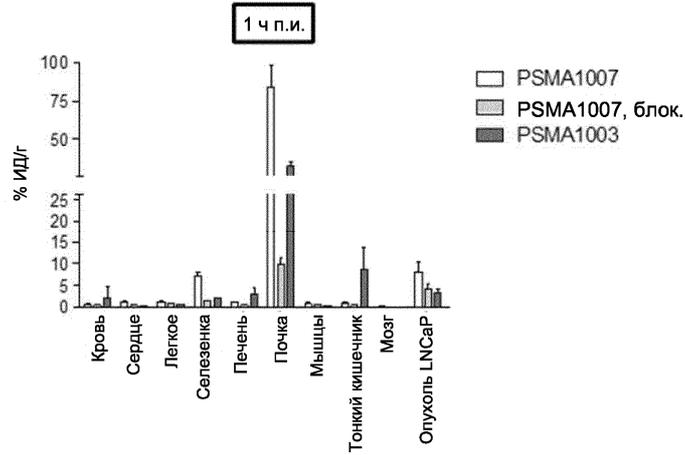
Одностадийное введение метки ^{18}F в RGD пептиды



Фиг. 7



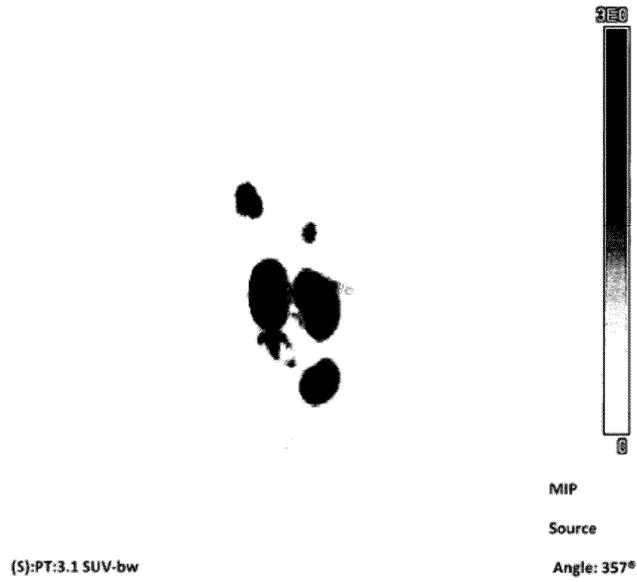
Фиг. 8



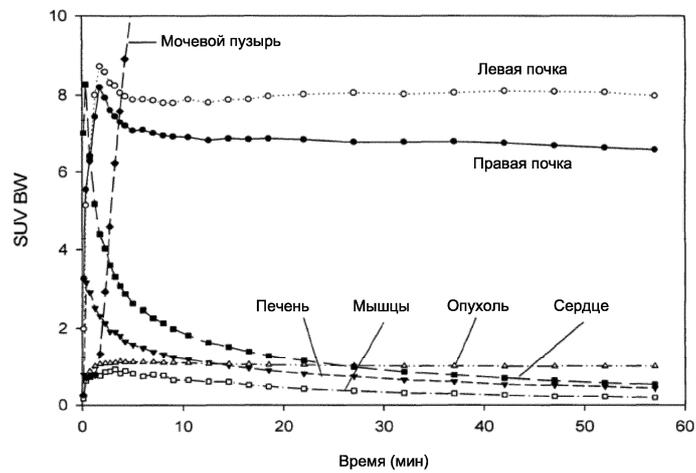
Фиг. 9

JC_04_1007_LnCap_T2_F18_1200_em_1F.pet
 Subject ID: JC_04_1007_LnCap_T2_F18_1200_e
 Sex o, Age-DOB: -13-Aug-2015 14:49:27

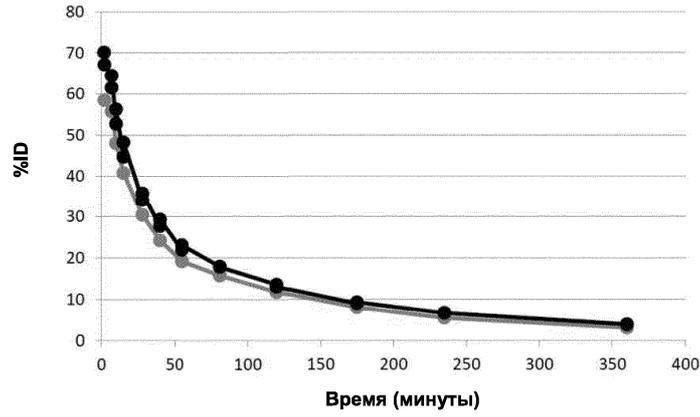
Mi 0Ma 3.1072E5
 Scale: 0.98



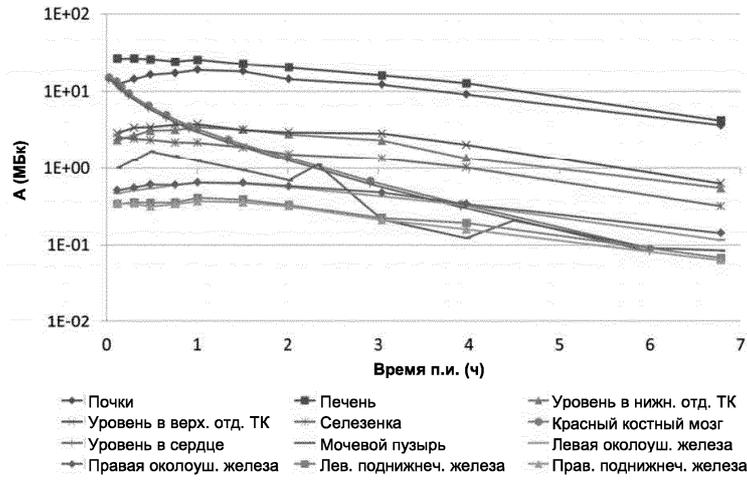
Фиг. 10



Фиг. 11

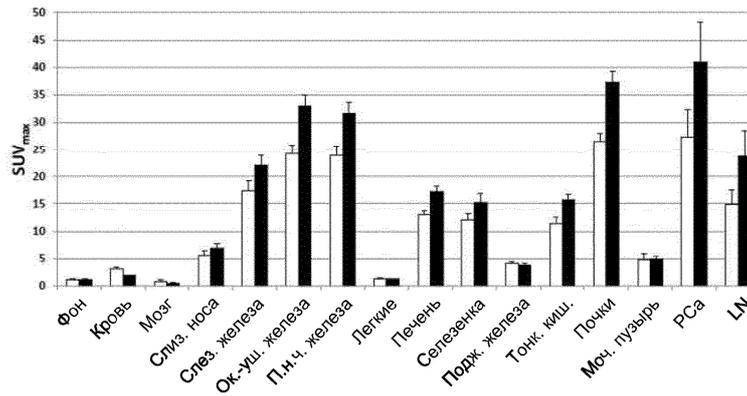


Фиг. 15



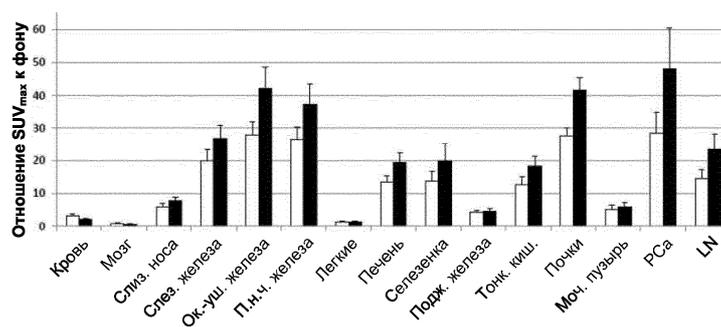
Фиг. 16

SUV_{max} через 1 ч и 3 ч п.и.

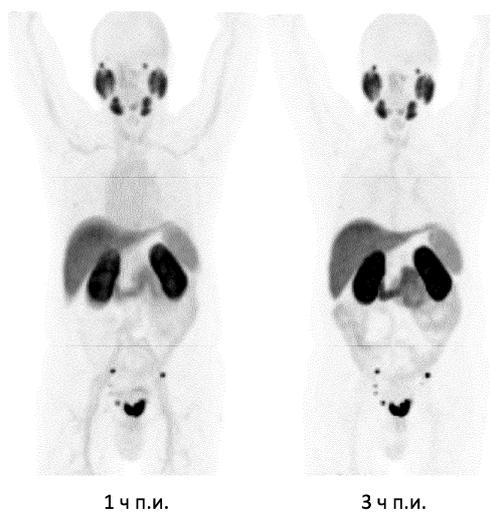


Фиг. 17

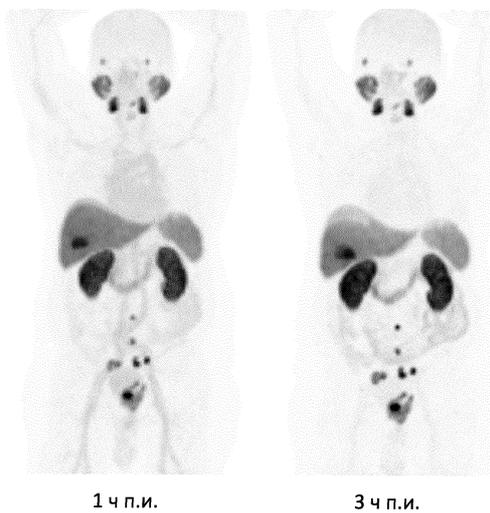
Отношение SUV_{max} к фону через 1 ч и 3 ч п.и.



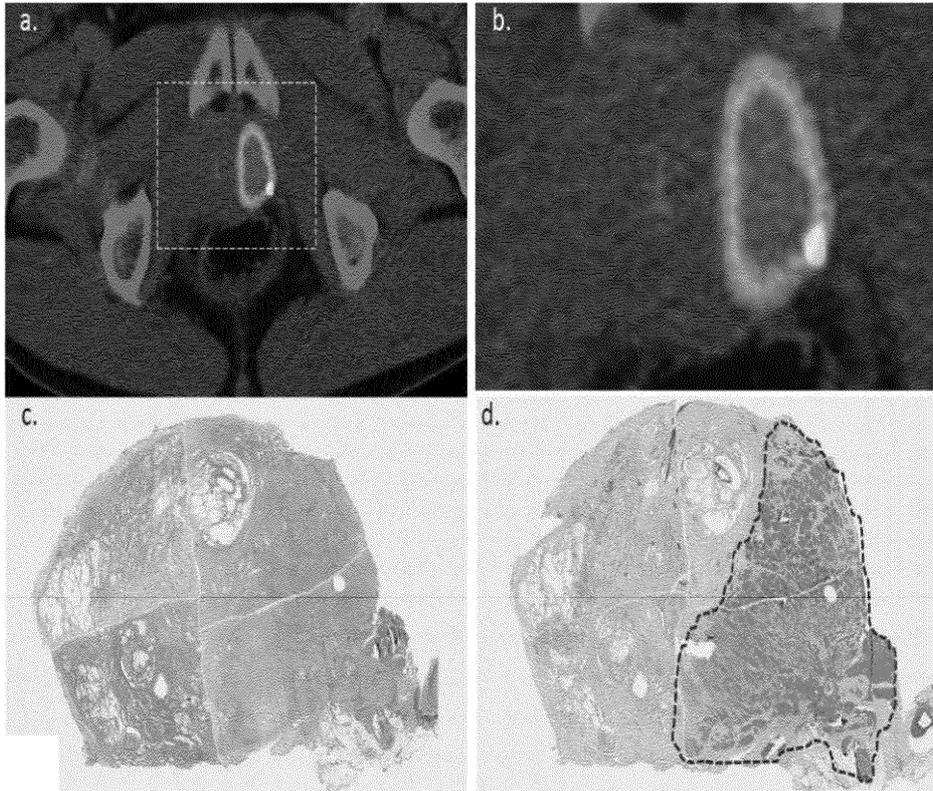
Фиг. 18



Фиг. 19



Фиг. 20



Фиг. 21

