

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 037778

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.05.20

(21) Номер заявки
201690495

(22) Дата подачи заявки
2014.10.17

(51) Int. Cl. C07B 59/00 (2006.01)
C07D 295/145 (2006.01)

(54) МЕЧЕННЫЕ ИНГИБИТОРЫ ПРОСТАТИЧЕСКОГО СПЕЦИФИЧЕСКОГО
МЕМБРАННОГО АНТИГЕНА (ПСМА), ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ АГЕНТОВ
ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА
ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

(31) 13004991.9; 14175612.2

(32) 2013.10.18; 2014.07.03

(33) EP

(43) 2016.10.31

(86) PCT/EP2014/002808

(87) WO 2015/055318 2015.04.23

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

ДОЙЧЕС

КРЕБСФОРШУНГСЦЕНТРУМ;

РУПРЕХТ-КАРЛС-УНИВЕРСИТЕТ

ГЕЙДЕЛЬБЕРГ (DE)

(72) Изобретатель:

Эдер Маттиас, Копка Клаус, Шефер

Мартин, Баудер-Вюст Ульрика,

Хаберкорн Уве, Айзенхут Михаэль,

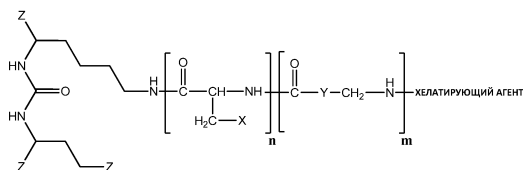
Мир Вальтер, Бенесова Мартина (DE)

(74) Представитель:

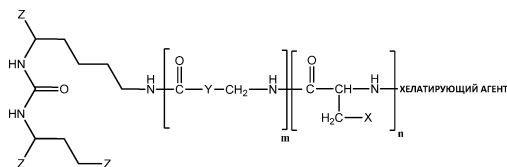
Нилова М.И. (RU)

(56) WO-A1-2013022797

(57) Изобретение в целом относится к области радиофармацевтических средств и их применению в ядерной медицине в качестве индикаторов, агентов для визуализации и для лечения различных болезненных состояний при раке предстательной железы. Таким образом, изобретение относится к соединениям, представленным общими формулами (Ia) или (Ib)



(Ia)



(Ib)

037778 B1

037778 B1

Настоящее изобретение в целом относится к области радиофармацевтических средств и их применению в ядерной медицине в качестве индикаторов, агентов для визуализации и для лечения различных болезненных состояний при раке предстательной железы.

Уровень техники

Рак предстательной железы (РПЖ) является наиболее распространенным раковым заболеванием среди населения США и Европы. По меньшей мере 1-2 миллиона мужчин в западном полушарии страдают раком предстательной железы, и, согласно оценкам, указанное заболевание будет поражать одного из шести мужчин в возрасте от 55 до 85 лет. Ежегодно в США диагностируется более чем 300000 новых случаев рака предстательной железы. Смертность от указанного заболевания занимает второе место после рака легкого. В настоящее время преобладают анатомические способы клинической визуализации рака предстательной железы, такие как компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная (МРТ) и ультразвуковая визуализация. Стоимость проводимой в настоящее время в мире хирургической, лучевой, лекарственной терапии и минимально инвазивного лечения оценивается в 2 млрд. долларов. Тем не менее, в настоящее время отсутствует эффективная терапия для рецидивирующего, метастатического, андроген-независимого рака предстательной железы.

В настоящее время ведутся клинические исследования разнообразных экспериментальных низкомолекулярных агентов для визуализации РПЖ, в том числе меченных радиоактивными метками аналогов холина [^{18}F]фтордигидротестостерона ([^{18}F]FDHT), анти-1-амино-3-[^{18}F]фторциклобутил-1-карбоновой кислоты (анти[^{18}F]F-FACBC, [^{11}C]ацетата и 1-(2-дезоксид-2-[^{18}F]фтор-L-арабинофуранозил)-5-метилурацила (-[^{18}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 действует за счет собственного механизма и имеет определенные преимущества, например незначительное выделение с мочой для [^{11}C]холина, и недостатки, такие как короткий физический период полураспада радионуклидов, излучающих позитрон. Хорошо известно, что опухоли могут экспрессировать уникальные белки, связанные с их злокачественным фенотипом, или могут сверхэкспрессировать нормальные белковые компоненты в большем количестве, чем нормальные клетки. Экспрессия характерных белков на поверхности опухолевых клеток дает возможность диагностировать и характеризовать заболевание путем исследования фенотипических особенностей, биохимического состава и активности опухоли. Радиоактивные молекулы, которые избирательно связываются со специфическими белками поверхности опухолевых клеток, представляют перспективное направление для визуализации и лечения опухолей в неинвазивных условиях. Перспективные новые группы агентов для визуализации с низкой молекулярной массой нацелены на простатический 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 длиной 750 аминокислот, отличающийся интенсивной и ограниченной экспрессией на поверхности РПЖ, в частности, при андроген-независимых, распространенных и метастатических заболеваниях (Schulke, N.; et al. Proc Natl Acad Sci U S A 2003, 100, 12590-12595). Последнее важно, поскольку почти во всех случаях с течением времени РПЖ становится андроген-независимым. ПСМА обладает свойствами, делающими его перспективной мишенью терапии, а именно отличается интенсивной и ограниченной (предстательной железой) экспрессией на всех стадиях заболевания, присутствием на поверхности клеток при отсутствии попадания в кровоток и связью с ферментативной или сигнальной активностью (Schulke, N.; et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2003, 100, 12590-12595). Ген ПСМА расположен на коротком плече 11 хромосомы, и он функционирует одновременно как фолатгидролаза и нейрорептидаза. Он обладает функцией нейрорептидазы, эквивалентной глутаматкарбоксипептидазе II (GCP II), называемой "ПСМА головного мозга", и может модулировать глутаматергическую передачу путем расщепления N-ацетиласпартилглутамата (NAAG) до N-ацетиласпартата (NAA) и глутамата (Nan, F.; et al. J Med Chem 2000, 43, 772-774). В одной раковой клетке содержится до 10^6 молекул ПСМА, что дополнительно указывает на него как на идеальную мишень для визуализации и терапии с использованием методов на основе радионуклидов (Tasch, J.; et al. Crit Rev Immunol 2001, 21, 249-261).

Радиоиммуноконъюгат моноклонального антитела против ПСМА (mAb) 7E11, известный как PROSTASCINT® Scan, в настоящее время используют для диагностики метастазирования и рецидивов рака предстательной железы. Однако при использовании указанного агента наблюдается тенденция к получению сложных для интерпретации изображений (Lange, P.H. PROSTASCINT 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, которые связываются с внеклеточным доменом ПСМА; и их метили радиоактивной меткой, и было показано, что они накапливались в моделях ПСМА-положительных опухолей предстательной железы у животных. Тем не менее, диагностика и обнаружение опухолей с применением моноклональных

антител была ограничена низкой проницаемостью солидных опухолей для моноклональных антител. Избирательное нацеливание радиофармацевтических средств на раковые клетки для визуализации или для терапевтических целей представляет собой сложную задачу. Известно множество радионуклидов, подходящих для радиовизуализации или радиационной терапии раковых заболеваний, в том числе ^{111}In , ^{90}Y , ^{68}Ga , ^{177}Lu , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{123}I и ^{131}I . Недавно было показано, что некоторые соединения, содержащие элемент распознавания глутамат-мочевина-глутамат (GUG) или глутамат-мочевина-лизин (GUL), связанный с конъюгатом радионуклид-лиганд, обладают высоким сродством к ПСМА. Существует потребность в новых агентах, обеспечивающих быструю визуализацию рака предстательной железы и обеспечивающих специфическое нацеливание для проведения радиационной терапии.

Таким образом, задача настоящего изобретения заключается в разработке лигандов, взаимодействующих с ПСМА и несущих подходящие радионуклиды, которые обеспечивают многообещающие новые возможности для направленного обнаружения, лечения и управления течением рака предстательной железы.

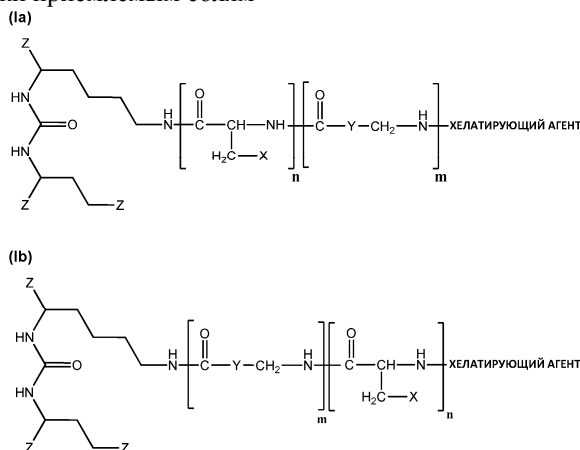
Краткое описание изобретения

Решение указанной задачи достигается за счет обеспечения раскрытых в формуле изобретения вариантов реализации.

Авторы настоящего изобретения обнаружили новые соединения, подходящие в качестве радиофармацевтических средств, и предложили их применение в ядерной медицине в качестве индикаторов, агентов для визуализации и для лечения различных болезненных состояний при раке предстательной железы.

Указанные новые агенты для визуализации со структурными модификациями в области линкера обладают улучшенными характеристиками нацеливания на опухоль и фармакокинетикой. Фармакофор представляет три карбоксильные группы, способные взаимодействовать с соответствующими боковыми цепями ПСМА, и кислород в составе комплекса с цинком в активном центре. Помимо указанных обязательных взаимодействий авторам настоящего изобретения удалось оптимизировать липофильные взаимодействия в области линкера.

Настоящее изобретение относится к соединениям, представленным общими формулами (Ia) или (Ib), или их фармацевтически приемлемым солям

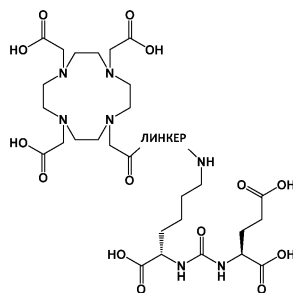


где

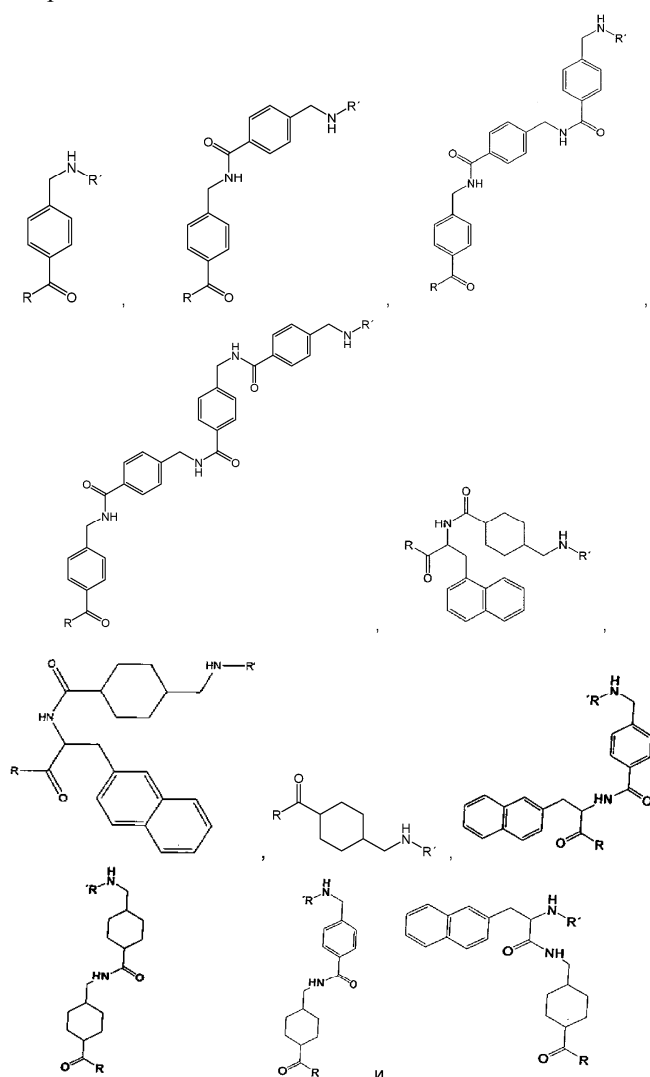
n:	0,1
m:	1,2,3,4
Z:	-CO ₂ H, -SO ₂ H, -SO ₃ H, -SO ₄ H, -PO ₂ H, -PO ₃ H, -PO ₄ H ₂
X:	нафтил, фенил, бифенил, индолил (=2,3-бензопирролил), бензотиазолил
Y:	C ₆₋₁₄ арил, C ₁₋₁₀ алкилC ₆₋₁₄ арил, циклопентил, циклогексил, циклогептил
Радикал хелатирующего агента:	1,4,7,10-тетраазациклодекан-N,N',N'',N'''-тетрауксусная кислота (= DOTA), N,N''-бис[2-гидрокси-5-(карбоксиэтил)бензил]этилендиамин-N,N'-диуксусная кислота (= HBED-CC), 1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триуксусная кислота (= NOTA), 2-(4,7-бис(карбоксиметил)-1,4,7-триазонан-1-ил)пентандиовая кислота (NODAGA), 2-(4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклодекан-1-ил)пентандиовая кислота (DOTAGA), 1,4,7-триазациклононанфосфиновая кислота (TRAP), 1,4,7-триазациклононан-1-[метил(2-карбоксиэтил)фосфиновая кислота]-4,7-бис[метил(2-гидроксиметил)фосфиновая кислота] (NOPO),

3,6,9,15-тетраазабицикло[9.3.1]пентадека-1(15), 11, 13-триен-3,6,9-триуксусная кислота (= PCTA),
N'-[5-[Ацетил(гидрокси)аминопентил]-N-[5-((4-[5-аминопентил](гидрокси)амино]-4-оксобутаноил)амино)пентил]-N-гидроксисукцинамид (ДФО),
Диэтилентриаминпентауксусная кислота (ДТРА),
Транс-циклогексил-диэтилентриаминпентауксусная кислота (CHX-ДТРА),
1-окса-4,7,10-триазациклододекан-4,7,10-триуксусная кислота (оксо-До3А),
п-изогиоцианатобензил-ДТРА (SCN-Bz-ДТРА),
1-(п-изогиоцианатобензил)-3-метил-ДТРА (1В3М),
2-(п-изогиоцианатобензил)-4-метил-ДТРА (1М3В), или
1-(2)-метил-4-изогианатобензил-ДТРА (МХ-ДТРА).

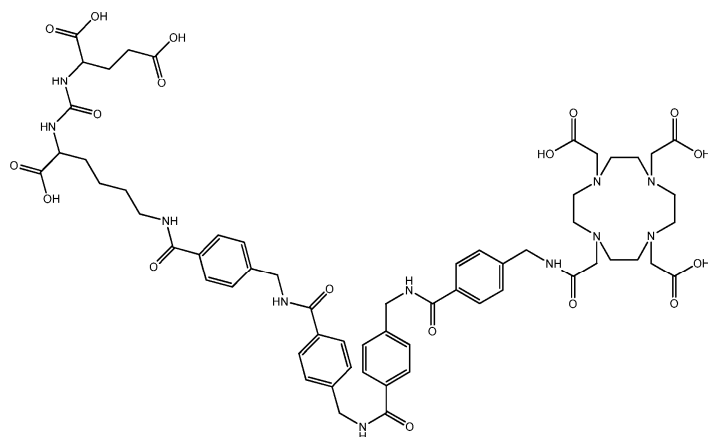
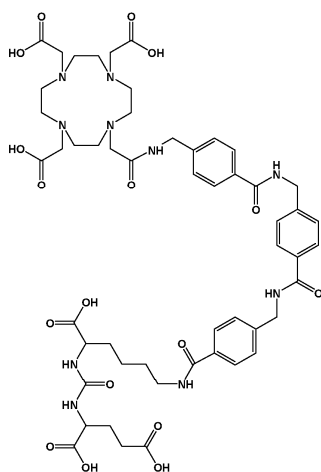
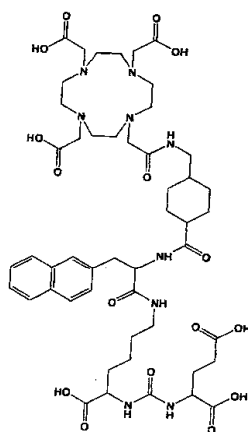
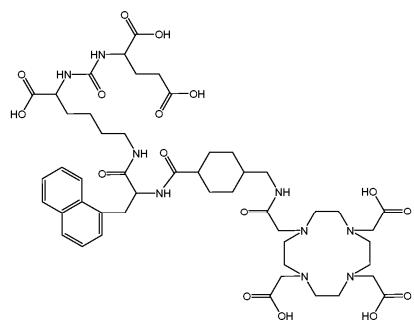
В одном варианте реализации соединения согласно настоящему изобретению имеют представленную ниже формулу и имеют структуру R'-ЛИНКЕР-R, где R' - радикал DOTA, и R - радикал Глутамин-Лис:

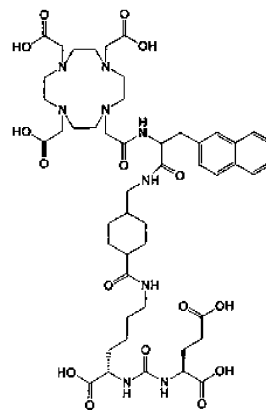
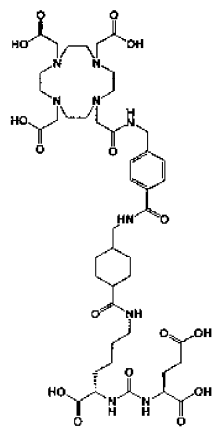
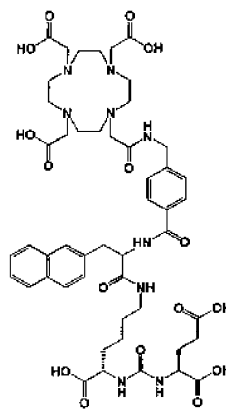
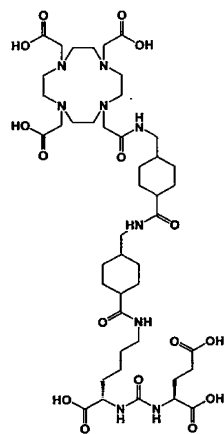
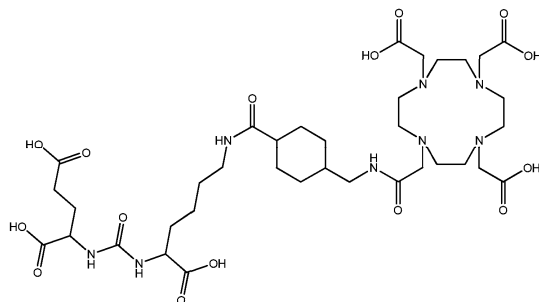
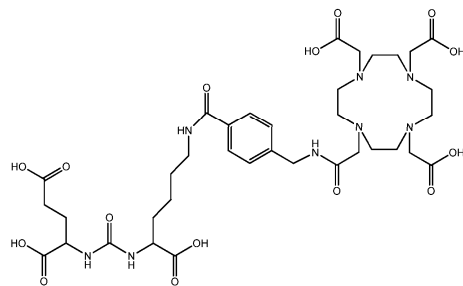
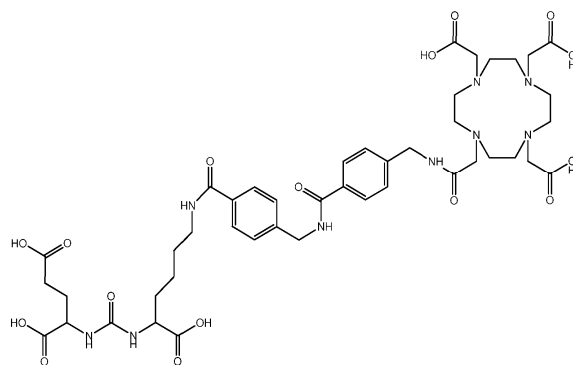


где R'-ЛИНКЕР-R выбран из

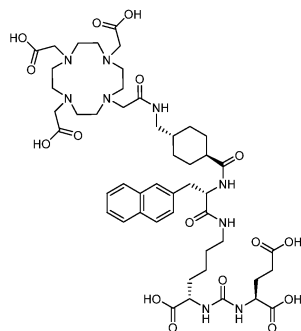


В одном варианте реализации соединения согласно настоящему изобретению выбраны из следующих:

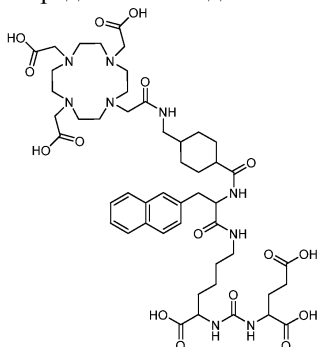




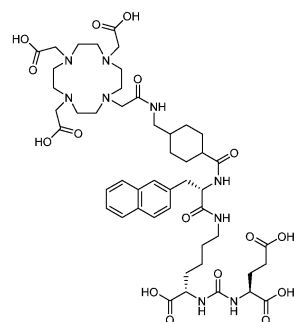
В другом варианте реализации предложено соединение следующей формулы или его соль:



В еще одном варианте реализации предложено соединение следующей формулы или его соль:

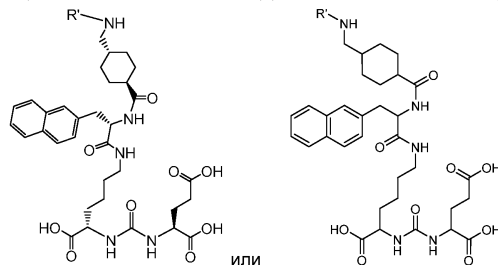


В частном варианте реализации предложено соединение, имеющее следующую формулу, или его соль:

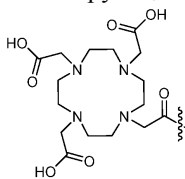


Изобретение также относится к применению предложенных соединений для получения соединений, содержащих радиоактивную метку, и к комплексным соединениям металлов, содержащим радионуклид и соединение согласно настоящему изобретению, причем указанный радионуклид представляет собой ^{89}Zr , ^{44}Sc , ^{111}In , ^{90}Y , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{177}Lu , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{161}Tb , ^{153}Gd , ^{155}Gd , ^{157}Gd , ^{213}Bi , ^{230}U , ^{223}Ra , ^{165}Er или ^{225}Ac .

В одном варианте реализации комплексные соединения металлов содержат соединение формулы

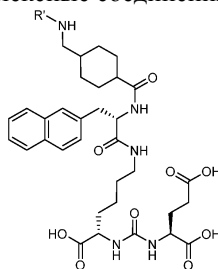


или его соль, где R' представляет собой хелатирующий агент формулы



при этом радионуклид, выбранный из ^{89}Zr , ^{44}Sc , ^{111}In , ^{90}Y , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{177}Lu , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{161}Tb , ^{153}Gd , ^{155}Gd , ^{157}Gd , ^{213}Bi , ^{225}Ac , ^{230}U , ^{223}Ra или ^{165}Er , образует комплекс с хелатирующим агентом.

В частном варианте реализации комплексные соединения металлов содержат соединение формулы



или его соль, где R' является таким, как указано выше.

В одном варианте реализации радионуклид выбран из ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{68}Ga или ^{225}Ac . В одном частном варианте реализации радионуклид представляет собой ^{90}Y . В другом частном варианте реализации радионуклид представляет собой ^{177}Lu . В еще одном частном варианте реализации радионуклид представляет собой ^{68}Ga . В еще одном частном варианте реализации радионуклид представляет собой ^{225}Ac . В еще одном частном варианте реализации радионуклид выбран из ^{64}Cu или ^{67}Cu .

Предложены также фармацевтические композиции, содержащие соединения или комплексные соединения металлов или их фармацевтически приемлемые соли согласно настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель, для лечения различных болезненных состояний при раке предстательной железы. Изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим комплексные соединения металлов или их фармацевтически приемлемые соли и фармацевтически приемлемый носитель, для диагностирования, клинической визуализации или лечения у пациента рака предстательной железы и/или его метастазов. В одном варианте реализации фармацевтические композиции дополнительно содержат по меньшей мере одно вспомогательное вещество, отличное от указанного фармацевтически приемлемого носителя. В еще одном варианте реализации фармацевтические композиции представляют собой забуференный раствор. В еще одном варианте реализации в фармацевтических композициях соединение и/или его соль и необязательно фармацевтически приемлемый носитель лиофилизованы.

Кроме того, предложено применение комплексных соединений металла или фармацевтических композиций, содержащих комплексные соединения металла и фармацевтически приемлемый носитель, для диагностирования, клинической визуализации или лечения у пациента рака предстательной железы и/или его метастазов.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1. ПЭТ-визуализация MB17.

Корональные микро-ПЭТ изображения всего тела самцов бестимусных голых мышей, несущих ксенотрансплантаты опухолей LNCaP. Эффективность нацеливания на опухоль и фармакокинетические свойства [^{68}Ga]MB17 оценивали с помощью динамического микро-ПЭТ сканирования. Вводили приблизительно 15 МБк/мышь. На графике А приведены соответствующие кривые зависимости активности от времени для почек и мочевого пузыря, а на графике В - соответствующие кривые зависимости активности от времени для сердца, мышцы и опухоли. Значения представлены в виде среднего SUV (стандартизованный показатель накопления).

Фиг. 2. Распределение в органах через 1 ч после инъекции.

Распределение в органах через 1 ч после инъекции 0,06 нмоль ^{68}Ga -меченого ингибитора ПСМА MB17. Блокирование ПСМА путем совместного введения 2 мг/кг массы тела 2-РМРА указывает на ПСМА-специфическое поглощение опухолью и почками. Данные представлены в виде среднего % введенной дозы на грамм (ID/г) ткани $\pm$ стандартное отклонение (SD) (n=3).

Фиг. 3. ПЭТ-визуализация MB4.

Корональные микро-ПЭТ изображения всего тела самцов бестимусных голых мышей, несущих ксенотрансплантаты опухолей LNCaP. Эффективность нацеливания на опухоль и фармакокинетические свойства [^{68}Ga]MB4 оценивали с помощью динамического микро-ПЭТ сканирования. Вводили приблизительно 15 МБк/мышь. На графике А приведены соответствующие кривые зависимости активности от времени для почки и мочевого пузыря, а на графике В - соответствующие кривые зависимости активности от времени для сердца, мышц и опухоли. Значения представлены в виде среднего SUV (стандартизованный показатель накопления).

Фиг. 4. Распределение в органах, выраженное как % введенной дозы на г (ID/г) ткани $\pm$ SD (n=5), через 24 ч после инъекции 0,06 нмоль ^{177}Lu -меченого MB17.

Распределение ^{177}Lu в органах показывает, что высокое первоначальное поглощение почками практически полностью исчезает ($2,13 \pm 1,36\%$ ID/г) через 24 ч, тогда как интенсивное поглощение опухолью продолжается и даже усиливается ($10,58 \pm 4,50\%$ ID/г). Другие органы, такие как печень ($0,08 \pm 0,03\%$ ID/г), легкое ($0,11 \pm 0,13\%$ ID/г) и селезенка ($0,13 \pm 0,05\%$ ID/г), демонстрировали очень низкое поглощение. Благоприятные фармакокинетические свойства обуславливали чрезвычайно высокие показатели отношения опухоли к фону (опухоль/кровь: 1058; опухоль/мышца: 529) через 24 ч.

Фиг. 5. ПЭТ-визуализация MB2.

Корональные микро-ПЭТ изображения всего тела самца бестимусной голой мыши, несущей ксенотрансплантат опухоли LNCaP. Эффективность нацеливания на опухоль и фармакокинетические свойства [^{68}Ga]MB2 оценивали с помощью динамического микро-ПЭТ сканирования. Вводили приблизительно 15 МБк/мышь.

Фиг. 6. ПЭТ-визуализация MB3.

Корональные микро-ПЭТ изображения всего тела самца бестимусной голой мыши, несущей ксенотрансплантат опухоли LNCaP. Эффективность нацеливания на опухоль и фармакокинетические свойства [^{68}Ga]MB3 оценивали с помощью динамического микро-ПЭТ сканирования. Вводили приблизительно 15 МБк/мышь.

Фиг. 7. ПЭТ-визуализация MB10.

Корональные микро-ПЭТ изображения всего тела самца бестимусной голой мыши, несущей ксенотрансплантат опухоли LNCaP. Эффективность нацеливания на опухоль и фармакокинетические свойства [^{68}Ga]MB10 оценивали с помощью динамического микро-ПЭТ сканирования. Вводили приблизительно 15 МБк/мышь.

Фиг. 8. ПЭТ-визуализация MB17.D.

Корональные микро-ПЭТ изображения всего тела самца бестимусной голой мыши, несущей ксенотрансплантат опухоли LNCaP. Эффективность нацеливания на опухоль и фармакокинетические свойства [^{68}Ga]MB17.D оценивали с помощью динамического микро-ПЭТ сканирования. Вводили приблизительно 15 МБк/мышь. MB17D: стереоизомер MB17(L); синтез на основе Fmoc-3(2-нафтил)-D-аланина.

Фиг. 9. ПЭТ-визуализация MB22.

Корональные микро-ПЭТ изображения всего тела самца бестимусной голой мыши, несущей ксенотрансплантат опухоли LNCaP. Эффективность нацеливания на опухоль и фармакокинетические свойства [^{68}Ga]MB22 оценивали с помощью динамического микро-ПЭТ сканирования. Вводили приблизительно 15 МБк/мышь.

Фиг. 10. ПЭТ-визуализация MB24.

Корональные микро-ПЭТ изображения всего тела самца бестимусной голой мыши, несущей ксенотрансплантат опухоли LNCaP. Эффективность нацеливания на опухоль и фармакокинетические свойства [^{68}Ga]MB 24 оценивали с помощью динамического микро-ПЭТ сканирования. Вводили приблизительно 15 МБк/мышь.

Фиг. 11. ПЭТ-визуализация MB31.

Корональные микро-ПЭТ изображения всего тела самца бестимусной голой мыши, несущей ксенотрансплантат опухоли LNCaP. Эффективность нацеливания на опухоль и фармакокинетические свойства [^{68}Ga]MB31 оценивали с помощью динамического микро-ПЭТ сканирования. Вводили приблизительно 15 МБк/мышь.

Фиг. 12. ПЭТ-визуализация MB33.

Корональные микро-ПЭТ изображения всего тела самца бестимусной голой мыши, несущей ксенотрансплантат опухоли LNCaP. Эффективность нацеливания на опухоль и фармакокинетические свойства [^{68}Ga]MB33 оценивали с помощью динамического микро-ПЭТ сканирования. Вводили приблизительно 15 МБк/мышь.

Фиг. 13. ПЭТ-визуализация MB35.

Корональные микро-ПЭТ изображения всего тела самца бестимусной голой мыши, несущей ксенотрансплантат опухоли LNCaP. Эффективность нацеливания на опухоль и фармакокинетические свойства [^{68}Ga]MB35 оценивали с помощью динамического микро-ПЭТ сканирования. Вводили приблизительно 15 МБк/мышь.

Фиг. 14. ПЭТ-сканирование мыши, которой был введен ^{68}Ga -CHX-DTPA.

Слева представлена каудальная, в центре - дорсальная и справа - латеральная проекции. Изображения соответствуют временным интервалам 20-40 мин (наверху), 40-60 мин (в центре) и 120-140 мин (снизу).

Фиг. 15. Сравнение MB-17 и MB-17.D

Корональные микро-ПЭТ изображения всего тела самцов бестимусных голых мышей, несущих ксенотрансплантаты опухолей LNCaP. Эффективность нацеливания на опухоль и фармакокинетические свойства стереоизомеров MB-17 и MB-17 D сравнивали непосредственно через 2 ч после инъекции.

Фиг. 16. ПЭТ/КТ-визуализация ^{68}Ga -меченого MB17 у человека.

(а) В первом клиническом опыте применения ПЭТ/КТ с применением ^{68}Ga -меченого MB17 продемонстрировано обнаружение метастазов в малые лимфатические узлы через 1 ч после инъекции, в первую очередь из-за высокого поглощения радиоактивной метки. Красными стрелками показан репрезентативный очаг поражения с максимальным SUV, составляющим 36,5, и отношением "опухоль к фону", составляющим 52,1 через 1 ч после инъекции. MIP - проекция максимальной интенсивности ПЭТ через 1 ч после инъекции.

(б) Существенное преимущество ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -меченым MB17 заключается в чувствительности обнаружения очагов поражения даже при низком уровне ПСА.

Фиг. 17: ПЭТ-визуализация у пациента с множественными метастазами рака предстательной железы.

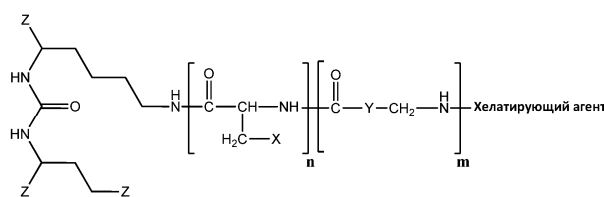
(а) На первом снимке представлена исходная ПЭТ-визуализация у пациента с множественными метастазами рака предстательной железы с показателем ПСА в крови, составляющим 14. Через два месяца вводили 3,3 ГБк ^{177}Lu -меченого MB17. В указанный момент времени количество ПСА в крови достигало значения 38. После первого цикла уровень ПСА снижался до 8. Через три месяца после первого цикла вводили еще 4 ГБк ^{177}Lu -меченого MB17. Контрольное ПЭТ-сканирование выполняли через месяц после второго цикла. Лечение, как было показано, оказывало значительное влияние на опухолевые очаги и показатели ПСА и приводило к снижению боли в костях.

(b) На графике видно значительное влияние на уровень ПСА, снижавшийся после первого применения терапевтической дозы меченого ^{177}Lu MB17.

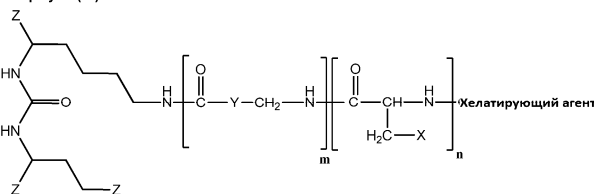
Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к радиофармацевтическим средствам и их применению в ядерной медицине в качестве индикаторов, агентов для визуализации и для лечения различных болезненных состояний при раке предстательной железы. Таким образом, настоящее изобретение относится к соединениям, представленным общими формулами (Ia) или (Ib)

Формула (Ia)



или
Формула (Ib)



где

n:	0,1
m:	1,2,3,4
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), бензотиазолил
Y:	C_{6-14} арил, C_{1-10} алкил C_{6-14} арил, циклопентил, циклогексил, циклогептил
Радикал хелатирующего агента:	1,4,7,10-тетраазациклододекан-N,N',N'',N'''-тетрауксусная кислота (= DOTA), N,N''-бис[2-гидрокси-5-(карбоксизтил)бензил]этилендиамин-N,N''-диуксусная кислота (= HBED-CC), 1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триуксусная кислота (= NOTA), 2-(4,7-бис(карбоксиметил)-1,4,7-триазонан-1-ил)пентандиовая кислота (NODAGA), 2-(4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)пентандиовая кислота (DOTAGA), 1,4,7-триазациклононанфосфиновая кислота (TRAP), 1,4,7-триазациклононан-1-[метил(2-карбоксизтил)фосфиновая кислота]-4,7-бис[метил(2-гидроксиметил)фосфиновая кислота] (NOPO), 3,6,9,15-тетраазабицикло[9.3.1]пентадека-1(15),11,13-триен-3,6,9-триуксусная кислота (= PCTA), N'-{5-[Ацетил(гидрокси)амино]пентил}-N-[5-({[5-аминопентил](гидрокси)амино]-4-оксобутаноил)амино]пентил]-N-гидроксисукцинамид (DFO), Диэтилтриаминапентауксусная кислота (DTPA), Транс-циклогексил-диэтилтриаминапентауксусная кислота (CHX-DTPA),
	1-окса-4,7,10-триазациклододекан-4,7,10-триуксусная кислота (оксо-Do3A), п-изотиоцианатобензил-DTPA (SCN-Bz-DTPA), 1-(п-изотиоцианатобензил)-3-метил-DTPA (1B3M), 2-(п-изотиоцианатобензил)-4-метил-DTPA (1M3B), или 1-(2)-метил-4-изоцианатобензил-DTPA (MX-DTPA),

или их фармацевтическим солям.

Если не указано иное, в настоящем изобретении остаток "алкила" (предпочтительно C_1 - C_{10}) может быть линейным или разветвленным, незамещенным или замещенным.

Предпочтительные остатки алкилов представляют собой метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, трет-бутил, н-пентанил, н-гексанил. Это также относится и к соответствующим циклоалкильным соединениям, содержащим предпочтительно от 3 до 10 атомов углерода.

"Арил" относится к ароматической моноциклической или полициклической кольцевой системе, содержащей от 6 до 14 атомов углерода, предпочтительно от 6 до 10 атомов углерода. Арильная группа может быть замещена, при необходимости, одним или несколькими кольцевыми заместителями, такими как алкильные группы.

Предпочтительными арильными группами являются фенил, бензил или нафтил.

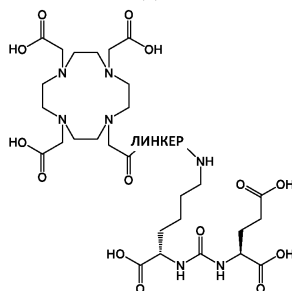
Хотя в предпочтительном варианте Z-группа представляет собой $-CO_2H$, она легко может быть заменена биостерическими заместителями, такими как $-SO_2H$, $-SO_3H$, $-SO_4H$, $-PO_2H$, $-PO_3H$, $-PO_4H_2$, см., например, "The Practice of Medicinal Chemistry" ("Практическая медицинская химия") (Academic Press New York, 1996), с. 203.

В контексте настоящего изобретения все остатки считаются комбинируемыми, если иное не указано в определении указанных остатков. Все их возможные подгруппы считаются раскрытыми.

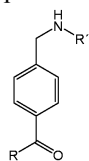
Согласно предпочтительному варианту реализации мотив, специфически связывающийся с клеточными мембранами неопластических клеток, представляет собой мотив, специфически связывающийся с клеточными мембранами раковых клеток, при этом указанный мотив предпочтительно содержит простатический специфический мембранный антиген (ПСМА), и, в частности, указанный ПСМА содержит мотив глутамат-мочевина-лизин в соответствии с приведенной ниже формулой на схеме 1.

Таким образом, предпочтительные молекулы согласно настоящему изобретению состоят из трех основных компонентов (схема 1): гидрофильного ПСМА-связывающего мотива (радикала Glu-мочевина-Lys=Glu-NH-CO-NH-Lys), варибельного линкера и хелатирующего агента, представляющего собой предпочтительно радикал DOTA.

Схема 1. Структура предпочтительных соединений согласно настоящему изобретению



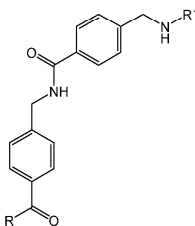
Различные предпочтительные линкеры показаны ниже, при этом R - радикал Glu-мочевина-Lys, и R' - радикал DOTA (как предпочтительный пример хелатирующего агента), как было показано выше.



Линкер MB2

Химическая формула: $C_{36}H_{54}N_8O_{15}$

Молекулярная масса: 838,88 г/моль

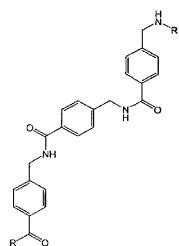


Линкер MB3

Химическая формула: $C_{44}H_{61}N_9O_{16}$

Молекулярная масса: 972,03 г/моль

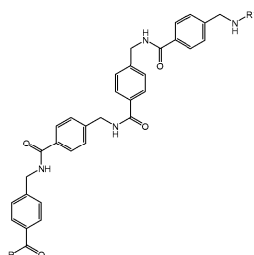
037778



Линкер MB4

Химическая формула: $C_{52}H_{68}N_{10}O_{17}$

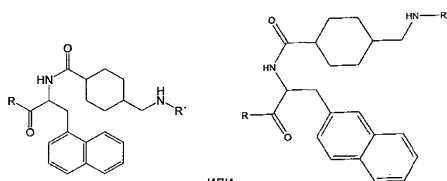
Молекулярная масса: **1105,18** г/моль



Линкер MB10

Химическая формула: $C_{65}H_{70}N_{11}O_8$

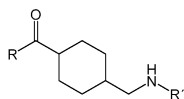
Молекулярная масса: **1238,33** г/моль



Линкер MB17

Химическая формула: $C_{49}H_{71}N_3O_{16}$

Молекулярная масса: **1042,16** г/моль

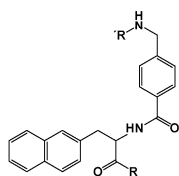


Линкер MB22

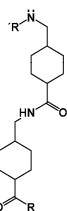
Химическая формула: $C_{36}H_{60}N_2O_{15}$

Молекулярная масса: **844,92** г/моль

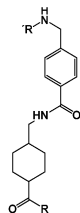
MB24



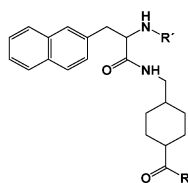
MB31



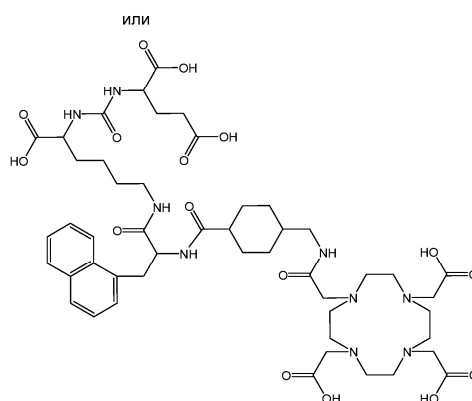
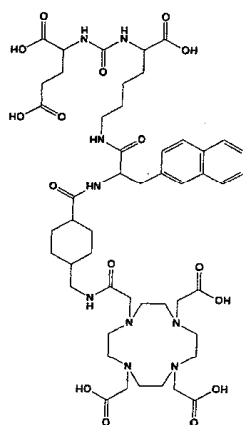
MB33



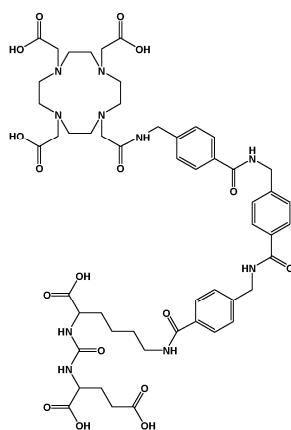
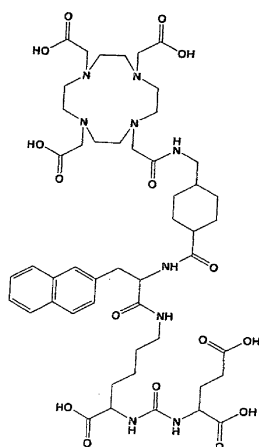
MB35



Предпочтительные соединения согласно настоящему изобретению представляют собой, например, следующие:

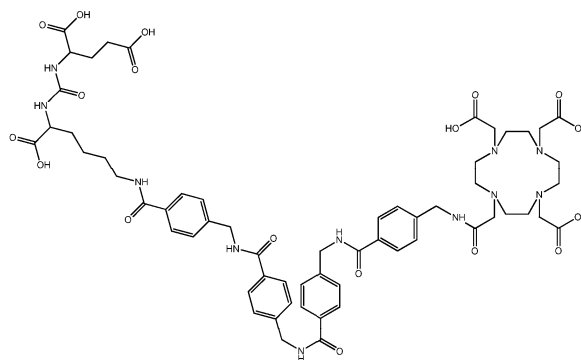


MB17

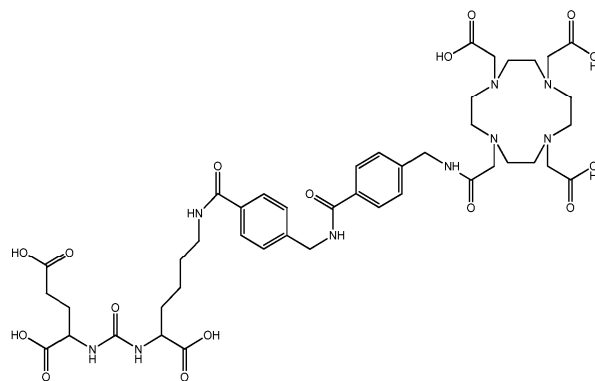


MB 4

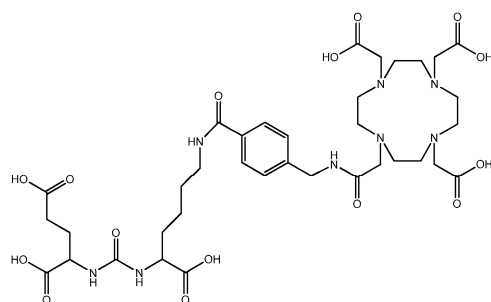
037778



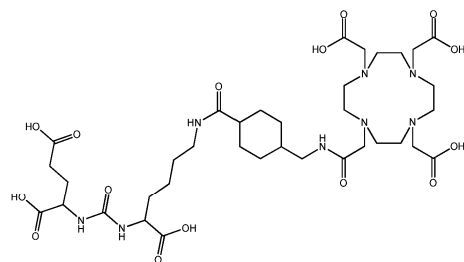
MB 10



MB 3

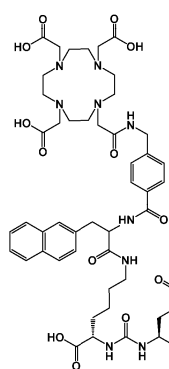


MB 2

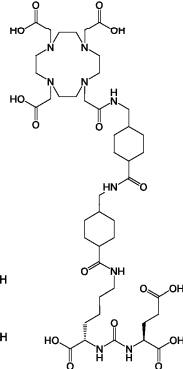


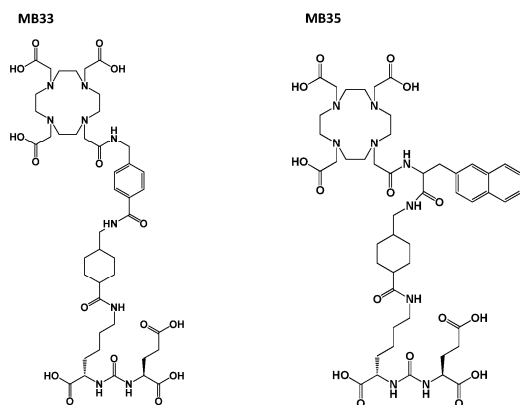
MB 22

MB24



MB31





Настоящее изобретение также относится к фармацевтически приемлемым солям соединений общей формулы (Ia) и/или (Ib). Настоящее изобретение также относится к сольватам указанных соединений, в том числе солям, а также их активным метаболитам и, в надлежащих случаях, их таутомерам, соответствующим общей формуле (Ia) и/или (Ib), в том числе составам пролекарств.

"Фармацевтически приемлемая соль" представляет собой фармацевтически приемлемую органическую или неорганическую соль кислоты или основания соединения согласно настоящему изобретению. Репрезентативные фармацевтически приемлемые соли включают, например, соли щелочных металлов, соли щелочноземельных металлов, соли аммония, водорастворимые и водонерастворимые 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 подвергаться химическому превращению за счет метаболических процессов перед преобразованием в активный фармакологический агент. Иллюстративные примеры пролекарств соединений в соответствии с формулой (Ia) и/или (Ib) представляют собой сложные эфиры и амиды, предпочтительно сложные алкилэфиры сложных эфиров жирных кислот. Составы пролекарств согласно настоящему изобретению содержат все вещества, которые образуются путем простого преобразования, в том числе гидролиза, окисления или восстановления ферментативным, метаболическим или любым другим образом. Подходящее пролекарство содержит, например, вещество общей формулы (Ia) и/или (Ib), связанное ферментативно расщепляемым линкером (например, карбаматной, фосфатной, N-гликозидной или дисульфидной группой) с улучшающим растворение веществом (например, тетраэтиленгликолем, сахарами, муравьиными кислотами или глюкуроновой кислотой, и т.п.). Такое пролекарство соединения в соответствии с настоящим изобретением может быть введено пациенту; и указанное пролекарство может быть преобразовано в вещество общей формулы (Ia) и/или (Ib) для получения нужного фармакологического эффекта.

Некоторые соединения формулы (Ia) и/или (Ib) включены в форме рацематов, их энантиомеров и, необязательно, в форме их диастереомеров и всех их возможных смесей. В соответствии с настоящим изобретением все хиральные атомы углерода имеют D- и/или L-конфигурацию; также возможны комбинации в составе одного соединения, т.е. некоторые из хиральных атомов углерода могут иметь D-конфигурацию, а другие могут иметь L-конфигурацию.

Полученные соединения могут быть необязательно разделены с помощью известных способов (например, Allinger, N.L. and Elliel E.L., в источнике: "Topics in Stereochemistry", Vol. 6, Wiley Interscience, 1971) на энантиомеры и/или диастереомеры. Одним из возможных способов разделения энантиомеров является применение хроматографии. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим препаратам, которые содержат терапевтически эффективное количество активных ингредиентов (соединение в соответствии с настоящим изобретением формулы (Ia) или (Ib)) совместно с органическим или неорганическим твердым веществом или жидкостью, фармацевтически приемлемыми носителями, подходящими для предполагаемого введения и взаимодействующими с указанными активными ингредиентами без негативных эффектов.

Выражение "фармацевтически приемлемый" в настоящем документе относится к соединениям, материалам, композициям и/или лекарственным формам, которые, согласно здравой медицинской оценке, подходят для применения в контакте с тканями пациента без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, с разумным соотношением пользы и риска.

"Пациент" включает животных, таких как человек, обезьяна, корова, лошадь, кошка или собака. Указанное животное может представлять собой млекопитающее, например, не являющееся или являющееся приматом (например, обезьяну и человека). Согласно одному варианту реализации пациент представляет собой человека. В общем случае соединение формулы (Ia) или (Ib) или содержащие его фармацевтические композиции могут вводиться перорально или парентерально, как правило, путем инъекции или инфузии.

"Парентеральное введение" означает способы введения, отличные от энтерального и местного вве-

дения, как правило, путем инъекции, и включает, без ограничения, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, интракапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную и интрастернальную инъекцию и инфузию.

Дозу соединений в соответствии с настоящим изобретением определяет лечащий врач на основании специфических параметров пациента, таких как возраст, масса тела, пол, тяжесть заболевания и т.п. Доза составляет предпочтительно от 0,00001 до 100 мг/кг массы тела, предпочтительно от 0,001 до 50 мг/кг массы тела и наиболее предпочтительно от 0,01 до 10 мг/кг массы тела.

В соответствии со способом введения медикамент получают в виде подходящего состава, например, в форме растворов или суспензий, простых таблеток или драже, твердых или мягких желатиновых капсул, свечей, суппозиториев, препаратов для инъекций, которые получают в соответствии с обычными способами получения галеновых препаратов. Соединения в соответствии с настоящим изобретением могут быть при необходимости введены в состав вместе с дополнительными активными веществами и вспомогательными веществами и носителями, обычными для фармацевтических композиций, например, в зависимости от получаемого состава: тальк, гуммиарабик, лактоза, крахмал, стеарат магния, масло какао, водные и неводные носители, жировые вещества животного или растительного происхождения, производные парафина, гликоли (в частности, полиэтиленгликоль), различные пластификаторы, диспергирующие агенты или эмульгаторы, фармацевтически совместимые газы (например, воздух, кислород, диоксид углерода и т.п.), консерванты.

Для получения жидких составов могут применяться добавки, такие как раствор хлорида натрия, этанол, сорбит, глицерин, оливковое масло, миндальное масло, пропиленгликоль или этиленгликоль.

В тех случаях, когда применяются растворы для инфузии или инъекций, они представляют собой предпочтительно водные растворы или суспензии, которые можно получить перед применением, например, из лиофилизированных составов, содержащих собственно активное вещество или активное вещество вместе с носителем, таким как маннит, лактоза, глюкоза, альбумин и т.п. Готовые растворы стерилизуют и, при необходимости, смешивают со вспомогательными веществами, например с консервантами, стабилизаторами, эмульгаторами, солубилизаторами, буферами и/или солями для регулирования осмотического давления. Стерилизация может достигаться путем стерилизующей фильтрации с применением фильтров с небольшим размером пор, в соответствии с чем композиция может быть при необходимости лиофилизована. Могут также добавляться небольшие количества антибиотиков для обеспечения поддержания стерильности.

Выражение "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" в настоящем документе означает, что количество соединения, материала или композиции, содержащего(ей) соединение согласно настоящему изобретению или другой активный ингредиент, эффективно обеспечивает определенный нужный терапевтический эффект, по меньшей мере, в субпопуляции клеток у животного при разумном соотношении пользы и риска, применимом к любому медицинскому лечению. Терапевтически эффективное количество в отношении соединения согласно настоящему изобретению означает количество терапевтического агента по отдельности или в комбинации с другими терапевтическими средствами, обеспечивающее благоприятный терапевтический эффект при лечении или предотвращении заболевания. При применении в отношении соединения согласно настоящему изобретению указанный термин может охватывать количество, улучшающее терапию в целом, уменьшающее или позволяющее избежать симптомов или причин заболевания или повышающее терапевтическую эффективность или действующее синергистически с другим терапевтическим агентом.

В настоящем документе подразумевается, что термины "лечить" или "лечение" охватывают также диагностику, профилактику, предотвращение, терапию и излечение. Термины "предотвращать" и "предотвращение" относятся к предотвращению начала, рецидива или распространения заболевания у пациента в результате введения профилактического или терапевтического агента.

В зависимости от того, предполагается ли применять предложенные в настоящем изобретении соединения формулы (Ia) и/или (Ib) в качестве радиоактивных агентов для визуализации или радиоактивных фармацевтических средств, в комплексы с хелатирующим агентом вводятся разные радионуклиды. Иллюстративные примеры радионуклидов включают, например, ^{89}Zr , ^{44}Sc , ^{111}In , ^{90}Y , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{177}Lu , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{161}Tb , ^{153}Gd , ^{155}Gd , ^{157}Gd , ^{213}Bi , ^{225}Ac , ^{230}U , ^{223}Ra и ^{165}Er . В соответствии с одним из аспектов настоящего изобретения радионуклид представляет собой ^{111}In , ^{90}Y , ^{68}Ga , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{64}Cu , ^{153}Gd , ^{155}Gd , ^{157}Gd , ^{213}Bi , ^{225}Ac или ^{177}Lu .

Как отмечено выше, комплексы соединений формулы (Ia) или (Ib) могут содержать один или большее количество радионуклидов, подходящих для применения в качестве радиоактивных агентов для визуализации или в качестве терапевтических средств для лечения быстро пролиферирующих клеток, например экспрессирующих ПСМА клеток рака предстательной железы. В соответствии с настоящим изобретением их называют "комплексными соединениями металлов" или "радиофармацевтическими средствами". Предпочтительными способами визуализации являются позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) или однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ).

Соответственно согласно одному варианту реализации предложена фармацевтическая композиция,

включающая комплекс, содержащий радионуклид и соединение формулы (Ia) или формулы (Ib), его соль, сольват, стереоизомер или таутомер и фармацевтически приемлемый носитель.

В соответствии с другим аспектом предложена фармацевтическая композиция, подходящая для *in vivo* визуализации и радиационной терапии. Подходящие фармацевтические композиции могут содержать радиоактивный агент для визуализации или радиотерапевтический агент, содержащий радионуклид либо в виде элемента, т.е. радиоактивный йод, либо в виде хелатного комплекса радиоактивного металла и соединения формулы (Ia) и/или (Ib) в количестве, достаточном для визуализации, совместно с фармацевтически приемлемым радиологическим носителем. Указанный радиологический носитель должен подходить для инъекций или аспирации, как, например, альбумин сыворотки человека; водные буферные растворы, например трис(гидрометил)аминометан (и его соли), фосфат, цитрат, бикарбонат и т.п.; стерильный водный физиологический солевой раствор и сбалансированные ионные растворы, содержащие хлоридные и/или бикарбонатные соли или нормальные катионы плазмы крови, такие как кальций, калий, натрий и магний.

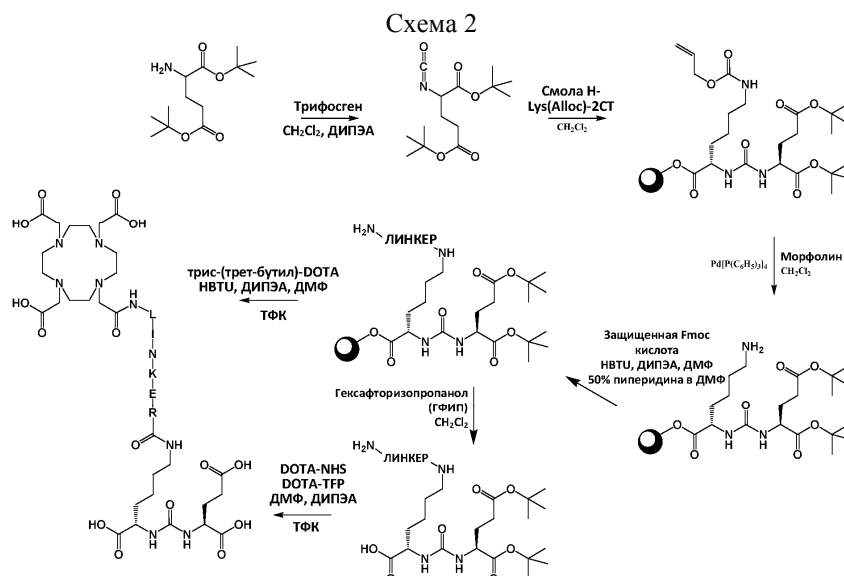
Концентрация агента для визуализации или терапевтического агента в указанном радиологическом носителе должна быть достаточной для обеспечения удовлетворительной визуализации. Например, при применении водного раствора доза составляет приблизительно от 1,0 до 100 мКи. Однако фактическая вводимая пациенту доза для целей визуализации или терапии определяется проводящим лечение врачом. Указанный агент для визуализации или терапевтический агент должен вводиться таким образом, чтобы оставаться в организме пациента в течение приблизительно от 1 часа до 10 дней, хотя приемлемыми являются и более длительные, и более короткие периоды времени. Таким образом, могут подготавливаться удобные для применения ампулы, содержащие от 1 до 10 мл водного раствора.

Визуализация может быть выполнена обычным способом, например путем введения достаточного количества композиции для визуализации для обеспечения адекватной визуализации и последующего сканирования с помощью подходящего аппарата для визуализации или сканирования, такого как томограф или гамма-камера. Согласно определенным вариантам реализации визуализация некоторой области у пациента включает этапы: (i) введения пациенту диагностически эффективного количества соединения в комплексе с радионуклидом; экспонирования области организма пациента в сканирующем устройстве; и (ii) получения изображения указанной области организма пациента. Согласно определенным вариантам реализации соединения и комплексы формулы I(a) и/или (Ib) нацелены на белок ПСМА.

Количество соединения согласно настоящему изобретению или состава, содержащего комплекс металла и соединения в соответствии с формулой (Ia) и/или (Ib), или его соли, сольвата, стереоизомера или таутомера, которое вводят пациенту, зависит от нескольких физиологических параметров, которые обычно используют врачи, в том числе природы проводимой визуализации, ткани-мишени визуализации или терапии, массы тела и истории болезни пациента, у которого проводится визуализация или терапия с применением радиофармацевтического средства.

Соответственно согласно другому аспекту в настоящем изобретении предложено применение соединения формулы (Ia) и/или (Ib), входящего в комплекс с радионуклидом, или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного комплекса, для лечения пациента, страдающего клеточнопролиферативным заболеванием или расстройством. В частности, клеточнопролиферативное заболевание, лечение или визуализацию которого предполагается проводить с применением соединения, фармацевтической композиции или радиофармацевтического средства в соответствии с настоящим изобретением, представляет собой раковое заболевание, например рак предстательной железы и/или метастазы рака предстательной железы, например, в легкие, печень, почки, кости, головной мозг, спинной мозг, мочевой пузырь и т.п.

Синтез соединений согласно настоящему изобретению описан подробно в разделе примеров. Синтез кратко проиллюстрирован на примере схемы 2, действующей конъюгированные с DOTA ингибиторы ПСМА. Тем не менее, специалист в данной области техники сможет модифицировать указанные реакции, например, с применением другого хелатирующего агента. Соответственно приведенная схема не должна трактоваться как ограничивающая соединения согласно настоящему изобретению исключительно хелатирующим агентом DOTA.



Синтезированные соединения химически характеризуют с помощью ОФ-ВЭЖХ, МС и/или ЯМР.

Указанные новые конъюгированные с хелатирующими агентами агенты для визуализации со структурными модификациями в области линкера обладают улучшенными характеристиками нацеливания на опухоль и фармакокинетикой. Фармакофор представляет три карбоксильные группы, способные взаимодействовать с соответствующими боковыми цепями ПСМА, и кислород в составе комплекса с цинком в активном центре. Помимо указанных обязательных взаимодействий авторам настоящего изобретения удалось оптимизировать липофильные взаимодействия в области линкера. Доклиническая оценка включает анализы *in vitro* (аффинность, интернализация) и эксперименты *in vivo* (скрининг методом микро-ПЭТ и распределение в органах). Соединения согласно настоящему изобретению превосходят известные референсные соединения в отношении почечного клиренса и накопления в опухоли. На сродство к связыванию ингибиторов ПСМА согласно настоящему изобретению можно влиять модификацией линкера. Два циклических фрагмента и по меньшей мере один ароматический фрагмент в области линкера вещества, по-видимому, являются предпочтительными и обеспечивают высокую аффинность соединений MB4 и MB17. С учетом этого весьма перспективным является соединение MB17.

Соответственно соединения согласно настоящему изобретению представляют собой новые нацеленные на ПСМА зонды с оптимальными характеристиками, что было дополнительно подтверждено распределением в органах и ПЭТ-визуализацией у мелких животных. Соединения согласно настоящему изобретению демонстрируют высокие уровни поглощения ПСМА-специфическими опухолями. Кроме того, они характеризуются ранним накоплением в мочевом пузыре, а также максимальным поглощением почками. В отношении терапевтического применения это дает явные клинические преимущества соединениям согласно настоящему изобретению по сравнению с другими ингибиторами ПСМА. На диаграммах ПЭТ соединения согласно настоящему изобретению, в частности MB17, демонстрируют быстрый фоновый клиренс, а также значимое снижение накопления в почках через 2 ч, при дальнейшей аккумуляции и накоплении в экспрессирующей ПСМА опухоли. Также были получены перспективные результаты для впервые проведенного *in vivo* лечения MB17 (см. фиг. 16 и 17).

Настоящее изобретение более подробно объясняется на приведенных ниже примерах, однако они не должны толковаться как каким-либо образом ограничивающие указанное изобретение исключительно приведенными иллюстративными вариантами осуществления.

Примеры

Пример 1. Синтез конъюгированных с DOTA ингибиторов.

Конъюгированные с DOTA ингибиторы ПСМА синтезировали путем твердофазного пептидного синтеза (см. схему 2). На первом этапе получали *in situ* изоцианат фрагмента глутамила путем добавления смеси 3 ммоль бис-(трет-бутил)-L-глутамата гидрохлорида и 3 мл N-этилдиизопропиламина (ДИПЭА) в 200 мл сухого CH_2Cl_2 к раствору 1 ммоль трифосгена в 10 мл сухого CH_2Cl_2 при 5°C в течение 3 ч. После реакции добавляли 0,5 ммоль иммобилизованного на смоле (2-хлортритильная смола) ϵ -аллилоксикарбонил-защищенного лизина и проводили реакцию в течение 16 ч при осторожном перемешивании. Смолу отфильтровывали и защитную аллилоксигруппу удаляли с применением 50 мг тетраакис-(трифенил)палладия и 400 мкл морфолина в 4 мл CH_2Cl_2 в течение 2 ч.

Последующий синтез пептидомиметика ПСМА-связывающего мотива выполняли в соответствии со стандартным протоколом для Fmoc. Последующее сочетание с линкерной частью выполняли с применением 2 ммоль соответствующей Fmoc-защитной кислоты, 3,96 ммоль HBTU (тетраметил-уроний-гексафторфосфата) и 2 ммоль N-этилдиизопропиламина в конечном объеме 4 мл ДМФ. После активации с помощью 3,95 экв. HBTU и ДИПЭА в течение 2 ч проводили реакцию с 4 экв. трис(трет-бутил)-DOTA

(Chematech) относительно нагрузки смолы в конечном объеме 3 мл ДМФ. Продукт отделяли от смолы в 2 мл смеси, состоящей из трифторуксусной кислоты, триизопропилсилана и воды (95:2,5:2,5).

Хелатирующий агент дополнительно конъюгировали с применением активированного с помощью HBTU сложного эфира DOTA-NHS (CheMatech) или сложного эфира DOTA-TFP (Mier W., Hoffend J., Krämer S., Schuhmacher J., Hull W.E., Eisenhut M., Haberkorn U., Bioconjugate Chem. 2005, 16: 237-240).

Анализ синтезированных молекул выполняли с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии с обратной фазой (ОФ-ВЭЖХ; Chromolith RP-18e, 100×4,6 мм; Merck, Дармштадт, Германия) с линейным градиентом А-В (0% В - 100% В за 6 мин) при скорости потока 4 мл/мин (анализ) или 6 мл/мин (очистка). Растворитель А состоял из 0,1% водного ТФК, а растворитель В представлял собой 0,1% ТФК в CH_3CN . Система ВЭЖХ (L6200 А; Merck-Hitachi, Дармштадт, Германия) была оснащена УФ- и гамма-детектором (Bioscan; Вашингтон, США). УФ-поглощение измеряли при 214 нм. Масс-спектрометрию выполняли с применением системы МАЛДИ-МС Daltonics Microflex (Bruker Daltonics, Бремен, Германия).

Пример 2. Введение радиоактивной метки.

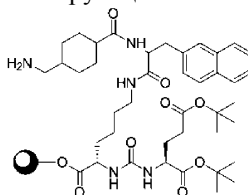
Как правило, 1,5 нмоль синтезированного соединения из примера 1 (растворенного в 0,1 М буфера HEPES, pH 7,5) добавляли в объеме 100 мкл к смеси 10 мкл 2,1 М раствора HEPES и 40 мкл $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga}^{3+}$ элюата (40 МБк). pH раствора для мечения доводили до 4,5. Введение радиоактивных меток в соединения приводило к радиохимическому выходу, составляющему >97% через 15 мин при 95°C; его определяли посредством ОФ-ВЭЖХ и ТСХ. Последующую очистку выполняли с использованием картриджей Sep-Pak C18.

Пример 3. Синтез соединений MB4 и MB17.

Изоцианат глутамильного фрагмента получали *in situ* путем добавления смеси 3 ммоль гидрохлорида бис-(трет-бутил) L-глутамата и 1,5 мл N-этилдиизопропиламина (ДИПЭА) в 200 мл сухого CH_2Cl_2 к раствору 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-третилтильная смола) ϵ -аллилоксикарбонил-защитенного лизина в 4 мл ДХМ и проводили реакцию в течение 16 ч при осторожном перемешивании. Смолу отфильтровывали и удаляли аллилокси-защитную группу с использованием 30 мг тетраakis(трифенил)палладия(0) и 400 мкл морфолина в 4 мл CH_2Cl_2 в течение 3 ч. Последующее троекратное присоединение 4-(Fmoc-аминометил)бензойной кислоты (в случае MB4) или Fmoc-3-(2-нафтил)-L-аланина и транс-4-(Fmoc-аминометил)циклогексанкарбоновой кислоты (в случае MB17) соответственно выполняли пошагово с применением 2 ммоль Fmoc-защитенной кислоты, 1,96 ммоль HBTU и 2 ммоль N-этилдиизопропиламина в конечном объеме 4 мл ДМФ. После активации в течение 2 ч 3,95 эквивалентами HBTU и ДИПЭА проводили реакцию с 4 экв. трис(трет-бутил)-DOTA (Chematech) относительно нагрузки смолы в течение 3 ч в конечном объеме 3 мл ДМФ. Продукт отщепляли от смолы в 2 мл смеси, состоящей из трифторуксусной кислоты, триизопропилсилана и воды (95:2,5:2,5). Очистку проводили с применением ОФ-ВЭЖХ, и очищенный продукт анализировали посредством аналитической ОФ-ВЭЖХ и МАЛДИ-МС.

При получении MB-17D, представляющего собой стереоизомер MB17(L), синтез проводили на основе Fmoc-3-(2-нафтил)-D-аланина. Если не указано иное, в настоящем описании MB17 означает L-стереоизомер.

Пример 4. Сочетание с различными хелатирующими агентами



Хелатирующие агенты (DOTA, NOTA, NODAGA, ДТРА, СНХ-ДТРА, РСТА, Do3A) соединяли с линкером MB17 путем твердофазного синтеза. В целом, проводили набухание 13 мкмоль смолы, к которой был присоединен связывающий ПСМА мотив, в ДХМ в шприце с фильтром. После пятикратного промывания смолы ДМФ ее инкубировали 2× в течение 5 мин с 20% пиперидина в ДМФ для снятия защиты с N-конца. Затем промывание ДМФ повторяли 5-кратно.

От 1,5 до 4 экв. хелатирующего агента (в зависимости от хелатирующего агента), 0,98×*n* хелатирующий агент НАТУ (при необходимости) и 10 экв. ДИПЭА растворяли в 500 мкл ДМФ, раствор набирали в шприц, содержащий смолу, и инкубировали в течение ночи. Затем смолу 5-кратно промывали ДМФ, метанолом, ДХМ и диэтиловым эфиром и высушивали в вакууме.

Для проверки состояния реакции проводили тестовое разделение. Его осуществляли путем вымывания небольшого количества смолы с помощью ДХМ в наконечник с фильтром и добавления 100 мкл разделяющего раствора, содержащего 95% ТФК, 2,5% воды и 2,5% триизопропилсилана (ТИПС). Через 30 мин инкубирования раствор пипетировали в ледяной диэтиловый эфир и центрифугировали. Диэтиловый эфир декантировали, а оставшийся осадок растворяли в 35 мкл АЦН:Н₂О (1:1) и анализировали

посредством ВЭЖХ (0-100% АЦН в воде в пределах 5 мин) и ЖХ/МС. В случае получения требуемого продукта полный пептид отделяли от смолы. Высушенную смолу инкубировали с 500 мкл разделяющего раствора (95% ТФК, 2,5% H₂O, 2,5% ТИПС) в течение 2 ч. Полученный раствор смешивали с ледяным диэтиловым эфиром и центрифугировали (4000 мин⁻¹, 5 мин). Супернатант утилизировали, добавляли новый диэтиловый эфир и резервуар интенсивно встряхивали для ресуспендирования остатка. Затем раствор центрифугировали (4000 мин⁻¹, 5 мин) и полученный супернатант утилизировали. Осадок высушивали в вакууме и наконец ресуспендировали в 1 мл АЦН:H₂O (1:1).

Очистку осуществляли посредством препаративной ВЭЖХ, пики анализировали с применением аналитической ВЭЖХ (0-100% АЦН в воде в пределах 5 мин) и ЖХ/МС; и соответствующие продукты элюаты объединяли и лиофилизировали.

Пример 5. Введение радиоактивной метки.

Введение метки ¹⁷⁷Lu.

¹⁷⁷Lu (приблизительно 100 МБк) смешивали с 200 мкл 0,4 М натрий-ацетатного буфера, содержащего Chelex (pH 5). 10 мкл 1 мМ раствора соединения в 10% ДМСО в воде, 2 мкл насыщенного раствора аскорбиновой кислоты и 40 мкл раствора, содержащего ¹⁷⁷Lu, смешивали и нагревали до 95°C в течение 10 мин. Мечение проверяли посредством радио-ВЭЖХ (0-100% АЦН в воде в пределах 5 мин, колонка Monolith).

Введение метки ⁶⁸Ga.

Для ПЭТ-сканирования СНХ-ДТРА метили ⁶⁸Ga. 1 мл ⁶⁸Ga извлекали из генератора ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga с применением 0,6 М HCl. Добавляли 298 мкл NaOAc-буфера и 1 мкл 10 мМ раствора СНХ-ДТРА в ДМСО и инкубировали в течение 5 мин. Затем продукт очищали с применением картриджа SOLA. Промывали 0,9%-ным раствором NaCl и использовали этанол для элюирования. Затем этанол выпаривали и оставшийся продукт растворяли в 100 мкл 0,9%-го раствора NaCl и 10 мкл фосфатного буфера.

Пример 6. Определение величины IC₅₀.

Фильтрующий планшет MultiScreen_{HTS}-DV инкубировали при комнатной температуре с 100 мкл ФСБ с 1% БСА на лунку в течение 30 мин. После удаления раствора ФСБ/БСА в каждую лунку вносили по 10⁵ клеток LNCaP в 50 мкл Opti-MEM. Разные концентрации соединений (обеспечивающие концентрации 0; 0,5; 1; 2,5; 5; 10; 25; 50; 100; 500; 1000 и 5000 нМ в каждой лунке) в 300 мкл Opti-MEM смешивали с 3 мкл 150 нМ раствора ¹²⁵I-меченого MIP-1466 в Opti-MEM. По 50 мкл полученного раствора добавляли в каждую лунку, раствор в каждой концентрации пипетировали в четырех повторностях. Таким образом, каждая лунка содержала радиоактивно меченый лиганд в концентрации 0,75 нМ и конкурирующий немеченый лиганд в указанной выше концентрации. Затем планшет инкубировали в течение 45 мин при комнатной температуре на шейкере. После инкубации клетки двукратно промывали 100 мкл ледяного ФСБ и однократно 200 мкл ледяного ФСБ. Наконец, фильтры собирали и оставшуюся радиоактивность измеряли с помощью счетчика гамма-излучения. Измерения для каждой трубки проводили в течение 5 мин.

Полученные с помощью счетчика гамма-излучения данные оценивали с применением Graphpad Prism для получения концентрации полумаксимального ингибирования (IC₅₀) радиоактивно меченого MIP-1095.

Конъюгат	IC ₅₀ [нМ]
MB17-DOTA	0,13 ± 0,08
MB17-NOTA	0,14 ± 0,08
MB17-DTPA	0,12 ± 0,05
MB17-CHX-DTPA	0,06 ± 0,04
MB17-PCTA	0,10 ± 0,06
MB17-DO3A	0,10 ± 0,05
MB17-NODAGA	0,09 ± 0,08

Пример 7. Визуализация методом микро-ПЭТ с применением СНХ-ДТРА-MB17.

Перед введением мыши раствор, содержащий очищенный соединенный с ⁶⁸Ga-CHX-ДТРА ингибитор ПСМА, стерилизовали фильтрацией. 100 мкл указанного раствора набирали в шприц и затем вводили в ксенотрансплантат LNCaP голым мышам BALB/c внутривенно через хвостовую вену. ПЭТ-сканирование проводили в течение 140 мин с использованием ПЭТ-системы Siemens Inveon (фиг. 14)

Пример 8. Определение аффинности методом конкурентного связывания.

Для сравнения групп новых соединений проводили анализ аффинности методом конкурентного связывания и анализировали специфическую интернализацию с применением экспрессирующей ПСМА линии клеток LNCaP. Для определения специфического поглощения клетками клетки блокировали 2-(фосфонометил)пентандиовой кислотой (PMPA). Эффективность ингибирования дополнительно исследовали с применением анализа на основе фермента N-ацетил-L-аспартил-L-глутаматпептидазы I (NAALAD азы).

Клеточная культура.

Для исследования связывания и экспериментов in vivo клетки LNCaP (метастатические клетки аденокарциномы предстательной железы человека, ATCC CRL-1740) культивировали на среде RPMI с до-

бавлением 10%-й фетальной телячьей сыворотки и Glutamax (РАА, Австрия). Во время культивирования клетки росли при 37°C в инкубаторе с увлажненным воздухом, доведенным до содержания 5% CO₂. Клетки собирали с применением трипсин-этилендиаминтетрауксусной кислоты (трипсин-EDTA; 0,25% трипсина, 0,02% EDTA, и первое, и второе от РАА, Австрия) и промывали ФСБ.

Клеточное связывание и интернализация.

Конкурентный анализ клеточного связывания и эксперименты для исследования интернализации выполняли согласно существующему описанию (Eder et al. 2012). Вкратце, соответствующие клетки (10⁵ на лунку) инкубировали с радиолигандом (⁶⁸Ga-меченым [Glu-мочевина-Lys(Ahx)]2-HBED-CC (Schafer et al., 2012) в присутствии аналита в 12 разных концентрациях (0-5000 нМ, 100 мкл/лунку). После инкубации выполняли отмывку с использованием многослойного вакуумного коллектора (Millipore, Биллерика, Массачусетс). Связанную клетками радиоактивность измеряли с применением счетчика гамма-излучения (Packard Cobra II, GMI, Миннесота, США). 50% ингибирующую концентрацию (IC₅₀) вычисляли путем аппроксимации данных с применением алгоритма нелинейной регрессии (программное обеспечение GraphPad). Эксперименты выполняли в трех повторностях.

Для определения специфического поглощения клетками и интернализации 10⁵ клеток высевали в покрытые поли-L-лизинем 24-луночные планшеты для клеточных культур за 24 ч до инкубации. После отмывки клетки инкубировали с 25 нМ меченных радиоактивной меткой соединений в течение 45 мин при 37°C и 4°C соответственно. Специфическое поглощение клетками определяли посредством конкурентного блокирования 2-(фосфонометил)пентандиовой кислотой (конечная концентрация 500 мкМ, РМРА, Аххога, Лоррах, Германия). Клеточное поглощение останавливали 4-кратным промыванием с помощью 1 мл ледяного ФСБ. Затем клетки дважды инкубировали с 0,5 мл глицина-HCl в ФСБ (50 мМ, pH 2,8) в течение 5 мин для удаления поверхностно-связанной фракции. Клетки промывали 1 мл ледяного ФСБ и лизировали с применением 0,3 н. NaOH (0,5 мл). Поверхностно-связанные и интернализированные фракции оценивали в счетчике гамма-излучения. Поглощение клетками рассчитывали как процент первоначально введенной радиоактивности, связанной с 10⁶ клеток [% ID/10⁶ клеток].

NAALAD азный анализ.

Рекомбинантный ПСМА человека (rhPSMA, R&D Systems, Висбаден, Германия) разбавляли аналитическим буфером (50 мМ HEPES, 0,1 М NaCl, pH 7,5) до концентрации 0,4 мкг/мл. Субстрат Ac-Asp-Glu (Sigma, Тауфкирхен, Германия, конечная концентрация 40 мкМ), смешивали с natGa-меченым аналитом в концентрациях в диапазоне от 0,05 до 1000 нМ в конечном объеме аналитического буфера, составляющем 125 мкл. Смеси объединяли с 125 мкл раствора rhPSMA (0,4 мкг/мл) и инкубировали в течение 1 ч при 37°C. Реакцию останавливали нагреванием при 95°C в течение 5 мин. Во все сосуды добавляли по 250 мкл 15 мМ раствора ортофталальдегида (Sigma, Тауфкирхен, Германия) и инкубировали в течение 10 мин при температуре окружающей среды. Наконец, 200 мкл реакционных растворов загружали в планшет F16 Black Maxisorp (Nunc, Лангензельбольд, Германия) и считывали при длине волны возбуждения и излучения 330 и 450 нм соответственно с применением ридера для микропланшетов (DTX-880, Beckman Coulter, Крефельд, Германия). Данные анализировали с применением регрессионного алгоритма общего связывания для одного сайта в GraphPad (GraphPad Software, Калифорния, США).

Биораспределение.

Самцам мышей BALB/c nu/nu возрастом 7-8 недель (Charles River Laboratories) подкожно инокулировали в правый ствол 5×10⁶ клеток LNCaP (в 50% матригеля; Becton Dickinson, Гейдельберг, Германия). Опухолям позволяли расти до достижения размера приблизительно 1 см³. Меченные радиоактивной меткой соединения вводили через хвостовую вену (приблизительно 1 МБк на мышшь; 0,06 нмоль). Через 1 ч после инъекции животных умерщвляли. Представляющие интерес органы препарировали, высушивали промакиванием и взвешивали. Радиоактивность измеряли с применением счетчика гамма-излучения и рассчитывали как % введенной дозы на г (ID/г).

Микро-ПЭТ.

Для исследования методом микро-ПЭТ 10-25 МБк меченных радиоактивной меткой соединений в объеме 0,15 мл (~ 0,5 нмоль) вводили через боковую хвостовую вену мышам, несущим ксенотрансплантаты опухолей LNCaP. Анестезированных животных (2% севофлуран, Abbott, Висбаден, Германия) помещали в положение пронации в ПЭТ-сканер Inveon для небольших животных (Siemens, Ноксвилл, Теннесси, США) для получения микро-ПЭТ-изображений в режиме динамического сканирования и 20-минутного статического сканирования; см. фиг. 1, 3, 5-13

Таблица А

Вещество	IC_{50} [нМ]	Интернализация [%IA/10 ⁶ клеток]
MB2	2,75 ± 0,82	8,78 ± 3,96 для Ga-68 5,22 ± 0,67 для Lu-177
MB3	10,51 ± 6,06	3,65 ± 1,32 для Lu-177
MB4	0,74 ± 0,50	14,18 ± 0,98 для Ga-68 14,25 ± 4,61 для Lu-177
MB10	8,67 ± 1,58	6,96 ± 3,90 для Lu-177
MB17	0,13 ± 0,08	17,02 ± 4,36 для Ga-68 17,51 ± 3,99 для Lu-177
MB17.D	12,41 ± 5,10	2,60 ± 0,14 для Lu-177
MB22	52,80	1,15 ± 0,19 для Lu-177

Вещество	IC_{50} [нМ]	Интернализация [%IA/10 ⁶ клеток]
MB24	3,33	7,26 ± 2,76 для Lu-177
MB31	91,80	0,53 ± 0,48 для Lu-177
MB33	59,33	1,96 ± 0,20 для Lu-177
MB35	26,18	0,97 ± 0,17 для Lu-177

Данный пример показывает, что на сродство к связыванию ингибиторов ПСМА могут влиять модификации линкера. Два циклических фрагмента и по меньшей мере один ароматический фрагмент в области линкера вещества, по-видимому, являются предпочтительными и обеспечивают высокую аффинность соединений MB4 и MB17. Указанные новые варианты демонстрируют низкое сродство в наномолярном диапазоне в отношении клеточной линии LNCap, и специфически интернализировались при 37°C с показателем до 48% ID/10⁶ клеток. Предыдущие исследования показали, что, помимо сродства к связыванию, крайне важны характеристики интернализации нацеленных на ПСМА зондов; и высокие показатели интернализации критически важны для высоких уровней поглощения и удержания опухолью *in vivo*. Соответственно MB17 представляет собой новый нацеленный на ПСМА зонд с оптимальными характеристиками, что было подтверждено также распределением в органах и ПЭТ-визуализацией у небольших животных. Наблюдается высокое ПСМА-специфическое поглощение MB17 опухолью (фиг. 2). Кроме того, динамическая ПЭТ-визуализация MB17 (фиг. 2) показывает раннее накопление в мочевом пузыре, а также максимальное поглощение почками (высшая точка на кривой зависимости активности от времени) уже через 15 мин после введения радиометки и, по существу, исчезает уже через 20 мин. В отношении терапевтического использования это обеспечивает явные клинические преимущества MB17 по сравнению с другими ПСМА-ингибиторами. На диаграммах ПЭТ (фиг. 1) MB17 демонстрирует быстрый фоновый клиренс, а также существенное уменьшение накопления в почках через 2 ч при дальнейшей аккумуляции и удержании в экспрессирующей ПСМА опухоли. Кроме того, распределение в органах с ¹⁷⁷Lu (фиг. 4) показало, что высокое первоначальное поглощение почками практически полностью исчезает (2,13±1,36% ID/г) через 24 ч, тогда как интенсивное поглощение опухолью продолжается и даже усиливается (10,58±4,50% ID/г). Другие органы, такие как печень (0,08±0,03% ID/г), легкие (0,11±0,13% ID/г) и селезенка (0,13±0,05% ID/г), демонстрировали очень низкое поглощение. Благоприятные фармакокинетические свойства обуславливали чрезвычайно высокие показатели отношения опухоли к фону (опухоль/кровь: 1058; опухоль/мышцы: 529) через 24 ч.

Табл. А ясно подтверждает, что химические модификации в области линкера указанной молекулы влияют на биологические свойства, например аффинность и эффективность интернализации. MB17 и MB4 демонстрируют наиболее перспективные связывающие свойства в отношении клеток.

Пример 9. Клинические данные относительно MB17.

ПЭТ/КТ-визуализацию выполняли с применением радиоактивного индикатора MB17, меченого Ga-68 (см. фиг. 16).

Генератор ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga, используемый для получения радиофармацевтического средства, приобретали у IDB-Holland BV (Барле-Нассау, Нидерланды). Одноразовые наборы кассет и химические вещества, включая предшественник GMP-совместимой чистоты, используемые для радиохимического синтеза, получали от "ABX advanced biochemical compounds" (Радеберг, Германия). Для определения радиохимической чистоты использовали систему ВЭЖХ Ultimate 3000 (Dionex) (ацетонитрил (А), вода+0,1% ТФК (В); градиент: 0,5 мин 95% В, 10,0 мин 80% А, скорость потока: 2 мл/мин), оснащенную колонкой Chromolith Performance RP-18e (100×4,6 мм, Merck) и радиодетектором NaI (Raytest). Остаточные растворители определяли с использованием газового хроматографа 6850 Series (Agilent Technologies). Тестирование на эндотоксин выполняли с помощью устройства Endosafe®-PTS (Charles River).

2 мкг MB17 растворяли в 1,5 М ацетатном буфере с pH 4,5 (1 мл) и 1 М аскорбиновой кислоте (10 мкл) и переносили в реакционный сосуд. Генератор $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ промывали 10 мл 0,6 М HCl, и элюат разводи́ли 9 мл ультрачистой воды. Затем смесь переносили в катионообменный картридж (Macherey-Nagel PS-H+, размер M) и элюировали 5 М раствором NaCl (1,2 мл) в предварительно нагретый реакционный сосуд (100°C). Реакционную смесь нагревали в течение 10 мин. Затем неочищенную реакционную смесь извлекали из реакционного сосуда и переносили в преко́ндициони́рованный (10 мл EtOH/10 мл ультрачистой воды) картридж C18 (Waters Sep-Pak Light). Для промывки реакционного сосуда использовали, проводя через картридж C18, 9 мл ультрачистой воды. Картридж C18 промывали еще 5 мл ультрачистой воды. Конечный продукт элюировали с картриджа C18 2 мл EtOH/H₂O (1:1 по объему), стерилизовали фильтрацией (Millipore Cathivex-GV, 0,22 мкм) и разводи́ли 10 мл забуференного фосфатом солевого раствора (ФСБ) с pH 7,4 (в соответствии с Европейской Фармакопеей 8.0 (4005000)). Раствор комплекса ^{68}Ga -MB17 вводили пациентам путем внутривенного болюсного вливания.

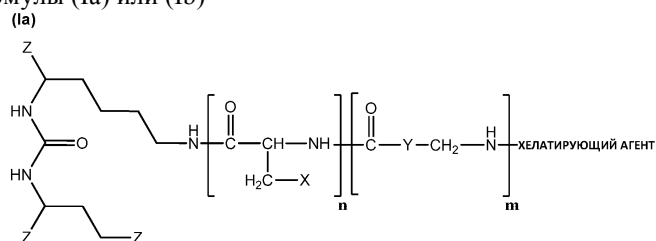
Пример 10. Терапия ^{177}Lu -меченым MB17 у человека.

Для проведения терапии лиганд PCMA MB17 метили радиоактивным Lu-177. $^{177}\text{LuCl}_3$ получали от Perkin Elmer (4 ГБк, NEZ307D, 0,04 М HCl). 80 нмоль MB17 растворяли в 400 мкл натрий-ацетатного буфера (0,4 М, pH5) с добавлением 5 мкл 20%-й аскорбиновой кислоты. Раствор переносили в $^{177}\text{LuCl}_3$ и инкубировали в течение 10 мин при 95°C. Наконец, добавляли 2 мл 0,9% NaCl. Для контроля качества проводили мгновенную тонкослойную хроматографию (ITLC) и радио-ВЭЖХ.

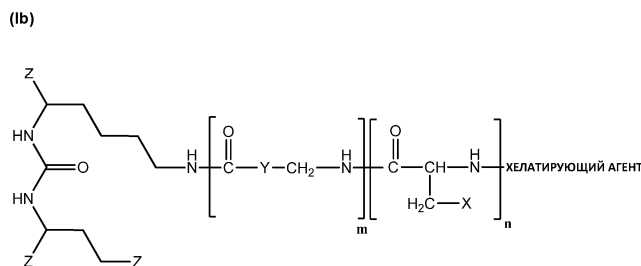
Меченый ^{177}Lu MB17 вводили пациентам путем внутривенного болюсного вливания (5 мл, в медленном темпе в пределах 30 с). Внутривенное введение сопровождалось инфузией 0,9% NaCl в течение 4,5 ч, начиная за 0,5 ч до введения. См. фиг. 17.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (Ia) или (Ib)



или



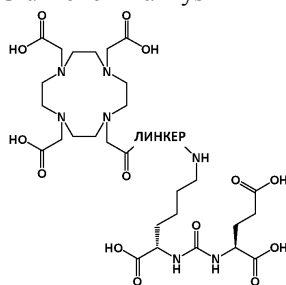
где

n:	0,1
m:	1,2,3,4
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 (=2,3-бензопирролил), бензотиазолил
Y:	C ₆₋₁₄ арил, C ₁₋₁₀ алкилC ₆₋₁₄ арил, цикlopентил, циклогексил, циклогептил

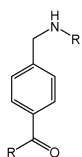
Радикал хелатирующего агента:	1,4,7,10-тетраазациклодекан-N,N',N'',N'''-тетрауксусная кислота (= DOTA), N,N''-бис[2-гидрокси-5-(карбоксиэтил)бензил]этилендиамин-N,N''-диуксусная кислота (= HBED-CC), 1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триуксусная кислота (= NOTA), 2-(4,7-бис(карбоксиметил)-1,4,7-триазонан-1-ил)пентандиовая кислота (NODAGA), 2-(4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклодекан-1-ил)пентандиовая кислота (DOTAGA), 1,4,7-триазациклононанфосфиновая кислота (TRAP), 1,4,7-триазациклононан-1-[метил(2-карбоксиэтил)фосфиновая кислота]-4,7-бис[метил(2-гидроксиметил)фосфиновая кислота] (NOPO), 3,6,9,15-тетраазабицикло[9.3.1]пентадека-1(15),11,13-триен-3,6,9-триуксусная кислота (= PCTA), N'-{5-[Ацетил(гидрокси)амино]пентил}-N-[(4-[(5-аминопентил)(гидрокси)амино]-4-оксобутаноил)амино]пентил]-N-гидроксисукцинамид (DFO), Диэтилентриаминпентауксусная кислота (DTPA), Транс-циклогексил-диэтилентриаминпентауксусная кислота (CHX-DTPA), 1-окса-4,7,10-триазациклодекан-4,7,10-триуксусная кислота (оксо-Do3A),
	п-изотиоцианатобензил-DTPA (SCN-Bz-DTPA), 1-(п-изотиоцианатобензил)-3-метил-DTPA (1B3M), 2-(п-изотиоцианатобензил)-4-метил-DTPA (1M3B), или 1-(2)-метил-4-изоцианатобензил-DTPA (MX-DTPA),

или его фармацевтически приемлемая соль.

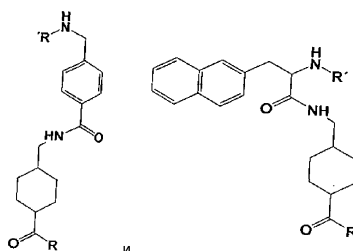
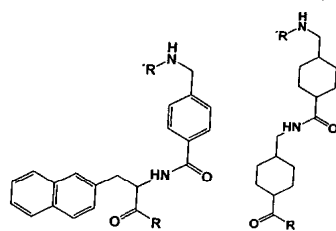
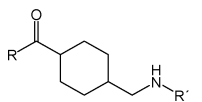
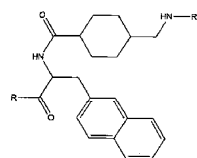
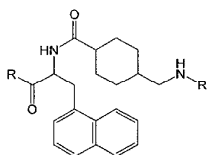
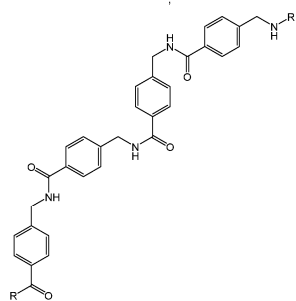
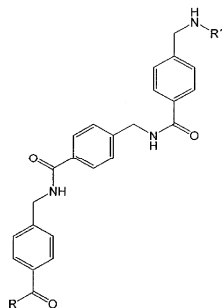
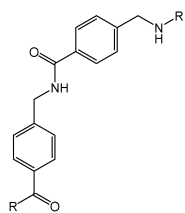
2. Соединение по п.1, имеющее представленную ниже формулу и имеющее структуру R'-ЛИНКЕР-R, где R' - радикал DOTA и R - радикал Glu-мочевина-Lys



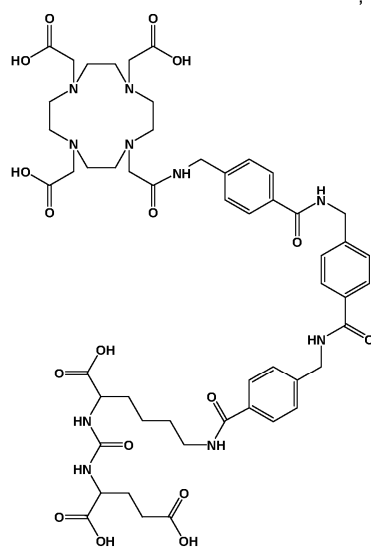
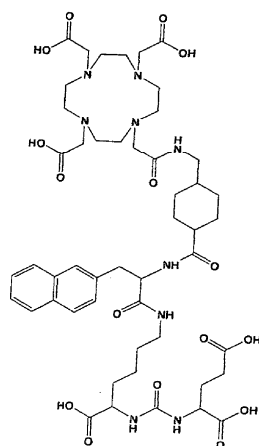
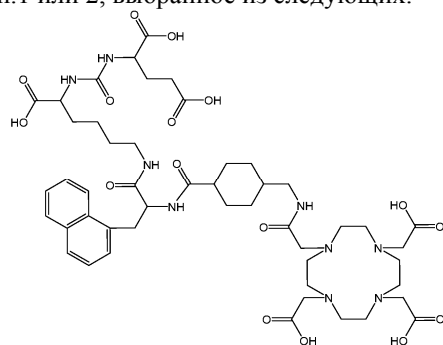
где R'-ЛИНКЕР-R выбран из



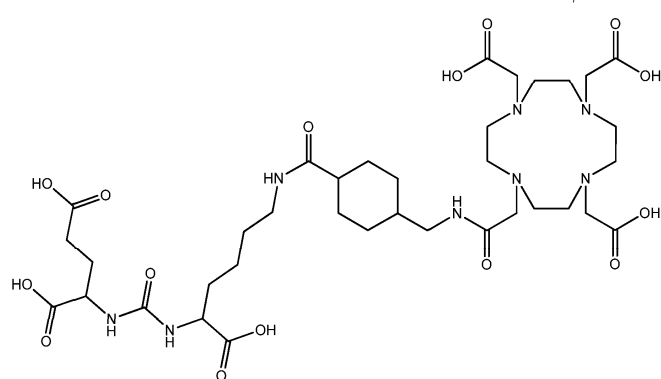
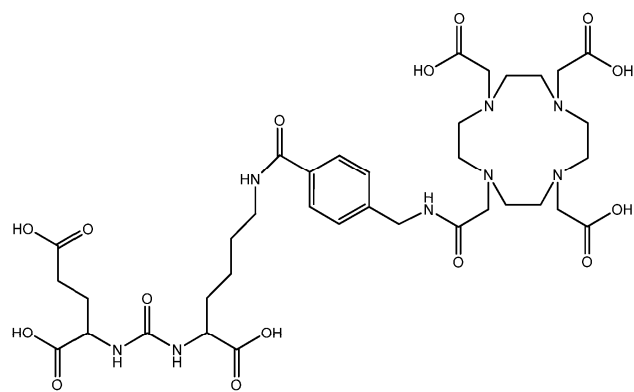
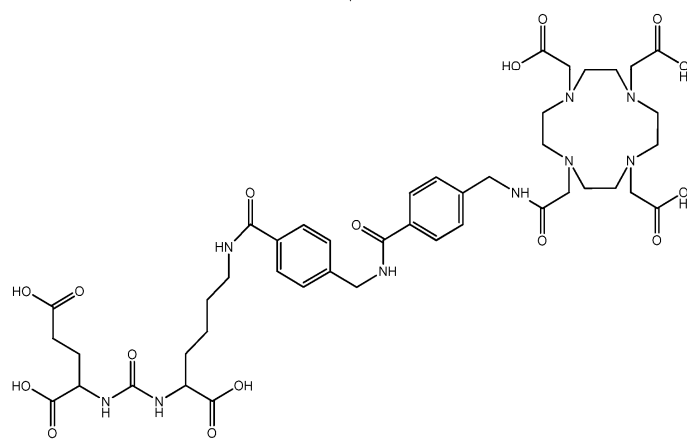
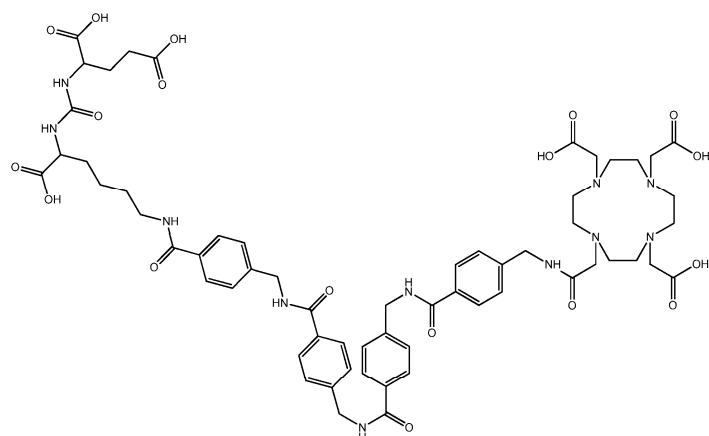
037778

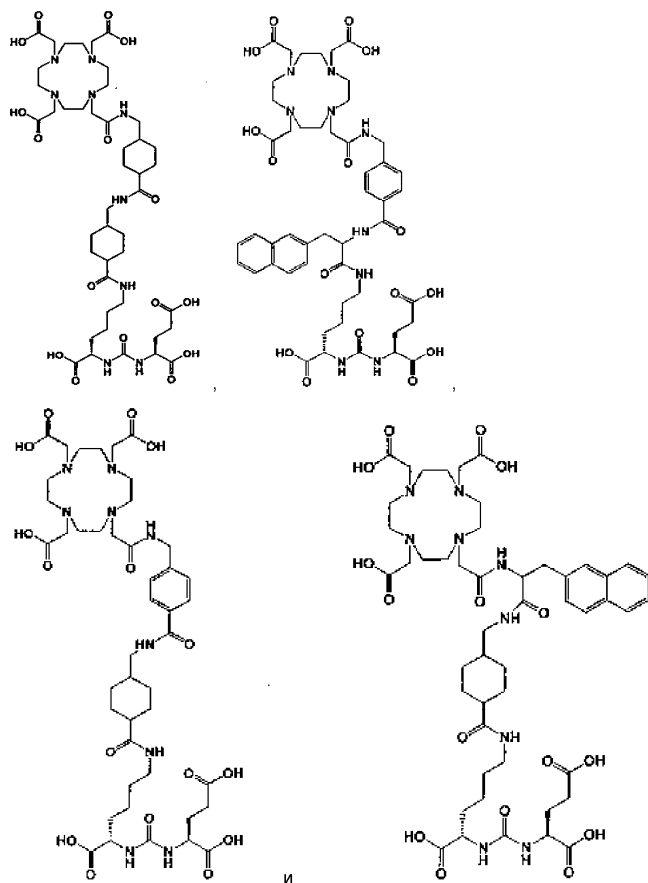


3. Соединение по п.1 или 2, выбранное из следующих:

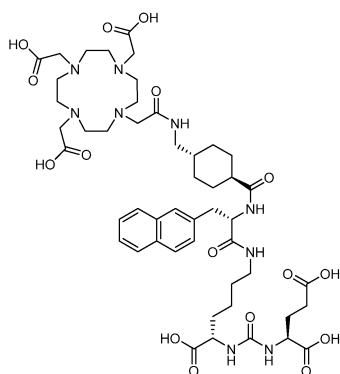


037778



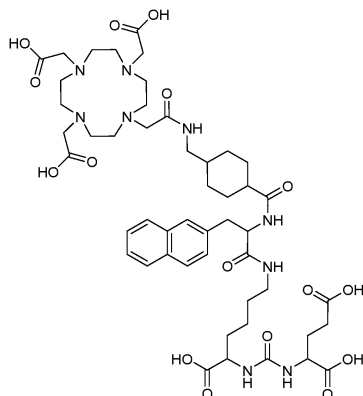


4. Соединение формулы



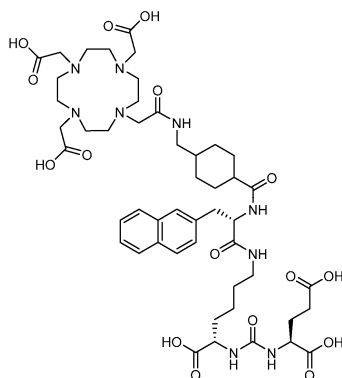
или его фармацевтически приемлемая соль.

5. Соединение формулы



или его фармацевтически приемлемая соль.

6. Соединение по п.5, имеющее формулу

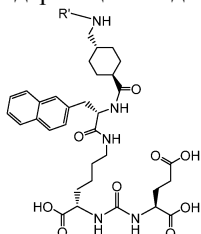


или его фармацевтически приемлемая соль.

7. Применение соединения по любому из предшествующих пунктов для получения соединения, содержащего радиоактивную метку.

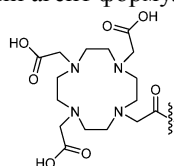
8. Комплексное соединение металла, содержащее радионуклид и соединение по любому из пп.1-6, причем указанный радионуклид представляет собой ^{89}Zr , ^{44}Sc , ^{111}In , ^{90}Y , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{177}Lu , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{161}Tb , ^{153}Gd , ^{155}Gd , ^{157}Gd , ^{213}Bi , ^{230}U , ^{223}Ra , ^{165}Er или ^{225}Ac .

9. Комплексное соединение металла, содержащее соединение формулы



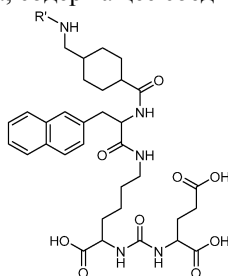
или его фармацевтически приемлемую соль,

где R' представляет собой хелатирующий агент формулы

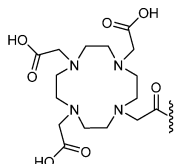


где радионуклид, выбранный из ^{89}Zr , ^{44}Sc , ^{111}In , ^{90}Y , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{177}Lu , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{161}Tb , ^{153}Gd , ^{155}Gd , ^{157}Gd , ^{213}Bi , ^{225}Ac , ^{230}U , ^{223}Ra или ^{165}Er , образует комплекс с хелатирующим агентом.

10. Комплексное соединение металла, содержащее соединение формулы

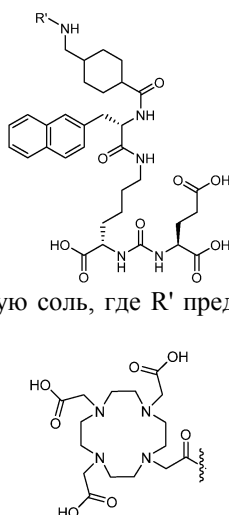


или его фармацевтически приемлемую соль, где R' представляет собой хелатирующий агент формулы

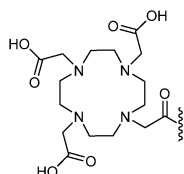


где радионуклид, выбранный из ^{89}Zr , ^{44}Sc , ^{111}In , ^{90}Y , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{177}Lu , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{161}Tb , ^{153}Gd , ^{155}Gd , ^{157}Gd , ^{213}Bi , ^{225}Ac , ^{230}U , ^{223}Ra или ^{165}Er , образует комплекс с хелатирующим агентом.

11. Комплексное соединение металла по п.10, в котором соединение имеет следующую формулу:



или его фармацевтически приемлемую соль, где R' представляет собой хелатирующий агент формулы



где радионуклид, выбранный из ^{89}Zr , ^{44}Sc , ^{111}In , ^{90}Y , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{177}Lu , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{161}Tb , ^{153}Gd , ^{155}Gd , ^{157}Gd , ^{213}Bi , ^{225}Ac , ^{230}U , ^{223}Ra или ^{165}Er , образует комплекс с хелатирующим агентом.

12. Комплексное соединение металла по любому из пп.8-11, отличающееся тем, что радионуклид выбран из ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{68}Ga или ^{225}Ac .

13. Комплексное соединение металла по п.12, отличающееся тем, что радионуклид представляет собой ^{90}Y .

14. Комплексное соединение металла по п.12, отличающееся тем, что радионуклид представляет собой ^{177}Lu .

15. Комплексное соединение металла по п.12, отличающееся тем, что радионуклид представляет собой ^{68}Ga .

16. Комплексное соединение металла по п.12, отличающееся тем, что радионуклид представляет собой ^{225}Ac .

17. Комплексное соединение металла по п.12, отличающееся тем, что радионуклид выбран из ^{64}Cu или ^{67}Cu .

18. Фармацевтическая композиция для лечения различных болезненных состояний при раке предстательной железы, содержащая соединение по любому из пп.1-6 или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения и фармацевтически приемлемый носитель.

19. Фармацевтическая композиция по п.18, дополнительно содержащая вспомогательное вещество, и при этом вспомогательное вещество отличается от указанного фармацевтически приемлемого носителя.

20. Фармацевтическая композиция по п.18 или 19, которая представляет собой забуференный раствор.

21. Фармацевтическая композиция по п.18 или 19, в которой указанное соединение и/или его фармацевтически приемлемая соль и необязательно фармацевтически приемлемый носитель лиофилизированы.

22. Фармацевтическая композиция для лечения различных болезненных состояний при раке предстательной железы, содержащая соединение или его фармацевтически приемлемую соль по п.4 и фармацевтически приемлемый носитель, причем указанное соединение или его соль и фармацевтически приемлемый носитель лиофилизированы.

23. Фармацевтическая композиция по п.22, дополнительно содержащая по меньшей мере одно вспомогательное вещество, отличное от указанного фармацевтически приемлемого носителя.

24. Фармацевтическая композиция для лечения различных болезненных состояний при раке предстательной железы, содержащая соединение или его фармацевтически приемлемую соль по п.4 и фармацевтически приемлемый носитель, при этом композиция представляет собой забуференный раствор.

25. Фармацевтическая композиция для лечения рака предстательной железы и/или его метастазов, содержащая комплексное соединение металла по любому из пп.8-11 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

26. Фармацевтическая композиция для клинической визуализации у пациента рака предстательной железы и/или его метастазов, содержащая комплексное соединение металла по любому из пп.8-11 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

27. Фармацевтическая композиция для диагностирования рака предстательной железы и/или его метастазов, содержащая комплексное соединение металла по любому из пп.8-11 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

28. Фармацевтическая композиция для лечения различных болезненных состояний при раке предстательной железы, содержащая:

- (1) комплексное соединение металла по любому из пп.8-11 и
- (2) фармацевтически приемлемый носитель.

29. Фармацевтическая композиция по п.28, дополнительно содержащая вспомогательное вещество, причем указанное вспомогательное вещество отличается от указанного фармацевтически приемлемого носителя.

30. Фармацевтическая композиция по п.28 или 29, отличающаяся тем, что радионуклид в комплексном соединении металла выбран из ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{68}Ga или ^{225}Ac .

31. Фармацевтическая композиция по любому из пп.28-30, отличающаяся тем, что радионуклид в комплексном соединении металла представляет собой ^{90}Y .

32. Фармацевтическая композиция по любому из пп.28-30, отличающаяся тем, что радионуклид в комплексном соединении металла представляет собой ^{177}Lu .

33. Фармацевтическая композиция по любому из пп.28-30, отличающаяся тем, что радионуклид в комплексном соединении металла представляет собой ^{68}Ga .

34. Фармацевтическая композиция по любому из пп.28-30, отличающаяся тем, что радионуклид в комплексном соединении металла представляет собой ^{225}Ac .

35. Фармацевтическая композиция по любому из пп.28-30, отличающаяся тем, что радионуклид в комплексном соединении металла выбран из ^{64}Cu или ^{67}Cu .

36. Фармацевтическая композиция по любому из пп.28-30, отличающаяся тем, что композиция представляет собой забуференный раствор.

37. Фармацевтическая композиция по любому из пп.28-35, в которой указанное комплексное соединение металла и необязательно фармацевтически приемлемый носитель лиофилизированы.

38. Применение комплексного соединения металла по любому из пп.8-11 для клинической визуализации у пациента рака предстательной железы и/или его метастазов.

39. Применение комплексного соединения металла по любому из пп.8-11 для диагностирования у пациента рака предстательной железы и/или его метастазов.

40. Применение комплексного соединения металла по любому из пп.8-11 для лечения у пациента рака предстательной железы и/или его метастазов.

41. Применение фармацевтической композиции, содержащей:

- (1) комплексное соединение металла по любому из пп.8-11 и
 - (2) фармацевтически приемлемый носитель,
- для клинической визуализации у пациента рака предстательной железы и/или его метастазов.

42. Применение фармацевтической композиции, содержащей:

- (1) комплексное соединение металла по любому из пп.8-11 и
 - (2) фармацевтически приемлемый носитель,
- для диагностирования у пациента рака предстательной железы и/или его метастазов.

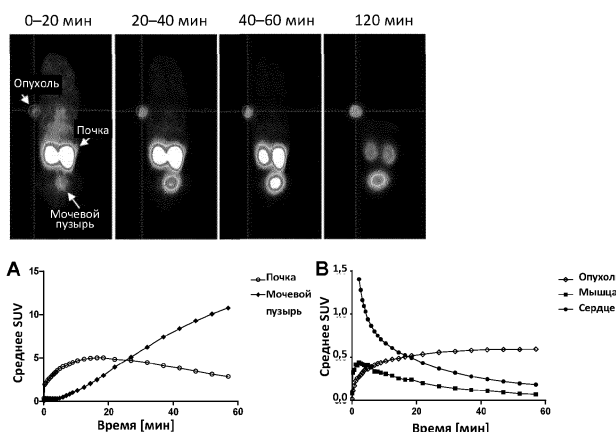
43. Применение фармацевтической композиции, содержащей:

- (1) комплексное соединение металла по любому из пп.8-11 и
 - (2) фармацевтически приемлемый носитель,
- для лечения у пациента рака предстательной железы и/или его метастазов.

MB17

ПЭТ-визуализация

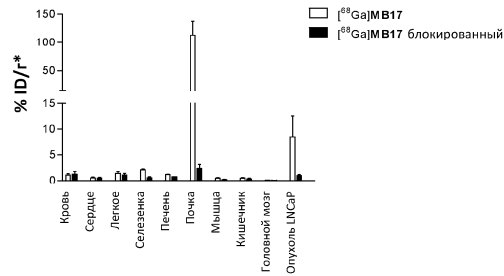
Кривые зависимости активности от времени



Фиг. 1

Распределение в органах через 1 час после инъекции

	MB17			MB17 блокированный		
	%ID/g*	SD	n	%ID/g*	SD	n
Кровь	1,08	0,25	3	1,24	0,92	3
Сердце	0,53	0,15	3	0,49	0,27	3
Легкое	1,41	0,41	3	1,10	0,53	3
Селезенка	2,13	0,16	3	0,53	0,36	3
Печень	1,17	0,10	3	0,73	0,07	3
Почка	113,34	24,45	3	2,38	1,40	3
Мышца	0,50	0,07	3	0,24	0,09	3
Кишечник	0,46	0,13	3	0,35	0,23	3
Головной мозг	0,12	0,01	3	0,07	0,01	3
Опухоль LNCaP	8,47	4,09	3	0,98	0,32	3



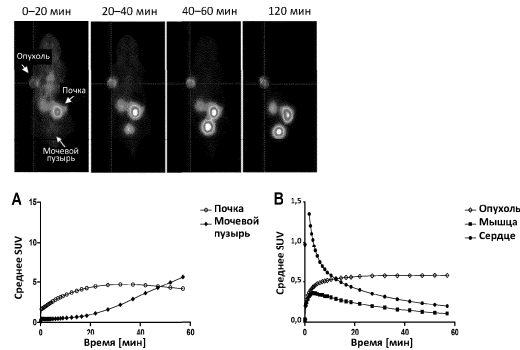
*где ID/g – введенная доза на г

Фиг. 2

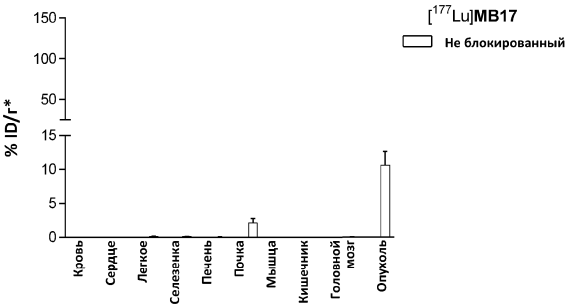
MB04

ПЭТ-визуализация

Кривые зависимости активности от времени



Фиг. 3



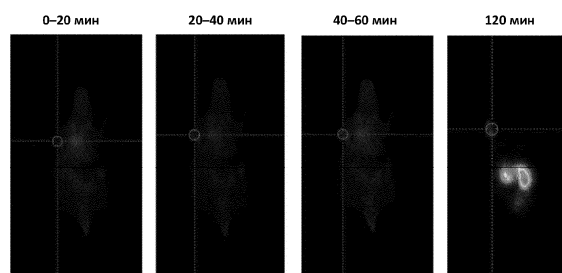
24 ч	%ID/g*	SD	n
Кровь	0,01	0,00	5
Сердце	0,02	0,01	5
Легкое	0,11	0,13	5
Селезенка	0,13	0,05	5
Печень	0,08	0,03	5
Почка	2,13	1,36	5
Мышца	0,02	0,01	5
Кишечник	0,02	0,01	5
Головной мозг	0,05	0,03	5
Опухоль LNCaP	10,58	4,50	5

*где ID/g – введенная доза на г

Фиг. 4

МВ-02

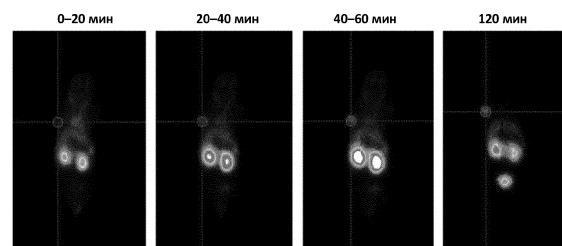
ПЭТ-визуализация



Фиг. 5

МВ-03

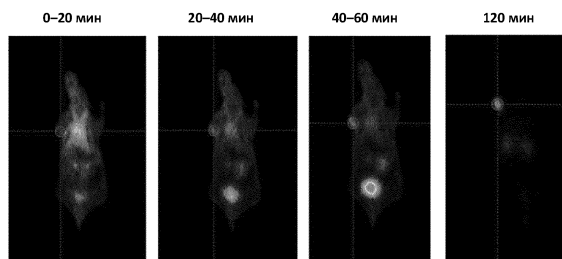
ПЭТ-визуализация



Фиг. 6

МВ-10

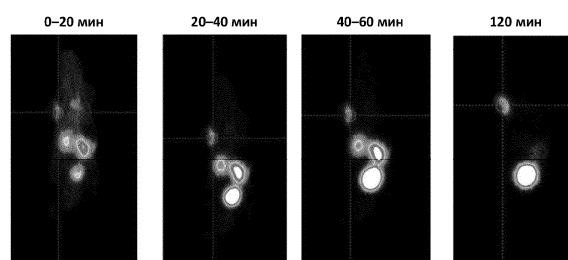
ПЭТ-визуализация



Фиг. 7

МВ-17.D

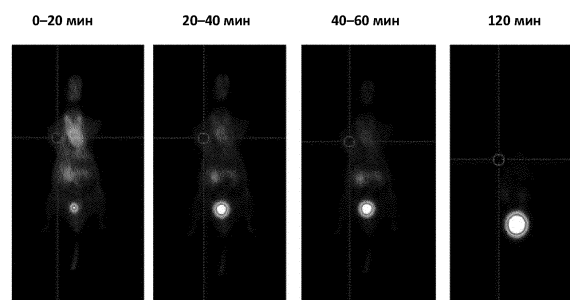
ПЭТ-визуализация



Фиг. 8

МВ-22

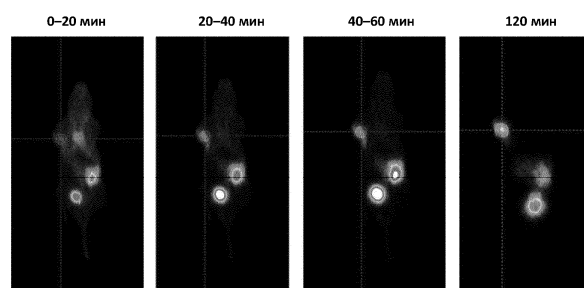
ПЭТ-визуализация



Фиг. 9

МВ-24

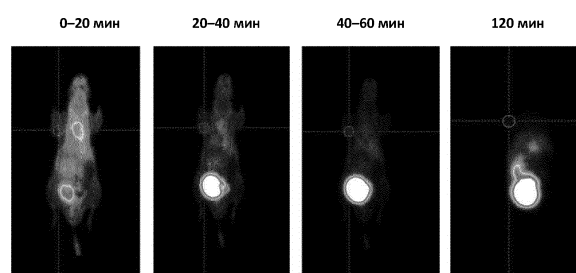
ПЭТ-визуализация



Фиг. 10

МВ-31

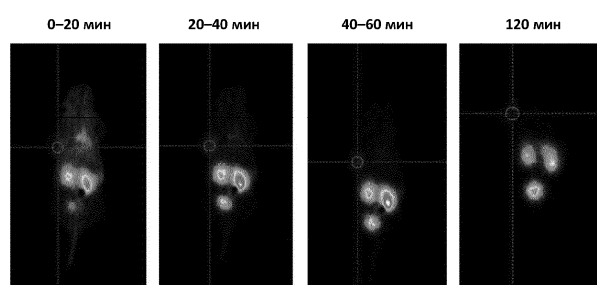
ПЭТ-визуализация



Фиг. 11

МВ-33

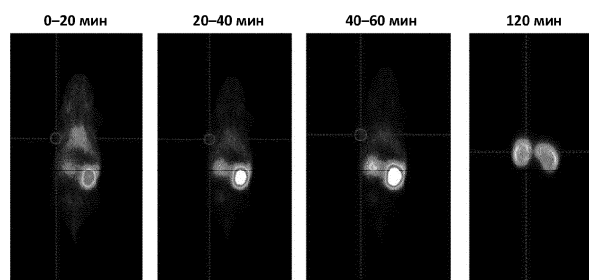
ПЭТ-визуализация



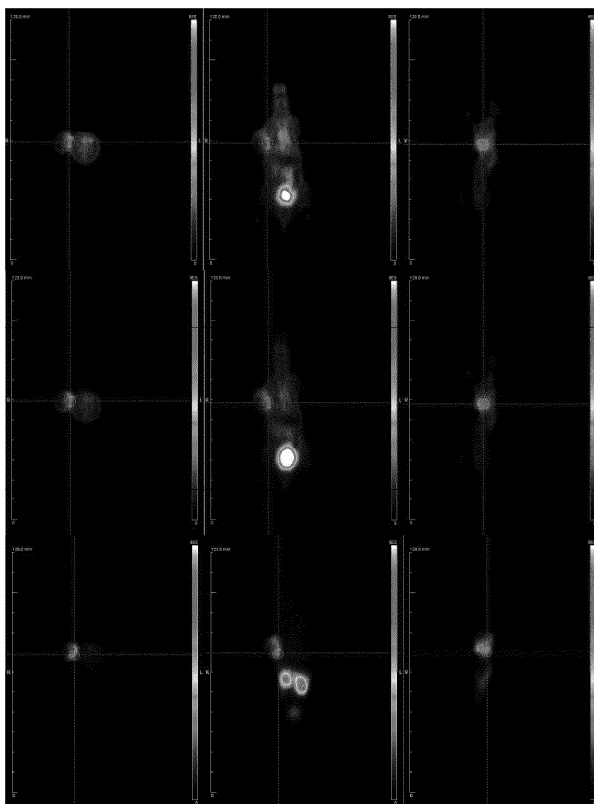
Фиг. 12

МВ-35

ПЭТ-визуализация



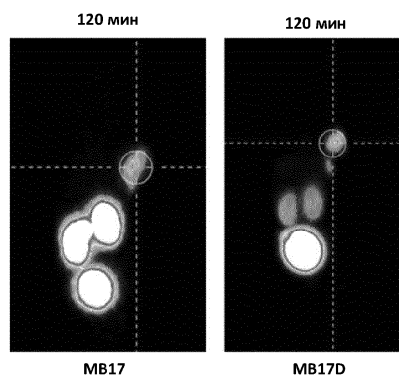
Фиг. 13



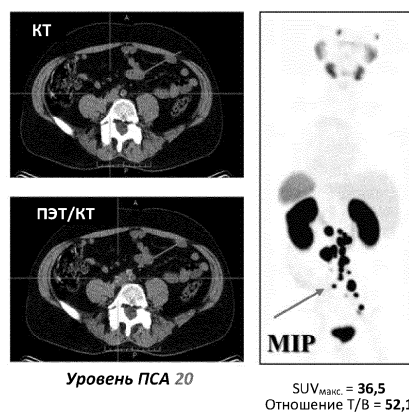
Фиг. 14

МВ-17 и МВ-17.D

ПЭТ-визуализация через 2 часа после инъекции, сравнение сканирования всего тела



Фиг. 15

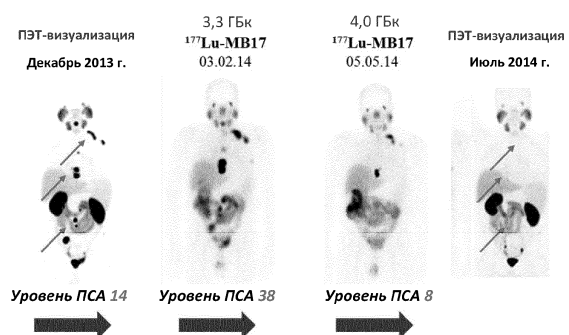


Фиг. 16а

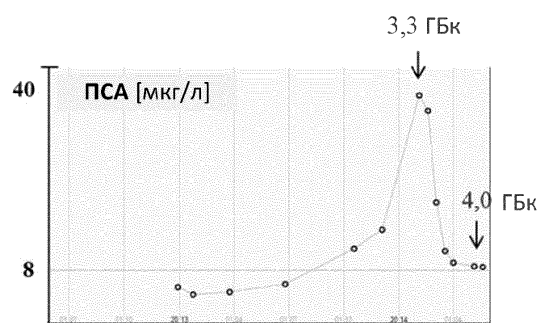


Уровень ПСА 0,7

Фиг. 16b



Фиг. 17а



Фиг. 17b



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2