

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **044027**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.07.18

(21) Номер заявки
202091298

(22) Дата подачи заявки
2017.11.21

(51) Int. Cl. *A61B 5/055* (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)
A61K 49/06 (2006.01)
A61K 49/10 (2006.01)

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

(43) **2020.10.05**

(86) **РСТ/RU2017/000870**

(87) **WO 2019/103636 2019.05.31**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"СОЛЬВЕКС" (RU)**

(56) WO-A1-2010033511
US-A-5042488
US-A1-20100322865
US-A1-20030211036
US-B1-6574496

(72) Изобретатель:
**Лесив Алексей Валерьевич, Ивашкин
Павел Евгеньевич, Гуляев Михаил
Владимирович, Дорофеева Евгения
Олеговна, Косенков Алексей
Викторович, Киселевский Михаил
Валентинович, Польшаков Владимир
Иванович (RU)**

(74) Представитель:
Котлов Д.В. (RU)

(57) Изобретение относится к медицине, а именно к средствам для магнитно-резонансной диагностики онкологических заболеваний. Для этого разработан диагностический препарат и способ диагностики, основанный на использовании диагностического препарата, в качестве которого используют дейтерированное производное 2-амино-2-метилпропионовой кислоты или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли, или смесь, по меньшей мере, двух дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли. Способ по изобретению включает проведение магнитно-резонансной томографии и/или магнитно-резонансной спектроскопии на ядрах дейтерия после введения диагностического препарата через время, достаточное для накопления диагностического препарата в опухолевой ткани субъекта для получения, соответственно, МР-изображения и/или МР-спектра. Предложенный способ позволяет с высокой информативностью осуществлять диагностику онкологических заболеваний.

B1

044027

044027

B1

Область техники

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

Уровень техники

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

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

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

Альтернативой проведения ^1H МРТ с контрастными агентами является регистрация сигнала других ядер, в частности, ^{31}P , ^{13}C , ^{19}F , ^2H , ^{23}Na . Одним из таких ядер является дейтерий (^2H). Это нерадиоактивный изотоп водорода, природное содержание которого в биологических объектах составляет 0.0156%, а чувствительность в несколько раз ниже, чем у протона.

К настоящему моменту описано несколько случаев применения ^2H ЯМР и/или ^2H МРТ *in vivo*. В документе US 20030211036 A1 был предложен способ измерения перфузии опухолевых тканей с помощью изотопно меченых соединений, включая дейтерированные соединения.

В документе US 5042488 была показана возможность регистрации фонового сигнала дейтерия, а также сигнала дейтерия после инъекции D_2O и 1-дейтеро-глюкозы *in vivo* (в печени крысы). Отмечается, что изобретение также может быть осуществлено с использованием других меченых дейтерием индикаторов кровотока.

В документе US 20100322865 A1 описывается применение метаболитических прекурсоров воды для оценки скорости метаболизма путем проведения ^2H МРТ. В качестве примера метаболитического предшественника HOD приводится 1,2,3,4,5,6-дейтерированная глюкоза. В рамках описанного изобретения осуществляется регистрация только ЯМР сигналов на дейтерии метаболитической воды и алифатической цепи жирных кислот, и отсутствуют ЯМР сигналы дейтерированной глюкозы.

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

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

Раскрытие изобретения

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

Технический результат данного изобретения заключается в создании нового и эффективного диагностического препарата, который может использоваться в диагностике онкологических заболеваний, в частности, рака молочной железы, глиомы. Техническим результатом настоящего изобретения также является разработка нового эффективного и информативного способа диагностики онкологического заболевания методом магнитно-резонансной томографии и/или магнитно-резонансной спектроскопии на ядрах дейтерия, включающего введение диагностического препарата по изобретению, который способен накапливаться в опухолевой ткани в концентрации, достаточной для регистрации информативной дейтериевой томограммы или ^2H -ЯМР спектра *in vivo*.

Диагностический препарат по изобретению характеризуется тем, что в нем реализуется сочетание таких факторов как высокое содержание атомов дейтерия в препарате, его способности накапливаться в опухоли за приемлемое время в концентрации, достаточной для проведения диагностики, характеризующейся при этом низкой токсичности, практически полным выведением из организма в неизменном

виде. Это позволяет проводить диагностику, в том числе многократную, с использованием безвредных для организма доз препаратов.

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

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

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

В частных вариантах воплощения изобретения дейтерированное производное 2-амино-2-метилпропионовой кислоты представляет собой 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовую кислоту или 2-амино-2-(CD₂H)-3,3,3-D₃-пропионовую кислоту или 2-амино-2-(CDH₂)-3,3,3-D₃-пропионовую кислоту или 2-амино-2-метил-3,3,3-D₃-пропионовую кислоту или 2-амино-2-(CD₂H)-3,3-D₂-пропионовую кислоту или 2-амино-2-(CDH₂)-3,3-D₂-пропионовую кислоту или 2-амино-2-метил-3,3-D₂-пропионовую кислоту или 2-амино-2-(CDH₂)-3-D-пропионовую кислоту или 2-амино-2-метил-3-D-пропионовую кислоту.

В частных вариантах воплощения изобретения дейтерированное производное 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты представляет собой 2-(N-метиламино)-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовую кислоту или 2-(N-(CD₃)амино)-2-метилпропионовую кислоту или 2-(N-(CD₃)амино)-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовую кислоту.

В частных вариантах воплощения изобретения диагностический препарат по изобретению включает смесь, по меньшей мере, двух разных дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты, выбранных из 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-(CD₂H)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-(CD₂H)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-метил-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-(CD₂H)-3,3-D₂-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-(CDH₂)-3,3-D₂-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-метил-3,3-D₂-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-(CDH₂)-3-D-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-метил-3-D-пропионовой кислоты и/или 2-метиламино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты и/или 2-(N-(CD₃)амино)-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-(CD₃)амино)-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты.

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

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

Изобретение также включает получение диагностического препарата по изобретению.

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

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

водных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли.

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

В частных вариантах воплощения изобретения предварительно проводят, по меньшей мере, одно дополнительное медицинское исследование, выбранное из магнитно-резонансной томографии на ядрах, отличных от ядер дейтерия, ультразвукового исследования, компьютерной томографии, рентгенографии, пальпации, биопсии, анализа биологических жидкостей на онкомаркеры, радионуклидной диагностики и/или визуального наблюдения.

В частных вариантах воплощения изобретения диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения интенсивности сигнала ядер дейтерия с типичной интенсивностью сигнала, наблюдаемой у здоровых субъектов в соответствующей ткани или соответствующем органе.

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

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

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

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

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

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

В частных вариантах воплощения изобретения диагностический препарат вводят субъекту перорально.

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

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

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

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

Краткое описание чертежей

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

Фиг. 2. Дейтериевая томограмма образца, содержащего разбавленный раствор дейтерированного диагностического препарата: (а) широкополосное возбуждение; (б) селективное возбуждение на частоте 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовой кислотой.

Фиг. 3. Томограммы мыши №1 с карциномой молочной железы 4T1 через 40 мин после введения 20 мг 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовой кислоты:

а) ^2H МРТ (положение поверхностной катушки показано белым контуром);

б) ^1H МРТ;

в) комбинированная томограмма.

Фиг. 4. Томограммы мыши №2 без опухоли через 40 мин после введения 20 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты:

- а) ²H МРТ;
- б) ¹H МРТ.

Фиг. 5. Томограммы мыши №3 с карциномой молочной железы 4Т1 через 115 мин после введения 20 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты:

- а) ²H МРТ;
- б) ¹H МРТ;

в) комбинированная томограмма.

Фиг. 6. ²H томограмма (а) и фотография (б) опухоли, извлеченной из мыши №3 через 150 мин после введения 20 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты.

Фиг. 7. Томограммы мыши №4 с карциномой молочной железы 4Т1 через 20 мин после введения 20 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты:

- а) ²H МРТ;
- б) ¹H МРТ;

в) комбинированная томограмма.

Фиг. 8. Томограммы мыши №4 с карциномой молочной железы 4Т1 через 360 мин после введения 20 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты:

- а) ²H МРТ;
- б) ¹H МРТ;

в) комбинированная томограмма.

Фиг. 9. Томограммы мыши №5 с карциномой молочной железы 4Т1 через 30 мин после введения 10 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты:

- а) ²H МРТ;
- б) ¹H МРТ;

в) комбинированная томограмма.

Фиг. 10. Томограммы мыши №6 с карциномой молочной железы 4Т1 через 30 мин после введения 5 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты:

- а) ²H МРТ;
- б) ¹H МРТ;

в) комбинированная томограмма.

Фиг. 11. Томограммы крысы с глиомой С6 через 3 ч после введения 150 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты:

- а) ²H МРТ;
- б) ¹H МРТ;

в) комбинированная томограмма.

Фиг. 12. Томограммы контрольной крысы без опухоли через 3 ч после введения 150 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты:

- а) ²H МРТ;
- б) ¹H МРТ.

Определения и термины

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

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

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

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

Используемый здесь термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к таким солям, которые, в рамках проведенного медицинского заключения, пригодны для использования в контакте с тканями человека и животных без излишней токсичности, раздражения, аллергической реакции и т.д., и отвечают разумному соотношению пользы и риска. Фармацевтически приемлемые соли аминов, карбоновых

кислот, фосфонатов и другие типы соединений хорошо известны в медицине. Соли могут быть получены *in situ* в процессе выделения или очистки соединений изобретения, а также могут быть получены отдельно, путем взаимодействия свободной кислоты или свободного основания соединения изобретения с подходящим основанием или кислотой, соответственно. Примером фармацевтически приемлемых, нетоксичных солей кислот могут служить соли аминогруппы, образованные неорганическими кислотами, такими как соляная, бромоводородная, фосфорная, серная и хлорная кислоты, или органическими кислотами, такими как уксусная, щавелевая, малеиновая, винная, янтарная или малоновая кислоты, или полученные другими методами, используемыми в данной области, например, с помощью ионного обмена. К другим фармацевтически приемлемым солям относятся адипинат, альгинат, аскорбат, аспартат, бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, формиат, фумарат, глюкогептонат, глицерофосфат, глюконат, гемисульфат, гептанат, гексанат, гидройодид, 2-гидрокси-этансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурил сульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пикрат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, *p*-толуолсульфонат, ундеканат, валериат и подобные. Типичные соли щелочных и щелочноземельных металлов содержат натрий, литий, калий, кальций, магний и другие. Кроме того, фармацевтически приемлемые соли могут содержать, если требуется, нетоксичные катионы аммония, четвертичного аммония и амина, полученные с использованием таких противоионов, как галогениды, гидроксиды, карбоксилаты, сульфаты, фосфаты, нитраты, низшие алкил сульфонаты и арил сульфонаты.

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

Подробное раскрытие изобретения

Для успешной реализации диагностики онкологического заболевания с помощью ^2H МРТ или ^2H ЯМР необходимо создание достаточно высокой концентрации дейтерия в опухолевой ткани. Чтобы удовлетворить этому критерию, диагностический препарат должен:

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

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

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

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

ких доз диагностического препарата, что приводит к минимизации побочных эффектов.

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

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

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

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

б) вводится диагностический препарат;

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

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

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

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

б) вводится диагностический препарат;

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

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

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

В частных случаях воплощения изобретения после идентификации области с подозрением на злокачественное образование выбираются отдельные воксели, лежащие как в пределах, так и за пределами подозрительной области (в частности, может быть выбрана серия соседних вокселей, лежащих на одной линии, пересекающей границу подозрительной области). Регистрация интегрального сигнала ^2H или ^2H спектров в выбранных вокселях с последующим сравнением их интенсивности позволяет быстро и с большей чувствительностью обнаруживать области накопления диагностического препарата.

МРТ изображения и МР спектры могут быть получены на любом магнитно-резонансном томографе,

оснащенном оборудованием для регистрации сигнала дейтерия.

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

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

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

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

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

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

В результате проведенных исследований также показано, что результаты визуализации опухоли существенно зависят от дозы диагностического препарата в пределах допустимого диапазона. Меньшие дозы позволяют избирательно визуализировать участки опухоли, характеризующиеся наиболее интенсивным поглощением, в то время как увеличение дозы приводит к более полному заполнению границ опухоли сигналом дейтерия. Благодаря такому свойству диагностического препарата по изобретению возможно проведение динамических исследований (множественная регистрация томограмм) с постепенно возрастающей во времени концентрацией препарата в крови (например, в результате медленной внутривенной инфузии или серии последовательных инъекций малых доз препарата). Такие исследования могут предоставлять информацию одновременно о метаболической активности разных участков опухоли и о степени распространения опухолевого заболевания.

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

Способ диагностики по изобретению может применяться, в частности, для ранней диагностики

опухолей различной локализации, метастатических поражений, оценки ответа опухоли на лечение и заключения об эффективности проводимой терапии, для уточнения диагноза, составленного на основании результатов ^1H МРТ и/или других методов диагностики.

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

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

Осуществление изобретения

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

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

Приведенные в данном изобретении примеры служат иллюстрациями принципа действия разработанного метода, и не ограничивают диапазон используемых доз, а также диапазон времени между введением диагностического препарата и регистрацией сигнала дейтерия, поскольку в зависимости от чувствительности и других параметров используемого оборудования, диагностируемого заболевания и природы субъекта (человек или лабораторное животное) необходимые дозы и время, необходимое для накопления, могут отличаться. Кроме того, приведенные параметры регистрации спектров и томограмм, включая время накопления сигнала, являются частью конкретных вариантов воплощения изобретения и могут меняться в зависимости от используемого оборудования и конкретных диагностических задач.

Синтез 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовой кислоты.

Раствор 1.9 г ацетона- d_6 в 5 мл диэтилового эфира прибавляют при 0-5°C к раствору 2.0 г хлорида аммония в 5 мл D_2O . Затем к полученной смеси медленно добавляют раствор 1.6 г цианида натрия в 3.5 мл D_2O . Реакционную смесь перемешивают в течение одного часа и оставляют на ночь. Эфирный слой отделяют, водный слой экстрагируют шестью 3-мл порциями диэтилового эфира. Объединенные эфирные экстракты упаривают, остаток растворяют в 8 мл метанола. Полученный раствор насыщают газообразным аммиаком и оставляют на 48 ч. Реакционную смесь упаривают, к остатку прибавляют 6 мл воды и 10 мл 48% бромоводородной кислоты, после чего полученную смесь кипятят в течение 2-х часов, затем упаривают под вакуумом и после добавления к сухому остатку 5 мл воды упаривают снова. Остаток после упаривания растворяют в 15 мл метанола и фильтруют. К полученному раствору прибавляют 3 мл пиридина. Через 10 ч кристаллическую 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовую кислоту отфильтровывают, промывают метанолом и высушивают в вакууме. Выход 1.1 г (35%)

^1H ЯМР (D_2O): 1.30 (остаточный сигнал протонов метильной группы).

^{13}C ЯМР (D_2O): 178.1, 23.5.

При использовании D_2O при гидролизе, а также путем выдерживания конечного продукта в D_2O с последующим упариванием получают дейтерированную 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовую кислоту с частично или полностью дейтерированными амино- и карбоксильной группами.

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

Эксперименты *in vivo* (пример 2, 3) демонстрируют возможность регистрации дейтериевых томограмм и ЯМР спектров *in vivo* и способность дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты накапливаться в опухолях. Показана возможность диагностики опухоли, в частности, опухоли молочной железы 4Т1 и глиомы С6, на основании наблюдаемого сигнала дейтерированного производного 2-амино-2-метилпропионовой кислоты.

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

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

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

Для экспериментов с селективным возбуждением использовались следующие настройки: частота возбуждения $\text{sfo1} = 46.17438$ МГц, прямоугольный возбуждающий импульс шириной 130 Гц и мощностью 48 dB, угол отклонения $\text{FA} = 30^\circ$, время повторения $\text{TR} = 25$ мс, время эхо $\text{TE} = 10$ мс, область ска-

нирования 10 см × 10 см, матрица сканирования 50×50, толщина среза 3 см, ширина пропускания частот 25000 Гц, общее время сканирования 10 мин.

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

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

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

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

На фиг. 2 показаны дейтериевые томограммы образца с 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовой кислотой, полученные с применением широкополосного (слева) и селективного (справа) возбуждения. Селективное возбуждение может успешно применяться для регистрации дейтериевой томограммы, однако применение селективного возбуждения сопряжено с существенным уменьшением отношения сигнал/шум.

Пример 2. Использование дейтериевой томографии для визуализации карциномы молочной железы мыши 4T1 *in vivo* с использованием 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовой кислоты в качестве диагностического препарата.

В данном примере проводились эксперименты на мышах Balb/c с привитой карциномой молочной железы 4T1 (инъекция 5×10^5 клеток/60 мкл под левой передней лапой за 9-23 дней до эксперимента) и на здоровых мышах Balb/c.

Животному №1-5 весом 20 г вводился внутривенно раствор 20 мг 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовой кислоты в 0.5 мл физраствора. Животному №6-7 весом 20 г вводился внутривенно раствор 10 мг (мышь №4) или 5 мг (мышь №5) 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовой кислоты в 0.25 мл физраствора. После инъекции животное содержалось в отдельной клетке в течение указанного времени (№1 с опухолью и №2 без опухоли: 40 мин; №3 с опухолью: 115 мин; №4 с опухолью: 20 и 360 мин; №5 и №6 с опухолью: 30 мин). Для регистрации томограмм и спектров животное обездвигивалось препаратом "изофлуран". Поверхностная приемопередающая катушка закреплялась на теле мыши с дорсальной стороны последовательно в двух положениях (грудной отдел, область почек). На фиг. 3-7 приведены ^2H томограммы, полученные с применением широкополосного возбуждения ядер дейтерия.

На фиг. 3 показаны томограммы, полученные на мыши №1 с опухолью через 40 мин после введения 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовой кислоты (а) ^2H МРТ (положение поверхностной катушки показано белым контуром); б) ^1H МРТ; в) наложение ^2H МРТ и ^1H МРТ). На данной фигуре можно видеть, что сигнал дейтерия локализован в области, соответствующей опухоли (соотношение сигнал/шум в области опухоли составляет примерно 6), а также в области, соответствующей печени, по данным ^1H МРТ.

Анализ ^2H томограмм, полученных на мыши №1 через 40 мин после введения, показал, что соотношение сигнал/шум в области опухоли составляет примерно 6 (широкополосное возбуждение) или примерно 4 (селективное возбуждение). Таким образом, широкополосное возбуждение позволяет существенно увеличить чувствительность метода при регистрации *in vivo*. Следует отметить, что при использовании более чувствительного оборудования селективное возбуждение может являться более предпочтительным вариантом, поскольку при этом понижается уровень фонового сигнала тяжелой воды. Соотношение сигнал/шум в области почек составило примерно 25 (широкополосное возбуждение). Таким образом, можно заключить, что большая часть диагностического препарата накопилась в почках.

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

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

1) 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовая кислота накапливается в опухолевой ткани *in vivo* в концентрации, достаточной для визуализации с использованием ^2H МРТ;

2) 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовая кислота может использоваться в качестве диагностического препарата для обнаружения злокачественных образований с использованием ^2H МРТ.

На фиг. 5 показаны томограммы, полученные на мыши №3 с опухолью через 115 мин после введения 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовой кислоты: (а) ^2H МРТ; (б) ^1H МРТ; (в) наложение ^2H МРТ и ^1H МРТ. На данной фигуре можно видеть, что сигнал дейтерия локализован в области, соответствующей опухоли, а также в области, соответствующей печени, по данным ^1H МРТ.

На фиг. 6 показаны: дейтериевая томограмма (а) и фотография (б) опухоли, извлеченной из мыши №3 через 150 мин после введения 2-амино-2-(CD_3)-3,3,3- D_3 -пропионовой кислоты. Данная фигура показывает, что изолированная опухоль отчетливо видна на дейтериевой томограмме благодаря достаточно-

му накоплению 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты.

На фиг. 7 показаны томограммы, полученные на мыши №4 с опухолью через 20 мин после введения 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты: (а) ²H МРТ; (б) ¹H МРТ; (в) наложение ²H МРТ и ¹H МРТ. На данной фигуре можно видеть, что сигнал дейтерия локализован в области, соответствующей наиболее молодой и активно растущей части опухоли, а также в области, соответствующей печени, по данным ¹H МРТ.

На фиг. 8 показаны томограммы, полученные на мыши №4 с опухолью через 360 мин после введения 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты: (а) ²H МРТ; (б) ¹H МРТ; (в) наложение ²H МРТ и ¹H МРТ. На данной фигуре можно видеть, что сигнал дейтерия локализован в области, соответствующей наиболее молодой и активно растущей части опухоли по данным ¹H МРТ.

На основании результатов, проиллюстрированных фиг. 7 и 8 можно заключить, что в случае обширных опухолевых образований диагностический препарат по изобретению позволяет визуализировать наиболее активно растущие части опухоли.

Кроме того, на основании этих результатов можно заключить, что диагностический препарат выводится из опухоли в течение нескольких часов.

На фиг. 9 показаны томограммы, полученные на мыши №5 с опухолью через 30 мин после введения 10 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты: (а) ²H МРТ; (б) ¹H МРТ; (в) наложение ²H МРТ и ¹H МРТ. На данной фигуре можно видеть, что сигнал дейтерия локализован в области, соответствующей отдельным частям опухоли, вероятно, соответствующих зонам наиболее интенсивного роста, а также в области, соответствующей печени, по данным ¹H МРТ.

На фиг. 10 показаны томограммы, полученные на мыши №6 с опухолью через 30 мин после введения 5 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты: (а) ²H МРТ; (б) ¹H МРТ; (в) наложение ²H МРТ и ¹H МРТ. На данной фигуре можно видеть, что сигнал дейтерия локализован в области, соответствующей отдельным частям опухоли, вероятно, соответствующих зонам наиболее интенсивного роста, а также в области, соответствующей печени, по данным ¹H МРТ.

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

На основании результатов, проиллюстрированных фиг. 3, 5, 7 и 8 можно заключить, что допустимый диапазон времени между введением 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты и регистрацией сигнала дейтерия может составлять, в частности, 20-360 мин. Следует отметить, что для других животных и для человека данный диапазон может быть существенно шире за счет разницы в фармакокинетики.

Пример 3. Использование дейтериевой томографии для визуализации глиомы крыс C6 in vivo с использованием 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты в качестве диагностического препарата.

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

Животному весом 210 г вводился внутривенно раствор 150 мг 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты в 1.5 мл физраствора. После инъекции животное содержалось в отдельной клетке со свободным доступом к пище и воде. Для регистрации томограмм и спектров животное обездвигивалось препаратом "изофлуран". Поверхностная приемопередающая катушка закреплялась над головой крысы.

На фиг. 11 показаны томограммы, полученные на крысе с опухолью через 4 ч после введения 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты: (а) необработанная ²H МРТ; (б) ¹H МРТ; (в) наложение ²H МРТ и ¹H МРТ. На данной фигуре можно видеть, что сигнал дейтерия локализован в области, соответствующей опухоли по данным ¹H МРТ.

На фиг. 12 показаны томограммы, полученные на крысе без опухоли через 4 ч после введения 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты: (а) необработанная ²H МРТ; (б) ¹H МРТ. На данной фигуре можно видеть, что сигнал дейтерия не демонстрирует четкой локализации.

На основании результатов, проиллюстрированных фиг. 11 и 12, можно заключить, что диагностический препарат по изобретению, в частности включающий 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовую кислоту может использоваться в качестве диагностического препарата для обнаружения злокачественных образований, в том числе глиомы, с использованием ²H МРТ.

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

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение диагностического препарата, включающего дейтерированное производное 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемую соль, или смесь, по меньшей мере, двух дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или ее фармацевтически приемлемой соли, для диагностики онкологических заболеваний методом магнитно-резонансной томографии и/или магнитно-резонансной спектроскопии на ядрах дейтерия.

2. Применение по п.1, в котором диагностический препарат дополнительно включает, по меньшей мере, одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

3. Применение по п.2, в котором фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество представляет собой носитель, наполнитель и/или растворитель.

4. Применение по п.1, в котором дейтерированное производное 2-амино-2-метилпропионовой кислоты представляет собой 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовую кислоту или 2-амино-2-(CD₂H)-3,3,3-D₃-пропионовую кислоту или 2-амино-2-(CD₂H)-3,3,3-D₃-пропионовую кислоту или 2-амино-2-метил-3,3,3-D₃-пропионовую кислоту или 2-амино-2-(CD₂H)-3,3,3-D₂-пропионовую кислоту или 2-амино-2-(CDH₂)-3,3,3-D₂-пропионовую кислоту или 2-амино-2-метил-3,3-D₂-пропионовую кислоту или 2-амино-2-(CDH₂)-3-D-пропионовую кислоту или 2-амино-2-метил-3-D-пропионовую кислоту.

5. Применение по п.1, в котором дейтерированное производное 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты представляет собой 2-метиламино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовую кислоту или 2-(N-(CD₃)амино)-2-метилпропионовую кислоту или 2-(N-(CD₃)амино)-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовую кислоту.

6. Применение по п.1, в котором диагностический препарат включает смесь, по меньшей мере, двух разных дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты, выбранных из 2-амино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-(CD₂H)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-(CD₂H)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-метил-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-(CD₂H)-3,3,3-D₂-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-(CDH₂)-3,3,3-D₂-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-метил-3,3-D₂-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-(CDH₂)-3-D-пропионовой кислоты и/или 2-амино-2-метил-3-D-пропионовой кислоты и/или 2-метиламино-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты и/или 2-(N-(CD₃)амино)-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-(CD₃)амино)-2-(CD₃)-3,3,3-D₃-пропионовой кислоты.

7. Применение по п.1, в котором диагностический препарат дополнительно включает недейтерированную 2-амино-2-метилпропионовую кислоту или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовую кислоту.

8. Применение по п.1, в котором дейтерированное производное 2-амино-2-метилпропионовой кислоты или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемая соль наряду с атомами дейтерия, связанными с атомами углерода, содержат атомы дейтерия, частично или полностью замещающие подвижные атомы водорода, связанные с атомами кислорода и/или азота.

9. Способ диагностики онкологического заболевания у субъекта, включающий следующие этапы:

а) вводят субъекту диагностический препарат, включающий дейтерированное производное 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемую соль, или смесь, по меньшей мере, двух дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или ее фармацевтически приемлемой соли;

б) проводят магнитно-резонансную томографию и/или магнитно-резонансную спектроскопию на ядрах дейтерия после введения диагностического препарата через время, достаточное для его накопления в опухолевой ткани, для получения, соответственно, томограммы и/или ЯМР спектра;

в) диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании наблюдаемой интенсивности сигнала ядер дейтерия, отражающей уровень накопления диагностического препарата.

10. Способ по п.9, в котором в случае отсутствия областей накопления диагностического препарата у субъекта диагностируют отсутствие онкологического заболевания.

11. Способ по п.9, в котором проводят, по меньшей мере, одно дополнительное медицинское исследование, выбранное из магнитно-резонансной томографии на ядрах, отличных от ядер дейтерия, ультразвукового исследования, компьютерной томографии, рентгенографии, пальпации, биопсии, анализа биологических жидкостей на онкомаркеры, радионуклидной диагностики и/или визуального наблюдения.

12. Способ по п.9, в котором диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения интенсивности сигнала ядер дейтерия у исследуемого субъекта с типичной интенсивностью сигнала, наблюдаемой у здоровых субъектов в соответствующей ткани или соответствующем органе.

13. Способ по п.11, в котором диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения интенсивности сигнала ядер дейтерия в областях, соответствующих нормальной и аномальной ткани по данным дополнительного медицинского исследования.

14. Способ по п.11, в котором диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания

на основании сравнения интенсивности сигнала ядер дейтерия в соседних вокселях, находящихся по разные стороны границы нормальной ткани и ткани с подозрением на новообразование по данным ^1H МРТ.

15. Способ по п.11, в котором диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения дейтериевой томограммы исследуемого субъекта с изображением, полученным в результате магнитно-резонансной томографии у субъекта на ядрах протия.

16. Способ по п.9, в котором по интенсивности сигнала ядер дейтерия и/или ее изменению во времени делается вывод о структуре, злокачественности, агрессивности или степени дифференциации или уровне перфузии опухоли.

17. Способ по п.9, в котором онкологическое заболевание представляет собой рак молочной железы, глиому.

18. Способ по п.9, в котором при регистрации томограммы используется селективное возбуждение ядер дейтерия, входящих в состав дейтерированного производного 2-амино-2-метилпропионовой кислоты или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли, или смеси дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли.

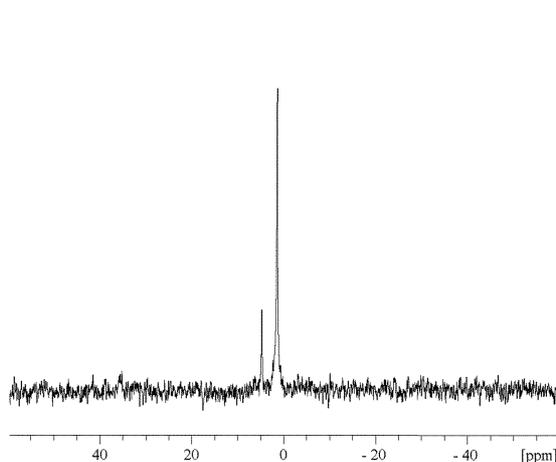
19. Способ по п.9, в котором при регистрации томограммы используется широкополосное возбуждение ядер дейтерия, входящих в состав дейтерированного производного 2-амино-2-метилпропионовой кислоты или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли, или смеси дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли.

20. Способ по п.9, в котором диагностический препарат вводят субъекту перорально.

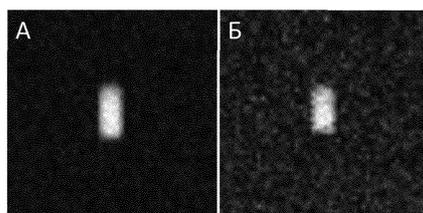
21. Способ по п.9, в котором диагностический препарат вводят субъекту парентерально.

22. Способ по п.9, в котором магнитно-резонансную томографию и/или магнитно-резонансную спектроскопию на ядрах дейтерия проводят через 20-360 мин после введения диагностического препарата.

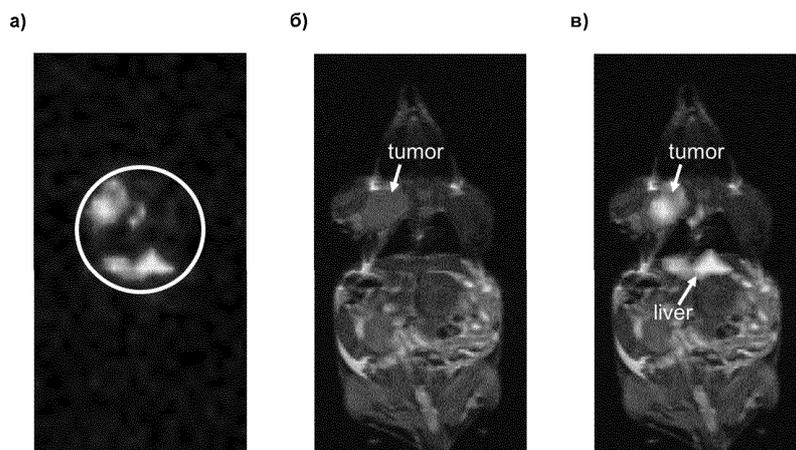
23. Способ по п.9, в котором диагностический препарат вводят субъекту в количестве, соответствующем 0.25-1 г дейтерированного производного 2-амино-2-метилпропионовой кислоты или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли, или смеси дейтерированных производных 2-амино-2-метилпропионовой кислоты и/или 2-(N-метиламино)-2-метилпропионовой кислоты и/или его фармацевтически приемлемой соли на 1 кг массы тела субъекта.



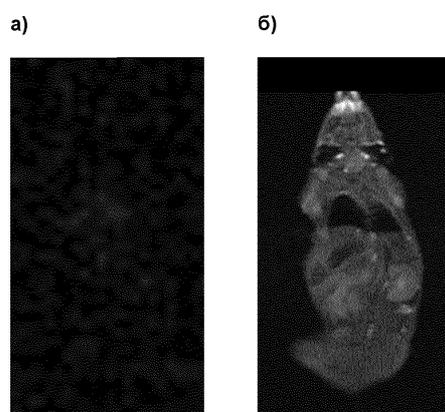
Фиг. 1



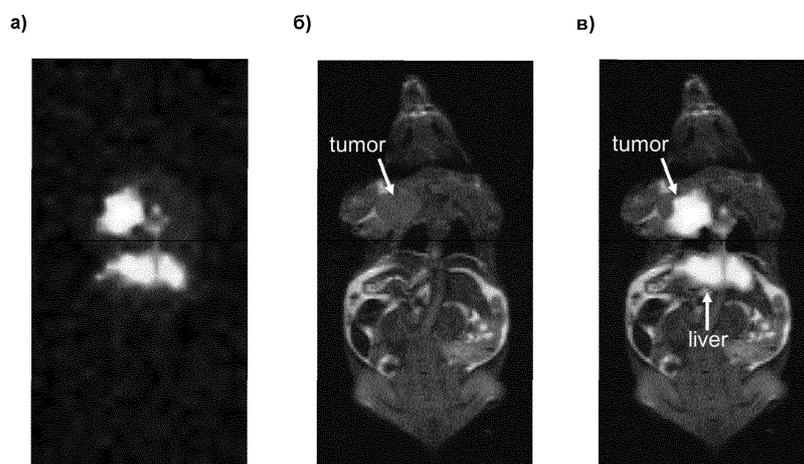
Фиг. 2



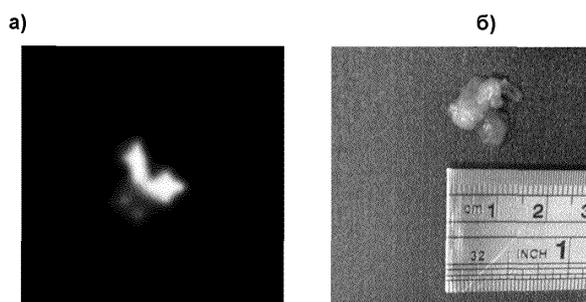
Фиг. 3



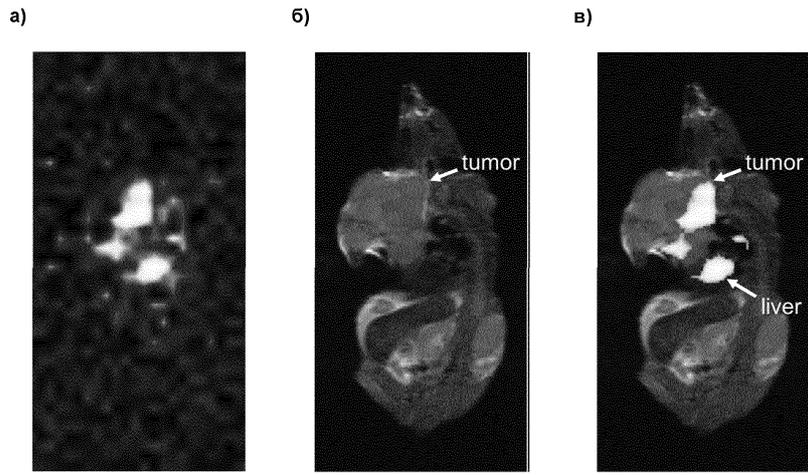
Фиг. 4



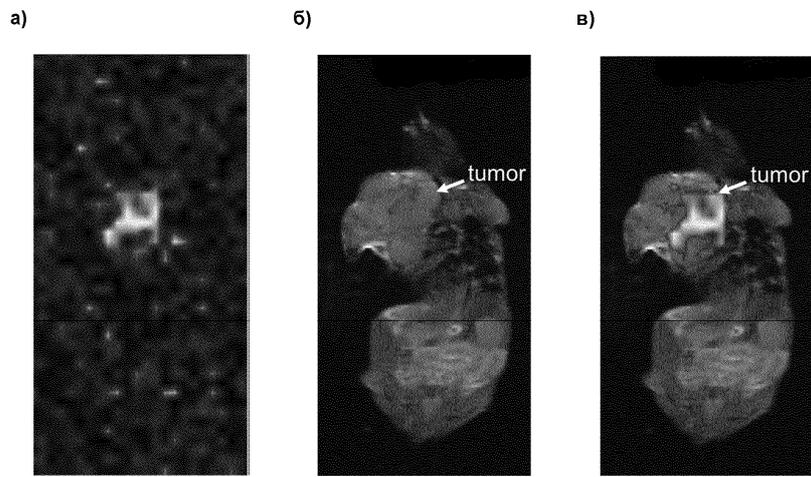
Фиг. 5



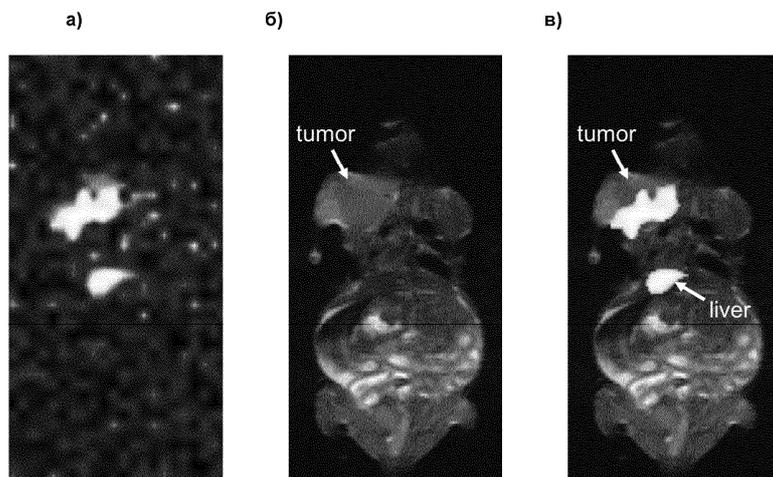
Фиг. 6



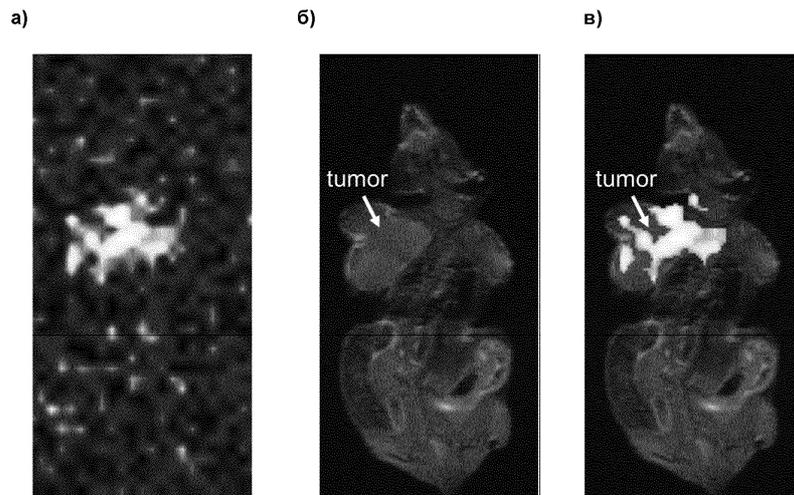
Фиг. 7



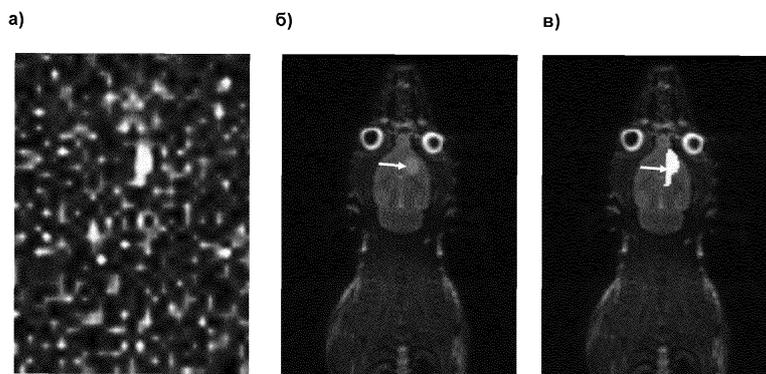
Фиг. 8



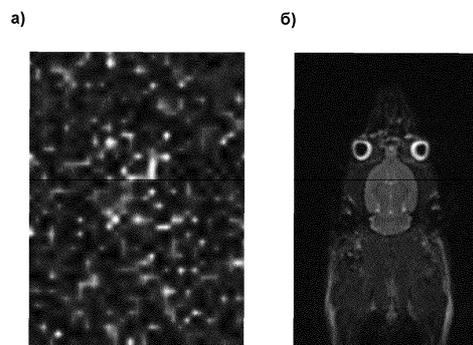
Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11



Фиг. 12

