

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040919**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.08.17

(21) Номер заявки
202092176

(22) Дата подачи заявки
2019.03.07

(51) Int. Cl. **C07F 13/00** (2006.01)
A61K 51/04 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **¹⁷⁷Lu-DOTA-HYNIC-iPSMA В КАЧЕСТВЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА, НАЦЕЛЕННОГО НА ПРОСТАТИЧЕСКИЙ СПЕЦИФИЧЕСКИЙ МЕМБРАННЫЙ АНТИГЕН**

(31) **MX/a/2018/003175**

(32) **2018.03.14**

(33) **MX**

(43) **2021.02.24**

(86) **PCT/MX2019/000025**

(87) **WO 2019/177449 2019.09.19**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

**ИНСТИТУТО НАЦИОНАЛЬ ДЕ
ИНВЕСТИГАСЬОНЕС НУКЛЕАРЕС
(MX)**

(72) Изобретатель:

**Ферро Флорес Гуйллермина, Окампо
Гарсиа Бьянка Эли, Луна Гутierrez
Мирна Александра, Сантос Кузвас
Клара Летиция, Азорин Вега Эрика
Патриция, Хименез Мансилла**

**Наллели Патриция, Эрнандез
Хименез Тая, Рамирез Де Ла Круз
Флор дэ Мария (MX)**

(74) Представитель:

**Гизатуллин Ш.Ф., Угрюмов В.М.,
Строкова О.В. (RU)**

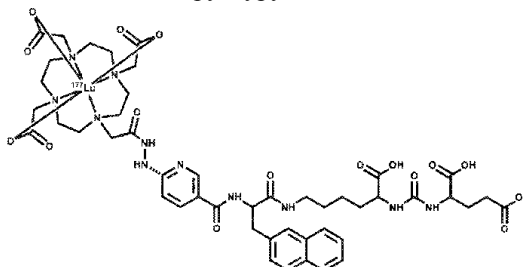
(56) **WO-A1-2017222362**

XIAOPING X.U. et al.: "Tc-99m-labeling and evaluation of a HYNIC modified small-molecular inhibitor of prostate-specific membrane antigen", *Nuclear Medicine and Biology*, 2017, vol. 48, p. 69-75, the whole document

FERRO-FLORES G. et al.: "Clinical translation of a PSMA inhibitor for Tc-99m-based SPECT", *Nuclear Medicine and Biology*, 2017, vol. 48, p. 36-44

WO-A2-2016043793

(57) Настоящее изобретение относится к новому терапевтическому радиофармацевтическому средству на основе лютеция-177 в качестве ингибитора простатического специфического мембранного антигена (iPSMA), в котором 1,4,7,10-тетраазациклододекано-N,N',N'',N'''-тетрауксусная кислота (DOTA), связанная с гетероциклической молекулой гидразиноникотинамида (HYNIC), образует жесткую химическую структуру, которая минимизирует число конформеров и внутримолекулярных водородных связей, таким образом приводя к пространственной ориентации активного сайта (Lys(Nal)-NH-CO-NH-Glu) в молекуле, благоприятной для биологического распознавания белком PSMA, имеющей структуру



Новое радиофармацевтическое средство ¹⁷⁷Lu-DOTA-HYNIC-iPSMA аккумулируется с высокой аффинностью in vivo в опухолях, сверхэкспрессирующих белок PSMA, действуя как радиотерапевтическое средство. Задача настоящего изобретения состоит в обеспечении нового радиофармацевтического средства (радиофармацевтического средства, нацеленного на молекулярную мишень) для лечения опухолей со сверхэкспрессией PSMA.

B1**040919****040919 B1**

Область техники, к которой относится настоящее изобретение

Настоящее изобретение относится к новому терапевтическому радиофармацевтическому средству на основе лютеция-177 в качестве ингибитора простатического специфического мембранного антигена (iPSMA), в котором 1,4,7,10-тетраазаацетилдодекан-*N,N',N'',N'''*-тетрауксусная кислота (DOTA), связанная с молекулой гидразиноникотинамида (HYNIC), который является гетероциклическим по своей природе, образует жесткую химическую структуру, которая минимизирует число конформеров и внутримолекулярных водородных связей, таким образом приводя к пространственной ориентации активного сайта (Lys(Nal)-NH-CO-NH-Glu) в молекуле, которая способствует биологическому распознаванию белком PSMA. Новое радиофармацевтическое средство ¹⁷⁷Lu-DOTA-HYNIC-iPSMA аккумулируется в опухолях, сверхэкспрессирующих белок PSMA, с высокой аффинностью *in vivo*, таким образом действуя как радиотерапевтическое средство.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

Рак предстательной железы (PC) является вторым наиболее распространенным раком среди мужчин во всем мире [Jemal A. et al., Cancer statistics, 2010; Cancer C.A., J. Clin., 2010, 60: 277-300]. У пациентов с локализованным PC пятилетняя выживаемость близка к 100%, тогда как у пациентов с метастазами пятилетняя выживаемость составляет 31% [Wei Q. et al., Global analysis of differentially expressed genes in androgen-independent prostate cancer, Prostate Cancer Prostatic Dis., 2007, 10: 167-174]. Почти все пациенты с метастазами вначале хорошо реагируют на антиандрогенные терапии. Однако основной причиной смерти пациентов с PC является развитие андрогенной независимости.

Фермент глутаматкарбоксипептидаза II, также известный как простатический специфический мембранный антиген (PSMA), экспрессируется в эпителиальных клетках предстательной железы и сильно сверхэкспрессируется в 95% случаев запущенного рака предстательной железы. Уровни экспрессии PSMA напрямую коррелируют с андрогенной независимостью, метастазированием и прогрессированием PC [Santoni M. et al., Targeting prostate-specific membrane antigen for personalized therapies in prostate cancer: morphologic and molecular backgrounds and future promises, J. Biol. Regul. Homeost. Agents., 2014, 28: 555-563]. Таким образом, PSMA является подходящей молекулярной мишенью для обнаружения на основе анализа изображений и лучевой терапии метастатического рака предстательной железы с использованием специфических радиофармацевтических средств. Ген PSMA состоит из 19 экзонов, представляющих примерно 60 тысяч пар нуклеотидов геномной ДНК. Этот ген кодирует трансмембранный белок типа II с коротким цитоплазматическим фрагментом (19 аминокислот), гидрофобным трансмембранным доменом (24 аминокислоты) и большим внеклеточным доменом (707 аминокислот). PSMA содержит Zn в активном центре фермента, поэтому последовательность Glu-NH-CO-NH-Lys(β -нафтилаланин)=Glu-NH-CO-NH-Lys(Nal) была предложена в качестве эффективного ингибитора его активности [Beneshovd M. et al., Preclinical evaluation of a tailor-made DOTA-conjugated PSMA inhibitor with optimized linker moiety for imaging and endoradiotherapy of prostate cancer, J. Nucl. Med., 56, 2015: 914-920]. При специфическом химическом взаимодействии три карбоксильные группы фрагмента Glu-NH-CO-NH-Lys электростатически взаимодействуют с пептидными боковыми цепями в активном сайте PSMA, кислород мочевины координируется с цинком, а ароматическая структура в Nal взаимодействует, обеспечивая связывание с активным гидрофобным сайтом фермента. Недавние клинические исследования показали, что применение двух различных производных ингибитора PSMA, меченых Lu-177, а именно ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 и ¹⁷⁷Lu-PSMA-I&T, приводит к значительному снижению уровней простатического антигена (PSA) у 50-70% пациентов с PC без серьезных побочных эффектов, что значительно увеличивает выживаемость пациентов [Ahmadzadehfard H. et al., Early side effects and first results of radioligand therapy with ¹⁷⁷Lu-DKFZ-617 PSMA of castrate-resistant metastatic prostate cancer: a two-centre study, EJNMMI Res., 2015, 5: 36; Kratochwil C. et al., [¹⁷⁷Lu]Lutetium-labelled PSMA ligand-induced remission in a patient with metastatic prostate cancer, Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging, 42, 2015: 987-988; Weineisen M. et al., ⁶⁸Ga- and ¹⁷⁷Lu-Labeled PSMA I&T: Optimization of a PSMA-Targeted Theranostic Concept and First Proof-of-Concept Human Studies, J. Nucl. Med., 2015, 56: 1169-1176; Baum R.P. et al., Lutetium-177 PSMA radioligand therapy of metastatic castration-resistant prostate cancer: safety and efficacy, J. Nucl. Med., 2016, 57: 1006-1013; Kratochwil C. et al., PSMA-targeted radionuclide therapy of metastatic castration-resistant prostate cancer with Lu-177 labeled PSMA-617, J. Nucl. Med., 2016, 57: 1170-1176; Rahbar K. et al., Response to and tolerability of a single dose of ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer: a multicenter retrospective analysis, J. Nucl. Med., 2016, 57: 1334-1338; Rahbar K. et al., German Multicenter Study Investigating ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 Radioligand Therapy in Advanced Prostate Cancer Patients, J. Nucl. Med., 2017, 58: 85-90]. Белок PSMA является многофункциональным, так как он может действовать как рецептор интернализации, фермент всасывания питательных веществ или как пептидаза, которая играет роль в сигнальной трансдукции в эпителиальных клетках и в миграции клеток [Rajasekaran A. et al., Is prostate-specific membrane antigen a multifunctional protein?, American Journal of Physiology - Cell Physiology, 2005, 288: C975-C981]. Таким образом, радиофармацевтические средства, ингибирующие PSMA, также могут использоваться при других новообразованиях, отличных от PC, например, среди прочего, при метастатическом раке молочной железы, остеосаркоме, глиоме и дифференцированном раке щитовидной железы [la Fougere et al., In vivo visualization of prostate-specific membrane antigen in glioblastoma, Eur. J. Nucl.

Med. and Mol. Imaging, 2015, 42: 170-171; Verburg F.A. et al., First evidence of PSMA expression in differentiated thyroid cancer using [⁶⁸Ga] PSMA-HBED-CC PET/CT, Eur. J. Nucl. Med. and Mol. Imaging, 2015, 42: 1622-1623; Zeng C. et al., Prostate-specific membrane antigen: a new potential prognostic marker of osteosarcoma, Medical Oncology, 2012, 29: 2234-2239; Sathekge M. et al., ⁶⁸Ga-PSMA imaging of metastatic breast cancer, Eur. J. Nucl. Med. and Mol. Imaging, 2015, 42:1482-1483].

Однако перед любым лечением лучевой терапией необходимо оценить поглощение радиофармацевтического средства в опухолях или их метастазах с помощью радионуклидной визуализации, чтобы подтвердить, будет ли лечение полезным для пациента или нет, и определить активность, которая должна быть введена для обеспечения аблативной дозы радиации в опухолях, другими словами, применяется персонализированная и тераностическая медицина. С этой целью диагностические радиофармацевтические средства, ингибирующие PSMA, необходимо использовать для получения молекулярных изображений с помощью позитронно-эмиссионной томографии (PET) или однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (SPECT), при этом ⁶⁸Ga-PSMA-11 (PET) является наиболее широко используемым в этом отношении в клинической практике благодаря высокой чувствительности и специфичности [Eder M. et al., Novel preclinical and radiopharmaceutical aspects of [⁶⁸Ga] Ga-PSMA-HBED-CC: a new PET tracer for imaging of prostate cancer, Pharmaceuticals, 2014, 7: 779-796; Eder M. et al., ⁶⁸Ga-complex lipophilicity and the targeting property of a urea-based PSMA inhibitor for PET imaging, Bioconjugate Chem, 2012, 23: 688-697; Weineisen et al., ⁶⁸Ga- and ¹⁷⁷Lu-labeled PSMA I&T: optimization of a PSMA-targeted theranostic concept and first proof-of-concept human studies, J. Nucl. Med., 2015, 56: 1169-1176; Afshar-Oromieh A. et al., Comparison of PET/CT and PET/MRI hybrid systems using ⁶⁸Ga-labeled PSMA ligand for the diagnosis of recurrent prostate cancer: initial experience, Eur. J. Nucl. Med. and Molecular Imaging, 41,5 (2014), 887-897].

Однако как на национальном, так и на международном уровнях исследования SPECT составляют более 70% всех исследований, проводимых в ядерной медицине, благодаря их более низкой стоимости и большей доступности оборудования и радионуклидов, поскольку нет необходимости в циклотроне в больницах или поблизости от них. Наиболее широко используемым радионуклидом для визуализации SPECT является ^{99m}Tc, а недавно ^{99m}Tc EDDA/HYNIC-iPSMA был представлен как радиофармацевтическое средство, ингибирующее простатический специфический мембранный антиген (iPSMA), содержащее гидразиноникотинамид (HYNIC) в качестве основной химической группы для повышения липофильности молекулы для связывания с гидрофобными сайтами в PSMA, в комбинации с обычным использованием HYNIC в качестве хелатирующего агента для радиометалла ^{99m}Tc, причем этилендиаминуксусная кислота (EDDA) используется для завершения координационной сферы радиометалла. Радиофармацевтическое средство ^{99m}Tc-EDDA/HYNIC/iPSMA обнаруживает белок PSMA, сверхэкспрессируемый в раковых клетках предстательной железы с высокой аффинностью *in vivo*, с использованием методов молекулярной визуализации SPECT в ядерной медицине [Ferro-Flores G. et al., Clinical translation of a PSMA inhibitor for ^{99m}Tc-based SPECT, Nucl. Med. Bioc, 2017, 48: 36-44; Santos-Cuevas et al., ^{99m}Tc-EDDA/HYNIC-iPSMA: Biokinetics and Radiation Dosimetry in Healthy Subjects and Tumor Imaging in Patients with Prostate Cancer, Nucl. Med. Biol., 2017, 52: 1-6; Lawal I.O. et al., Diagnostic sensitivity of Tc-99m HYNIC PSMA SPECT/CT in prostate carcinoma: A comparative analysis with Ga-68 PSMA PET/CT, The Prostate, 2017, 1-8; Ferro-Flores G. et al., ^{99m}Tc-EDDA/HYNIC-iPSMA as a radiopharmaceutical for detecting the overexpression of prostate-specific membrane antigen, WO 2017222362, PCT/MX2017/000068].

Для того чтобы разработать тераностическую пару для лиганда HYNIC-iPSMA, которая может быть помечена Lu-177, в настоящем документе предложено связать молекулу DOTA с HYNIC, таким образом образуя жесткую химическую структуру, которая минимизирует число конформеров и внутримолекулярных водородных связей, таким образом приводя к пространственной ориентации активного сайта (Lys(Nal)-NH-CO-NH-Glu) в молекуле, которая способствует биологическому распознаванию белком PSMA.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

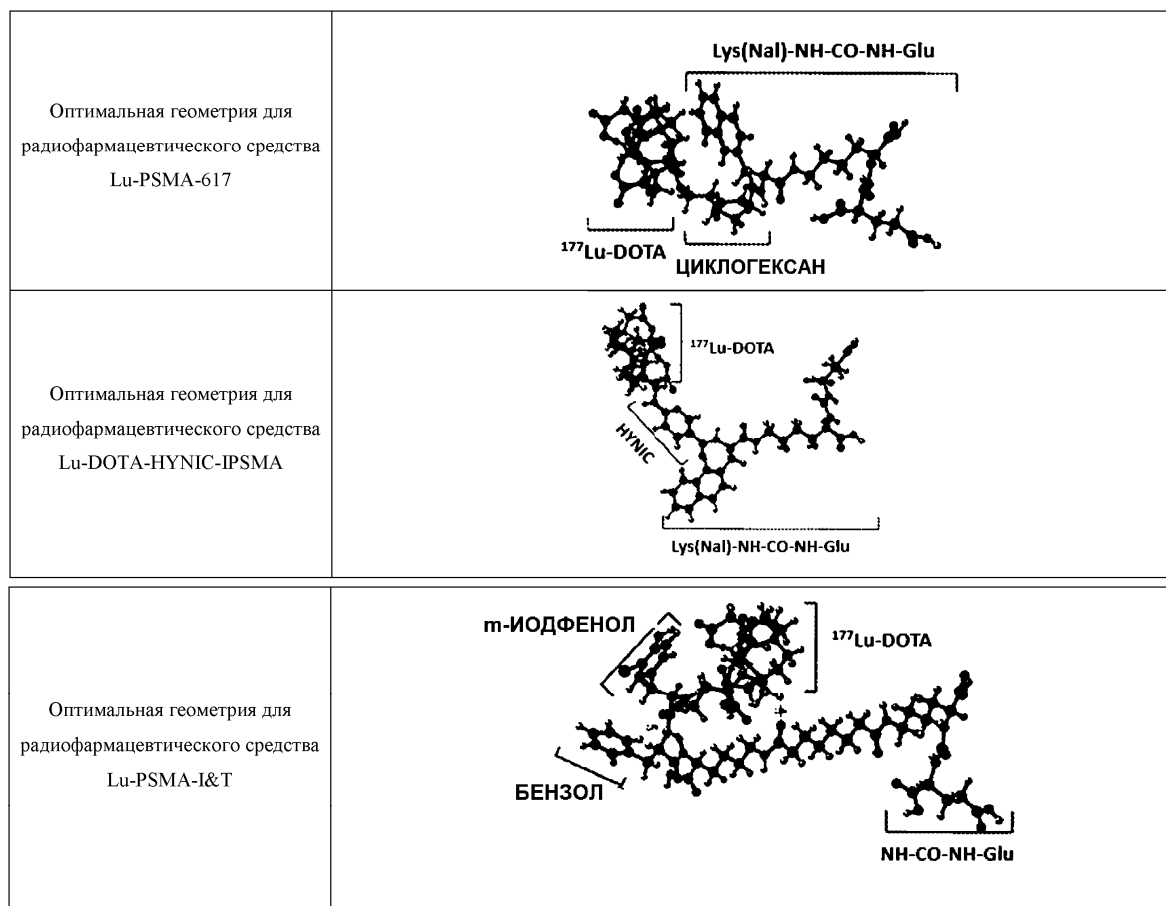
Настоящее изобретение относится к новому радиофармацевтическому средству на основе лютеция-177, которое может ингибировать простатический специфический мембранный антиген (iPSMA) и которое содержит 1,4,7,10-тетраазациклододекано-N,N',N'',N'''-тетрауксусную кислоту (DOTA), связанную с молекулой гидразиноникотинамида (HYNIC), которая является гетероциклической по своей природе, таким образом образуя жесткую химическую структуру, которая минимизирует число конформеров и внутримолекулярных водородных связей, таким образом приводя к пространственной ориентации активного сайта (Lys(Nal)-NH-CO-NH-Glu) в молекуле, которая способствует биологическому распознаванию белком PSMA. Новое радиофармацевтическое средство ¹⁷⁷Lu-DOTA-HYNIC-iPSMA аккумулируется в опухолях, сверхэкспрессирующих белок PSMA, с высокой аффинностью *in vivo*, таким образом действуя в качестве радиотерапевтического средства. Структура радиофармацевтического средства согласно настоящему изобретению (¹⁷⁷Lu-DOTA-HYNIC-iPSMA) показана на фиг. 1.

Общеизвестно, что благодаря своей гетероциклической природе пиридин имеет дипольный момент и более низкую резонансную энергию чем у бензола (117 кДж·мол⁻¹ для пиридина по сравнению 150 кДж·мол⁻¹ для бензола), а также более короткую связь C-N (137 пм) по сравнению со значением 139 пм

для связи С-С в бензоле и циклогексане [Elschenbroich С., Organometallicchemie, 6th ed., 2008, ISBN 3-8351-0167-6]. Производное ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA было разработано и синтезировано для получения плохо реакционноспособной и жесткой химической структуры в области HYNIC, которая минимизирует число конформеров и внутримолекулярных водородных связей по сравнению к производными ^{177}Lu -PSMA-617 и ^{177}Lu -PSMA-I&T. В таблице ниже представлены сравнительные результаты молекулярных свойств и оптимальной структурной геометрии различных ингибиторов PSMA. Лиганды PSMA-617, DOTA-HYNIC-iPSMA и PSMA-I&T были сконструированы с учетом валентности, типа связывания, заряда и гибридизации. Конформер с минимальной энергией (полученный с использованием расширенного ММ3) и конформер с самой низкой энергией (методика CONFLEX) согласно оптимальной геометрии их структур были получены с использованием программного обеспечения CAChe Work System Pro. Оптимальные геометрические структуры были подтверждены с применением квантовомеханических методов с помощью уравнения Шредингера с MOPAC (молекулярная орбиталь), посредством которого вычисляют теплоту образования в воде (COSMO). Комплексы лютеция были сконструированы из указанных структур, и результаты расширенного ММ3 (молекулярная механика), методики CONFLEX и наиболее стабильная и оптимальная геометрическая структура представлены для радиотерапевтических средств Lu-PSMA-617, Lu DOTA-HYNIC-iPSMA и Lu-PSMA-I&T. На основании данных, представленных в таблице, видно, что молекула Lu DOTA-HYNIC-iPSMA является более стабильной чем Lu-PSMA-617 согласно энергии наиболее стабильного конформера (более низкая энергия) и меньшему общему числу конформеров и Lu-DOTA-HYNIC-iPSMA образует меньше водородных связей, чем Lu-PSMA-617 и Lu-PSMA-I&T. Следует отметить, что водородные связи играют ключевую роль в пространственной конформации

Молекулярные свойства трех лигандов, ингибирующих белок PSMA, с данными по поглощению опухолью и радиотерапевтическому эффекту, продемонстрированными в клинических исследованиях, при координировании с Lu-177

Вычисление (ккал/мол)	PSMA-617	Lu-PSMA-617	DOTA-HYNIC-IP SMA	Lu-DOTA-HYNIC-IP SMA	PSMA-I&T	Lu-PSMA-I&T
Минимальная энергия (ММ3)	87,795	-49,038	106,412	-76,360	105,652	-81,031
Электростатический заряд	-20,447	-197,887	-10,061	-206,795	-22,131	-210,822
Водородная связь	25,317	27,070	22,253	19,984	27,304	35,499
Ван-дер-Ваальс	45,671	58,033	50,036	71,704	50,840	127,435
Прочность (растяжение)	6,994	10,184	7,398	26,970	9,471	50,100
Угол	16,360	36,203	20,704	84,579	20,504	143,558
Прочность при изгибе	0,937	1,196	1,117	4,282	1,180	8,849
Дигедральный	14,232	32,247	15,863	42,282	20,508	83,716
Неправильное скручивание	0,173	0,375	0,264	0,290	0,207	1,064
Прочность при скручивании	-1,288	-1,925	-1,159	-3,269	-1,803	-6,234
Связывание связи	-0,154	0,841	-0,003	3,044	-0,426	8,513
CONFLEX						
Энергия наиболее стабильного конформера	74,127	-48,229	78,386	-76,241	39,006	-275,044
Число сохраненных конформеров	1131	46	438	24	498	9
MOPAC/PM5 (теплота образования)	-715,945		-623,942		-1033,201	
MOPAC/PM5/COSMO (теплота образования в воде)	-788,083		-698,534		-1136,015	



Lu-PSMA-I&T показывает самое низкое число конформеров с самой низкой минимальной энергией, а гидрофобные кольца молекулы нарушают свою конформацию при ориентации, в основном из-за указанных слабых водородных взаимодействий с кольцом $^{177}\text{Lu-DOTA}$ (взаимодействия бензол-[м-иодфенол]- $^{177}\text{Lu-DOTA}$). Таким образом, оптимальная структурная геометрия различных радиофармацевтических средств, представленных в таблице, указывает на подходящую пространственную конформацию для Lu-DOTA-HYNIC-IP SMA, которая приводит к пространственной ориентации (без значительных внутримолекулярных взаимодействий) для активного сайта (Lys(Nal)-NH-CO-NH-Glu) молекулы, способствующей биологическому распознаванию белком PSMA. Другими словами, три карбоксильные группы фрагмента Glu-NH-CO-NH-Lys остаются свободными для электростатического взаимодействия с пептидными боковыми цепями в активном сайте PSMA, кислород мочевины координируется с цинком и ароматическая структура в Nal связывается с активным гидрофобным сайтом в ферменте.

Более того, в структуре радиофармацевтического средства согласно настоящему изобретению HYNIC не используется в качестве молекулы для хелатирования радиометалла, тогда как в других радиофармацевтических средствах HYNIC используется только как бифункциональный агент для введения метки $^{99\text{m}}\text{Tc}$ [Decristoforo C. et al., $^{99\text{m}}\text{Tc-EDDA/HYNIC-TOC}$: a new $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled radiopharmaceutical for imaging somatostatin receptor-positive tumours; first clinical results and intra-patient comparison with ^{111}In -labelled octreotide derivatives, 2000, J. Nucl. Med., 27, 1318-25; Ferro-Flores G. et al., Preparation and Evaluation of $^{99\text{m}}\text{Tc-EDDA/HYNIC-[Lys}^3\text{]-Bombesin}$ for Imaging of GRP Receptor-Positive Tumours, Nucl. Med. Comm., 2006, 27: 371-376; Gonzalez-Vazquez A. et al., Dosimetry and Biokinetics of $^{99\text{m}}\text{Tc-EDDA/HYNIC-Tyr}^3\text{-Octreotide}$ Prepared from Lyophilized Kits, Appl. Rad. Isot., 2006, 64: 792-79; Ortiz-Arzate Z. et al., Kit preparation and biokinetics in women of $^{99\text{m}}\text{Tc-EDDA/HYNIC-E-[c(RGDfK)]}_2$ for breast cancer imaging, Nucl. Med. Common., 2014, 35: 423-32; Medina-Garcia V. et al., A Freeze-Dried Kit Formulation for the Preparation of Lys 27 ($^{99\text{m}}\text{Tc-EDDA/HYNIC}$)-Exendin(9-39)/ $^{99\text{m}}\text{Tc-EDDA/HYNIC-Tyr}^3\text{-Octreotide}$ to Detect Benign and Malignant Insulinomas, Nucl. Med. Biol., 2015, 42: 911-916].

Способ получения радиофармацевтического средства согласно настоящему изобретению.

Вначале применяли и-трет-бутиловый сложный эфир глутаминовой кислоты для синтеза молекулы, причем указанный сложный эфир реагирует с карбонилдиимидазолом (CDI) в присутствии триэтиламина (TEA) с образованием производного ацилимидазола, которое активировали метилтрифлатом (MeOTf) для реакции с (S)-трет-бутил-2-амино-6-(бензилоксикарбониламино)гексаноатом (Cbz-Lys-Ot-Bu) с последующим удалением защитной группы Cbz посредством гидрогенолиза с получением таким образом производного Glu-Urea-Lys, который вводили в реакцию с аминокислотой Fmoc- β -нафтилаланин (HBTU/HOBt) в твердой фазе (смола MBHA), а затем с 6-Вос-гидразинопиридин-3-карбоновой кислотой

(Вос-HYNIC) в присутствии диизопропилэтиленамина (DIPEA) и диметилформаида (DMF) с последующим добавлением TFA. Эту последнюю стадию добавления повторяли для введения DOTA-трис (трет-бутиловый сложный эфир). Наконец, удаляли защитную группу соединения с помощью TFA, очищали с помощью ВЭЖХ и лиофилизировали. Конечным продуктом был Glu-NH-CO-NH-Lys(β -нафтилин)-HYNIC-DOТА (DOТА-HYMC-iPSMA), который показал ожидаемый масс-спектр, показанный на фиг. 2. Анализ лиофилизированного твердого вещества посредством обращенно-фазовой ВЭЖХ показал химическую чистоту 98,8% для соединения.

DOТА-HYMC-iPSMA (0,6 мг) получали в виде лиофилизированной фармацевтической формы, содержащей 50 мг маннита и 100 мг аскорбиновой кислоты. После восстановления в 1,1 мл 1 М буферного раствора ацетата натрия с pH 5,0, содержащего стерильный и апирогенный раствор хлорида лютеция-177 ($^{177}\text{LuCl}_3$), и инкубации на сухой бане при 95°C в течение 30 мин, указанный состав обеспечил прозрачный водный раствор соединения согласно настоящему изобретению ^{177}Lu -DOТА-HYMC-iPSMA (фиг. 1) с радиохимической чистотой более 98%, как определено посредством обращенно-фазовой ВЭЖХ, которая показала радиохроматограмму, приведенную на фиг. 3.

Радиофармацевтическое средство остается стабильным с радиохимической чистотой более 98% в течение более 7 дней после введения метки. *In vitro* исследования стабильности в сыворотке человека показали связывание белка в сыворотке на уровне $6,5 \pm 1,8\%$ и высокую радиохимическую стабильность (>98%). Аффинность ^{177}Lu -DOТА-HYMC-iPSMA, как определено на основании исследований по насыщению в раковых клетках, положительных в отношении белка PSMA (LNCaP), показала K_d , равную $6,33 \pm 2,69$ нМ, и максимальное число сайтов связывания (B_{max}), равное $5,89 \pm 0,47$ нМ.

Соединение не проявляло токсичности или побочных эффектов при введении в дозе 40 мг/кг лабораторным мышам balb-C. Анализы биораспределения ^{177}Lu -DOТА-HYMC-iPSMA на бестимусных мышках с опухолями, индуцированными LNCaP, показали поглощение в указанных опухолях, равное $9,74 \pm 1,13\%$ активности, введенной на грамм ткани (% ID/г), главным образом путем выведения почками.

Для определения биокинетики и дозиметрии радиофармацевтического средства были получены изображения всего тела пяти здоровых субъектов на момент времени 20 мин и 6, 24, 48 и 120 ч после введения ^{177}Lu -DOТА-HYMC-iPSMA (185 МБк). Последовательность изображений использовали для экстраполяции кривых зависимости активности от времени в каждом органе для корректировки биокинетической модели и вычисления общего числа распадов (N), которые произошли в излучающих областях. Значения N применяли в коде OLINDA/EXM для вычисления доз внутреннего облучения. Изображения у здоровых добровольцев показали быстрое выведение с периодом полураспада 1,1 ч для быстрой компоненты ($T_{1/2\alpha} = \ln 2 / 0,614$), 9,2 ч для первой медленной компоненты ($T_{1/2\beta} = \ln 2 / 0,075$) и 79,6 ч для второй медленной компоненты ($T_{1/2\gamma} = \ln 2 / 0,008$). Поглощение и выведение в основном происходят через почки, с меньшим поглощением печенью и высоким поглощением паращитовидной, слюнной и слезной железами. Средние поглощенные дозы составляли 0,23, 0,28, 0,88 и 1,17 мГр/МБк для селезенки, печени, почек и слюнных желез соответственно.

Для того чтобы оценить радиотерапевтический потенциал одиннадцати пациентам (средний возраст 66 лет; диапазон 45-86) каждые 8-10 недель вводили от одного до четырех циклов ^{177}Lu -DOТА-HYMC-iPSMA (3,7 или 7,4 ГБк). Ответ оценивали, применяя изображения с ^{68}Ga -PSMA-11 PET/CT (радиофармацевтическое средство с доказанной аффинностью в клинической практике и методе высокого разрешения для специфического обнаружения поражений метастатическим раком предстательной железы) и определяя простатический специфический антиген (PSA) в сыворотке до и после лечения. У приблизительно 60% пациентов наблюдалось снижение уровня PSA и у приблизительно 70% пациентов наблюдалось уменьшение числа и размера метастатических поражений и/или интенсивности поглощения радиофармацевтического средства метастазами и первичной опухолью, как было определено с помощью получения изображений.

На фиг. 4 показано изображение SPECT для радиофармацевтического средства ^{177}Lu -DOТА-HYMC-iPSMA, полученное для здорового добровольца в различные моменты времени. На фиг. 5 приведено изображение PET и SPECT для того же пациента с запущенным метастатическим раком предстательной железы, который получал как ^{68}Ga -PSMA-11 (PET, 1 ч), так и ^{177}Lu -DOТА-HYMC-iPSMA (SPECT, 24 ч), показывающее, что оба радиофармацевтических средства обнаруживают опухоли и метастазы рака предстательной железы, связанного со сверхэкспрессией белка PSMA, таким образом подтверждая способность радиофармацевтического средства ^{177}Lu -DOТА-HYMC-iPSMA обнаруживать белок PSMA, сверхэкспрессирующийся в раковых клетках предстательной железы *in vivo*. Наконец, на фиг. 6 показаны изображения для пациента с метастатическим раком предстательной железы после третьего цикла лечения посредством ^{177}Lu -DOТА-HYMC-iPSMA. Исследование ^{68}Ga -PSMA-11 (PET) на основе изображений показывает, что размер и число сайтов метастатического поражения раком предстательной железы (обозначено стрелкой) уменьшаются после каждого введения ^{177}Lu -DOТА-HYMC-iPSMA до полного исключения. Указанное изображение подтверждает и является основным доказательством радиотерапевтического потенциала ^{177}Lu -DOТА-HYMC-iPSMA для лечения опухолевых поражений, сверхэкспрессирующих белок PSMA.

В заключение необходимо отметить, что полученный ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA обладает следующими свойствами:

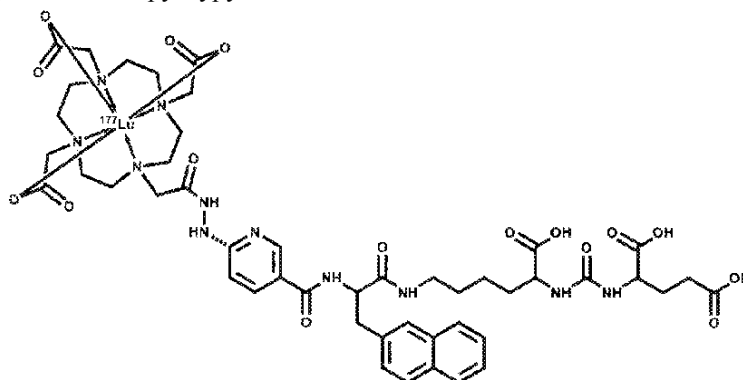
радиохимическая чистота более 98%;

способность радиофармацевтического средства обнаруживать опухоли, сверхэкспрессирующие простатический специфический мембранный антиген, *in vivo*, связанная с благоприятной пространственной ориентацией активного сайта (Lys(Nal)-NH-CO-NH-Glu) молекулы, индуцируемой посредством присутствия HYNIC, связанного с молекулой DOTA;

в результате молекулярного распознавания, связанного с благоприятной пространственной ориентацией активного сайта (Lys(Nal)-NH-CO-NH-Glu) молекулы, индуцируемой посредством присутствия HYNIC, связанного с молекулой DOTA и меченного лютецием-177, радиофармацевтическое средство ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA проявляет радиотерапевтические свойства, как показано посредством значительного снижения уровней PSA в сыворотке и уменьшения числа и размера метастатических поражений, наблюдаемых у пациентов с раком предстательной железы, получавших ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA.

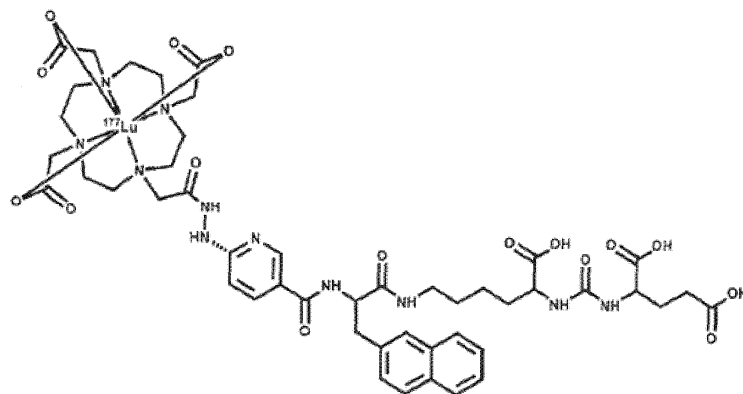
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее структуру

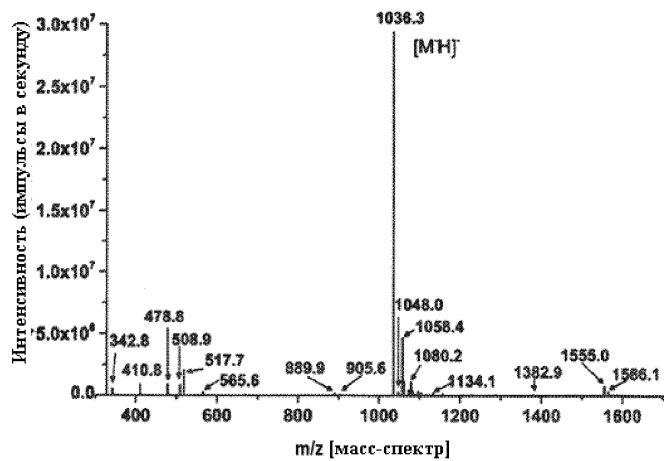


2. Радиофармацевтическая композиция, отличающаяся тем, что содержит соединение по п.1.

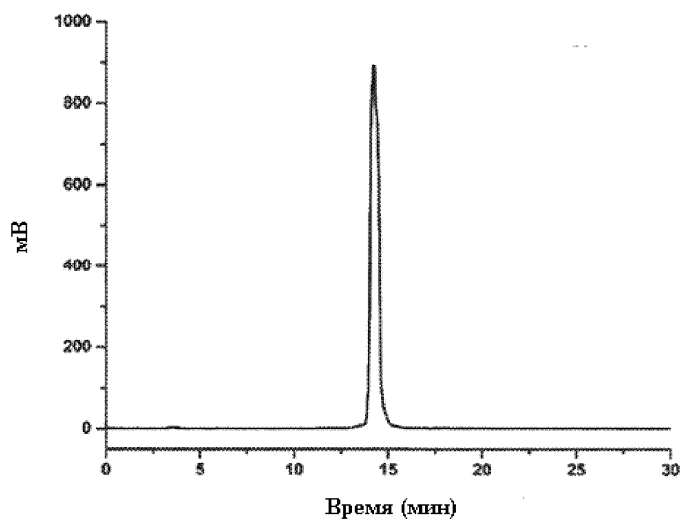
3. Применение соединения по п.1 для лечения опухолей, которые сверхэкспрессируют белок PSMA (простатический специфический мембранный антиген).



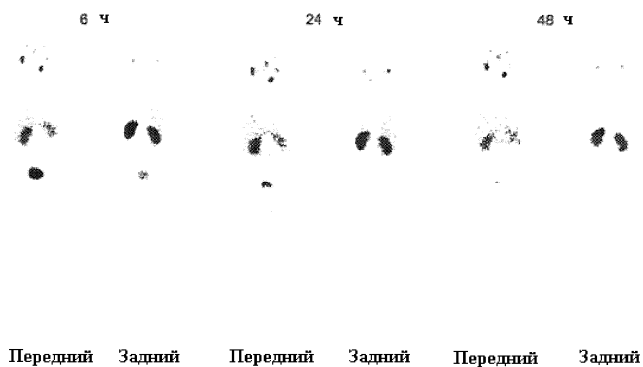
Фиг. 1



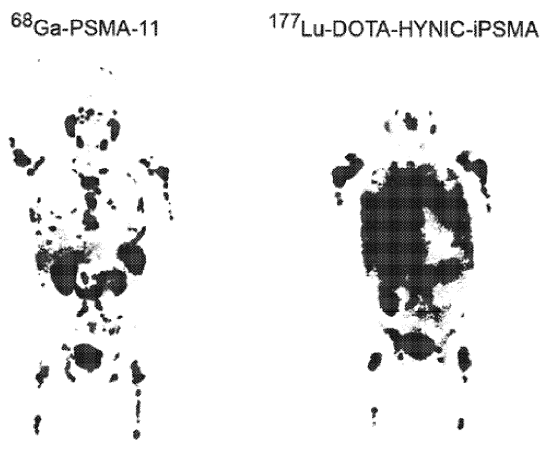
Фиг. 2



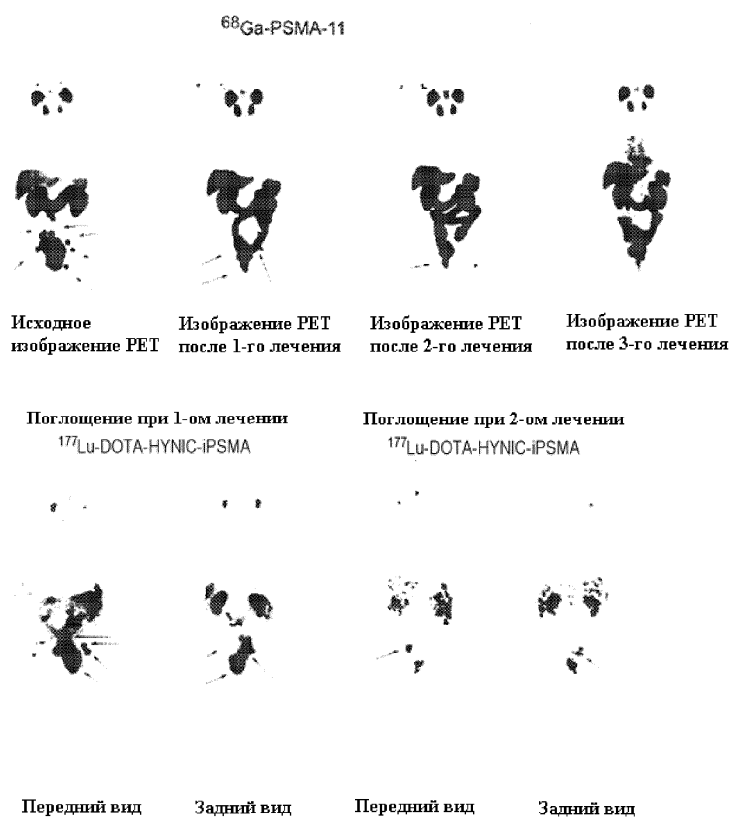
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6

