(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202100274 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.05.31

(22) Дата подачи заявки
2021.11.29

(51) Int. Cl. ***C07F 5/00*** (2006.01)
C07D 257/02 (2006.01)
C07C 275/24 (2006.01)
C07C 275/26 (2006.01)
A61K 49/10 (2006.01)

(54) КОМПЛЕКСНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ГАДОЛИНИЯ, ВКЛЮЧАЮЩИЕ ПСМА-СВЯЗЫВАЮЩИЙ ЛИГАНД, КОНЪЮГИРОВАННЫЙ С ХЕЛАТИРУЮЩИМИ АГЕНТАМИ, В КАЧЕСТВЕ КОНТРАСТНЫХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ МРТ ИССЛЕДОВАНИЙ ОПУХОЛЕЙ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

(96) **2021000131 (RU) 2021.11.29**

(71) Заявитель:
АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО "ФАРМ-СИНТЕЗ" (RU)

(72) Изобретатель:
Ярошинский Милан Анатольевич, Назаренко Анна Борисовна, Федоров Владимир Егорович, Федоров Олег Владимирович, Дороватовский Станислав Анатольевич (RU)

(74) Представитель:
Копырин Ю.И. (RU)

(57) Изобретение относится к области органической и медицинской химии, касается новых комплексных соединений, в качестве биологически-активных агентов, которые могут быть использованы в качестве агентов для доставки лекарственных или диагностических средств при онкологических заболеваниях, в частности заболеваний, вызванных клетками, экспрессирующими ПСМА, такими как клетки рака предстательной железы. Изобретение описывает соединения формулы Me-I, в которой фрагменту I соответствует биологически-активный фрагмент для доставки катионов металлов к клеткам-мишеням - к цинксодержащим гликопротеинам клеточной мембраны, гиперэкспрессирующимся при РПЖ, а фрагменту Me - катион металла парамагнетика, особенно гадолиния, кроме радиоактивного изотопа гадолиния - ^{159}Gd. Соединения (I) содержат в своем составе бифункциональный хелатирующий агент - R, а также два мочевинных фрагмента. Соединения (I) пригодны для применения в качестве комплексообразующего агента с гадолинием и предназначены для использования в качестве действующего вещества в составе диагностических лекарственных препаратов, применяемых для контрастирования при магнитно-резонансной томографии локализации злокачественных образований предстательной железы.

202100274 A1

202100274 A1

МПК A61K 103/0, C07D295/145

C07D 257/02, C07B 59/00

Комплексные соединения гадолиния, включающие, ПСМА–связывающий лиганд, конъюгированный с хелатирующими агентами, в качестве контрастных веществ для МРТ исследований опухолей предстательной железы.

Изобретение относится к области органической и медицинской химии, а также молекулярной биологии и касается нового класса соединений, в качестве биологически-активных агентов, которые могут быть использованы в качестве средств для доставки лекарственных или диагностических соединений, то есть агентов для диагностики или лечения онкологических заболеваний, в частности, диагностики или лечения заболеваний, вызванных клетками, экспрессирующими ПСМА, такими как клетки рака предстательной железы.

Конкретно, изобретение относится к соединению для диагностики рака предстательной железы у человека или животного, где соединение содержит направляющий модуль, который способен взаимодействовать со специфическим молекулярным маркером рака предстательной железы, таким как мембранный антиген предстательной железы PSMA (ПСМА) , и детектируемый компонент.

Рак предстательной железы является наиболее распространенным злокачественным заболеванием у мужчин и второй ведущей причиной связанной с раком смерти у мужчин в США (Jemal et al. (2003) в Cancer Statistics in CA Cancer J. Clin., 53:5-26). Он несет ответственность за 29% всех случаев рака у мужчин и 11% связанной с раком смерти у мужчин. Небольшие карциномы предстательной железы детектировали у 30% мужчин в возрасте от 30 до 49 лет, 40% мужчин в возрасте свыше 50 и 64% мужчин в возрасте от 60 до 70 лет (Sakr et al. (1993) in J. Urol., 150:379-385). Частота случаев с поправкой на возраст неуклонно возрастала в течение последних нескольких десятилетий, при этом значительное увеличение связано с широким распространением использования

скрининга на специфический антиген предстательной железы (PSA) в поздние 1980-е и ранние 1990-е. Как правило, карциномы предстательной железы представляют собой хорошо дифференцированные опухоли и, как правило, только медленно растущие.

В настоящее время скрининг рака предстательной железы основан на сочетании трех разных диагностических подходов, а именно физического обследования, биохимического исследования и анализа изображения. Физическое обследование обычно осуществляют пальцевым исследованием прямой кишки (DRE). Пальцевое исследование прямой кишки обязательно для любого пациента с симптомами инфравезикальной обструкции. Этот тип обследования используют для оценки размера и консистенции предстательной железы.

Биохимический анализ в значительной степени основан на обследовании в отношении содержания в сыворотке специфического антигена предстательной железы. В норме приемлемый верхний уровень для PSA в сыворотке, который определяют иммунологическим анализом с использованием моноклональных антител, составляет 4 нг/мл. Однако некоторые мужчины с раком предстательной железы могут обладать нормальными уровнями PSA, и повышение уровней PSA может также происходить вследствие других факторов, таких как возраст, наличие инфаркта и т.д. Таким образом, исследование PSA само по себе не является достаточным или для исключения, или для подтверждения наличия опухоли. Исследование PSA также не позволяет провести различие между злокачественностью и доброкачественностью детектируемой опухоли. Гематологическое измерение может дополнять исследование PSA, и оно включает полный анализ крови, измерения вязкости плазмы, определение скорости оседания эритроцитов и т.д.

Итак, рак простаты является наиболее распространенным не относящимся к кожному покрову раком, диагностируемым у мужчин, и в настоящее время является второй ведущей причиной смерти, например среди мужчин в Соединенных Штатах. Современные методы лечения рака простаты имеют высокую заболеваемость и высокую

вероятность рецидива после лечения, что создает опасность качество жизни и выживаемость пациента. Рост и распространение опухоли простаты часто происходят очень медленно и остаются незамеченными на ранних стадиях рака. Однако при ранней диагностике вероятность пятилетнего выживания составляет 98,9%; поэтому раннее выявление рака простаты становится критически важным для разработки эффективных стратегий выбора вариантов лечения.

На сегодняшний день биопсия обычно используется для диагностики рецидива или метастазов рака простаты. Эта инвазивная процедура имеет большую ошибку выборки, особенно для небольших опухолей (<11,9 мм) , и связана с кровотечением, инфекциями и имеет риск распространения раковых клеток. Введение теста на ПСА (простатоспецифический антиген) значительно снизило уровень смертности. Однако он не дает информации о локализации опухоли и страдает высоким уровнем ложноположительных результатов.

Специфический мембранный антиген простаты (PSMA) оказался одним из лучших диагностических и терапевтических биомаркеров рака простаты. PSMA представляет собой 100 кДа глутаматкарбоксипептидазу II, а также фолатгидролазу и N-ацетил-α-связанную кислоту. дипептидаза I (NAALADase I) Она играет важную роль в физиологических процессах, таких как передача сигнала, функция рецептора, поглощение питательных веществ и миграция клеток. Уровень экспрессии PSMA в нормальной простате обычно в 10 раз выше, чем в других типах органов, который дополнительно увеличивается в ~ 10 раз в опухолях простаты. Кроме того, уровень экспрессии PSMA увеличивается, когда рецептор андрогена с пониженной регуляцией. Повышенный уровень экспрессии PSMA связан со степенью опухоли, патологической стадией, высоким показателем Глисона и рецидивом PSA.

В различных исследовании сверхэкспрессия PSMA была в значительной степени связана с рецидивом PSA, как и другие прогностические маркеры, включая инвазию семенных пузырьков, высокий балл Глисона, высокую метастатическую опухолевую нагрузку и наличие экстрапростатического распространения также частота рецидивов

ПСА у пациентов с опухолями с высокой экспрессией ПСМА значительно выше, чем у пациентов с более низкими уровнями ПСА. Было определено, что PSMA был независимым предиктором патологической стадии с помощью многофакторного анализа биохимического рецидива. PSMA также экспрессируется в метастазах опухоли из простаты в селезенку и кости. Исследования показали, что если клетки, экспрессирующие PSMA, могут быть целенаправленно нацелены, можно лечить как локализованные, так и агрессивные состояния. Таким образом, неинвазивный мониторинг уровня экспрессии PSMA и трехмерного распределения обеспечивает привлекательные возможности для точной диагностики и определения стадии, а также медикаментозное лечение. Нацеливание на PSMA с помощью компонента визуализации позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) дает больший эффект (HHS Public Access Author рукопись в наномасштабе. Авторская рукопись; доступно в PMC 2017 26 июля. Опубликован в окончательной редакции как: Nanoscale. 2016 июля 07; 8 (25): 12668–12682).

Взятые вместе, ни один из вышеупомянутых общепринятых способов не является достаточно чувствительным и специфическим для надежной диагностики рака предстательной железы, что делает трудной раннюю детекцию этого вида рака. Опухоли предстательной железы на ранней стадии не пальпируются по определению, и приблизительно одна третья часть всех опухолей предстательной железы не доступна для выявления посредством DER. Повышение уровня PSA не является специфичным для рака; кроме того, мужчины с раком предстательной железы часто обладают нормальными уровнями PSA. Биопсии под контролем TRUS могут не выявлять характерные участки ткани и приводить к ложноотрицательным результатам.

В настоящее время ситуация с диагностикой рака предстательной железы такова, что общее количество детектируемых карцином превышает количество клинически выраженных случаев, в то же время, существует значительное количество ложноотрицательных результатов. Более того, решение о злокачественности или доброкачественности опухоли не является непосредственным.

В свете довольно обременительного и запутанного взаимодействия

диагностических подходов, которые необходимо осуществлять для диагностики рака предстательной железы, продолжает существовать потребность в способах диагностики, которые увеличивают вероятность получения биоптатов из пораженных опухолью тканей и которые подкрепляют гистопатологическое решение о злокачественности и доброкачественности опухолевой ткани.

Среди потенциальных маркеров, которые были идентифицированы при раковых заболеваниях, например, раке простаты, наиболее известным, является специфический для простаты мембранный антиген (ПСМА, PSMA). Этот трансмембранный гликопротеид II типа (известный как глутаматкарбоксипептидаза II и N-ацелированная альфа – связанная кислая дипептидаза) молекулярной массой примерно 100 кДа, состоит из короткого внутриклеточного участка (аминокислоты 1-18), трансмембранного домена (аминокислоты 19-43) и протяженного внеклеточного домена (аминокислоты 44-750), который экспрессируется главным образом в нормальном эпителии простаты человека, но коррелирует с повышением в раковой простате, включая метастазирование. Поскольку PSMA экспрессируется практически всеми раками простаты, и его экспрессия еще больше усиливается в низкодифференцированных, метастатических и гормононезависимых карциномах, он является весьма привлекательной целью для визуализации и терапии простаты.

Из WO2017165473, 28.09.2017 известен простат-специфический антиген для эндотерапии рака предстательной железы, в одном из частных воплощений изобретения соединения характеризуются наличием в структуре мочевины на основе глутаминовой кислоты и лизина (DCL) ароматического фрагмента при ε-положении лизина и в структуре линкера, в виде дипептида из ароматических аминокислот фенилаланина и тирозина, а также его бром-замещенных аналогов, с различной конфигурацией оптического центра аминокислот, который необходим для соединения с доставляемой молекулой, и хелатирующий агент для включения металла или радиометалла. Однако, наличие в структуре мочевины на основе глутаминовой кислоты и лизина (DCL), только ароматического фрагмента при омега положении лизина не обеспечивает точное

позиционирование соединения в структуре ПСМА, что в свою очередь снижает эффективность связывания препарата с мишенью и эффективность действия соединения в целом.

В указанной заявке также раскрыт способ получения соединений, заключающийся в алкилировании на первом этапе три-(трет-бутил) защищенного производного мочевины на основе глутаминовой кислоты и лизина, последующей реакцией ацилирования получившегося продукта Boc-аминопентановой кислотой. Далее проводится удаление Boc-защитной группы в присутствии трифторуксуной кислоты в дихлорметане, с последующим получением конъюгата с хелатирующей группой. Однако в синтезе данного соединения используется в качестве восстанавливающего агента, на стадии алкилирования лизина цианоборгидрид натрия, который является токсичным реагентом. Так же использование BOC-производного аминопентановой кислоты не позволяет избирательно получить аминопроизводное с защищенными карбоксильными группами, что значительно усложняет дальнейшую модификацию молекулы.

Из RU 2697519, 15.08.2019 известно средство пептидной природы, включающее ПСМА-связывающий лиганд на основе производного мочевины структуры DCL и модифицированный гидрофобный пептидный линкер, включающий фрагменты 6-аминогексановой или 5-аминопентановой или 4-аминобутановой кислот, фрагмент фениланилина, фрагмент тирозина или его производное, а также способ получения его и конъюгат его с лекарственным и диагностическим агентом.

В US 20190177345, 13.06.2019 описаны комплексы, содержащие нацеленное соединение с PSMA, связанное с металлом, таким как катионы металлов ^{212}Pb или ^{227}Th. Эти соединения и содержащие их фармацевтические композиции можно использовать в медицинских целях. Эти применения включают лечение рака простаты, а комплексы позволяют осуществлять двойное нацеливание на рак. Пептид и пептидомиметик PSMA, нацеленные на производные мочевины, конъюгированные с

хелаторами для образования комплексов с катионами металлов, в частности с катионами радионуклидов (212Pb и 221Pb) для радиотерапевтического использования.

Существует несколько молекул-носителей для нацеливания радиолигандов на простатический специфический мембранный антиген (PSMA). Меченый лютецием-177 PSMA-617 (177 Lu-PSMA-617) представляет собой соединение, находящееся на наиболее продвинутой стадии клинической разработки для использования в радионуклидной терапии.(US 2019/0177345, 13.06.2019).

Эта молекула работает подходящим образом и обеспечивает соответствующее соотношение опухоли и нормальной ткани для более долгоживущих (т. е. период полураспада в несколько дней) радионуклидов, включая 177 Lu и 225 Ac, но в первые моменты времени (обычно через несколько часов после инъекции) показывает высокое поглощение почками. При использовании более короткоживущих радионуклидов, таких как 212 Pb (период полураспада 10,6 часа), начальное поглощение почками представляет потенциальную проблему токсичности.

Поэтому выгодно использовать PSMA-лиганд с меньшим захватом почками, но это не должно ставить под угрозу захват опухоли. Молекулы лиганда PSMA состоят из (1) области связывания PSMA, (2) линкерной области и (3) хелатора, посредством чего линкерная область соединяет (1) и (3). Линкерная область также используется для регулирования размера и полярности молекул и т.д., чтобы влиять на свойства распределения in vivo. Область (мотив) связывания PSMA, используемая в PSMA-617, представляет собой структуру, которую можно найти в нескольких молекулах этого класса, разработанных несколькими разными изобретателями и исследователями.

Эти соединения, содержащие область PSMA, являются оправданными, поскольку в настоящее время все лиганды в тестировании имеют проблемы, включая относительно низкую радиобиологическую эффективность (RBE) и субоптимальное биораспределение.

Хелатирующий фрагмент Z может быть выбран из группы, состоящей из ациклических хелаторов, циклических хелаторов, криптандов, краун-эфиров, порфиринов или циклических или нециклических полифосфонатов, DOTMP, EDTMP, бисфосфоната, DOTA, производного DOTA, памидроната, конъюгированного с DOTMC. Производное TCMC, памидронат, конъюгированный с TCMC, DOTA, конъюгированный с антителом, TCMC, конъюгированный с антителом, HBED-CC, NOTA, NODAGA, TRAP, NOPO, PCTA.

Один из вариантов этого известного изобретения относится к производному мочевины, нацеленному на PSMA, содержащую хелатирующую группу TCMC, такую как p-SCN- Bn-TCMC для хелатирования 212Pb или, предпочтительно DOTA. Например, лиганд p-SCN- Bn-TCMC –PSMA имеет расширенную линкерную группу, включающую изотиоцианатбензильный линкер, а также использует замещенный углеродом хелатор по всем четырем цепям хелатора.

В другом документе EA 201690495, 31.10.2016, описаны меченные ингибиторы простатического мембранного антигена ПСМА, их применение в качестве агентов для визуализации и фармацевтических агентов при терапии рака предстательной железы.

Предочтительные молекулы согласно этому изобретению состоят из трех основных компонентов (схема 1): гидрофильного ПСМА-связывающего мотива (Glu-мочевина-Lys; = Glu-NH-CO-NH-Lys), вариабельного линкера и хелатирующего агента, представляющего собой, предпочтительно DOTA.

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 CH2Cl2 к раствору 1 ммоль трифосгена в 10 мл сухого CH2Cl2 при 5°C в течение 3 часов. После реакции добавляли 0,5 ммоль иммобилизованного на смоле (2-хлортритильная смола) ε-аллилоксикарбонил-защищенного лизина и проводили реакцию в течение 16 часов при осторожном перемешивании.

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-25 защищенной кислоты, 3,96 ммоль HBTU (тетраметил-уроний-гексафторфосфата) и 2 ммоль N-этил-диизопропиламина 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, 30 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., Kramer S., Schuhmacher J., Hull W. E., Eisenhut M., Haberkorn U., Bioconjugate Chem. 2005, 16: 237-240).

Таким образом, в уровне техники было показано (US 20190177345, 13.06.2019; EA 201690495, 31.10.2016), что некоторые соединения, содержащие элемент распознавания–глутамат-мочевина-глутамат (GUG) или глутамат-мочевина-лизин (GUL), связанный с конъюгатом катион металла - лиганд, проявляет высокое сродство к PSMA. Поэтому есть необходимость в создании новых биологических агентов, включающих ПСМА–связывающий лиганд, конъюгированный с хелатирующим агентом для применения их, в частности, для создания фармацевтических препаратов на их основе, которые могут быть использованы в качестве диагностического или терапевтического средства.

Магнитно-резонансная (МРТ) визуализация в диагностике различных заболеваний, в том числе и рака предстательной железы, выгодна тем, что одновременно предоставляет анатомическую, функциональную и молекулярную информацию. МРТ молекулярная визуализация может сочетать высокое пространственное разрешение этого установленного клинического метода с молекулярным профилированием in vivo. Однако в результате изначально низкой чувствительности МР-визуализации требуются высокие локальные концентрации биологических мишеней для создания различимого

МР-контраста. Было предположено, что простатоспецифический мембранный антиген (PSMA), привлекательная мишень для визуализации и терапии рака простаты, может служить подходящим биомаркером для молекулярной визуализации на основе МРТ.

Для большей эффективности магнитно-резонансной (МРТ) визуализациивозникла необходимость в разработке контрастных агентов на основе белков для МРТ с возможностью нацеливания на PSMA.

Идеальный контрастный агент для МРТ для молекулярной визуализации PSMA должен обладать следующими характеристиками. Во-первых, контрастные вещества для МРТ должны иметь нацеленные фрагменты с аффинностью, по крайней мере, в диапазоне мкМ. Во-вторых, контрастные вещества для МРТ должны обладать высокой релаксирующей способностью, чтобы обеспечить значительную разницу в контрасте с участком опухоли до и после введения контрастных веществ.

Из RU 2459832, 20.12.2012 известно изобретение, в котором описано соединение для диагностики рака предстательной железы у человека или животного. Это соединение содержит, по меньшей мере, один направляющий модуль и, по меньшей мере, один детектируемый компонент, где указанный направляющий модуль способен к взаимодействию со специфическим молекулярным маркером рака предстательной железы. Такие соединения могут функционировать в качестве контрастных веществ. Такие специфические маркеры рака предстательной железы могут быть выбраны из группы, содержащей хромогранин А (GRN-A), глутатион-S-трансферазу π (GSTPI), антиген стволовых клеток предстательной железы (PSCA), специфический мембранный антиген предстательной железы (PSMA), DD3PCA3 (DD3) и теломеразную обратную транскриптазу (теломеразу, TERT). Предпочтительным специфическим маркером рака является теломераза. Направляющий модуль может представлять собой любую молекулу, которая способна специфически взаимодействовать со специфическими молекулярными маркерами рака предстательной железы. Как

правило, направляющий модуль будет представлять собой, по меньшей мере, одну из молекул, выбранных из группы, включающей антитела, полипептиды, пептиды, пептидомиметики и низкомолекулярные органические соединения.

Как правило, такие направляющие модули должны быть способны к легкому проникновению в предстательную железу, ткань предстательной железы и клетки, пораженные раком предстательной железы. Предпочтительно применение пептидов, пептидомиметиков и низкомолекулярных органических соединений, о которых известно, что они легко проникают через клеточные мембраны и тканевые барьеры, и которые взаимодействуют с вышеупомянутыми специфическими молекулярными маркерами рака предстательной железы.

В случае TERT направляющий модуль можно предпочтительно выбрать из низкомолекулярных ингибиторов, таких как 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидин, дизамещенные антрахиноны, флуореноны, акридины, соединения на основе тетрациклов, G-квадруплексные ингибиторы на основе порфирина и диимид перилентетракарбоновой кислоты.

Детектируемый компонент может представлять собой любой тип молекулы, которую можно детектировать хорошо известными способами детекции, такими как магнитная резонансная томография (MRI), способы оптической детекции, такие как, например, микроскопия и, предпочтительно, флуоресцентная микроскопия, ультразвук, рентгеновская детекция, позитронно-эмиссионная томография (PET), однофотонная эмиссионная компьютерная томография (SPECT), позитронноэмиссионная томография-компьютерная томография (PET-CT) и т.д. Предпочтительными в настоящее время являются улучшающие контраст вещества, которые можно детектировать посредством PET, такие как 11C и 18F, посредством SPECT, такие как 99mTc, 123/5/131I, 67Ga, посредством оптической детекции, такие как люминесцентные вещества, например, нанофосфоры или полупроводящие нанокристаллы, карбоцианиновые красители, красители на основе тетрапиррола, дельта-аминолевулиновая кислота, флуоресцентные

хелаты лантанидов, флуоресцеин или родственные флуоресцеину флуорофоры, или посредством ультразвуковой эхографии, такие как (инкапсулированные газовые) пузыри, заключенные в капсулу капли или наночастицы.

Таким образом, детектируемый направляющий модуль будет способен к взаимодействию со специфическими молекулярными маркерами рака предстательной железы, такими как вышеупомянутые GRN-A, GSTPI, PSCA, PSMA, DD3 и TERT.

В настоящее время не существует радикального лечения нерезектабельных опухолей, в частности опухолей простаты. Концентрации лекарственных средств, которые могли бы полностью уничтожить опухоль, обычно нельзя достичь из-за ограничивающих дозу побочных действий, таких как токсичность для желудочно-кишечного тракта и костного мозга. Кроме того, у опухолей после продолжительного лечения может развиваться резистентность противораковых средств. Из-за высокой смертности и болезненности, связанной с прогрессированием заболевания, крайне необходимо развитие новых способов и средств направленной терапии. Поэтому при разработке современных лекарственных средств нацеливание цитотоксических средств на область опухоли может рассматриваться как одна из важнейших задач.

Таким образом, в уровне техники было показано (US 20190177345, 13.06.2019; EA 201690495, 31.10.2016), что некоторые соединения, содержащие элемент распознавания–глутамат-мочевина-глутамат (GUG) или глутамат-мочевина-лизин (GUL), связанный с конъюгатом катион металла - лиганд, проявляет высокое сродство к PSMA. Поэтому есть необходимость в создании новых биологических агентов, включающих ПСМА–связывающий лиганд, конъюгированный с хелатирующим агентом для применения их, в частности, для создания фармацевтических препаратов на их основе, которые могут быть использованы в качестве диагностического или терапевтического средства.

Для этой цели были разработали различные агенты визуализации для PSMA, которые используют оптическую, ядерную и МРТ-визуализацию.

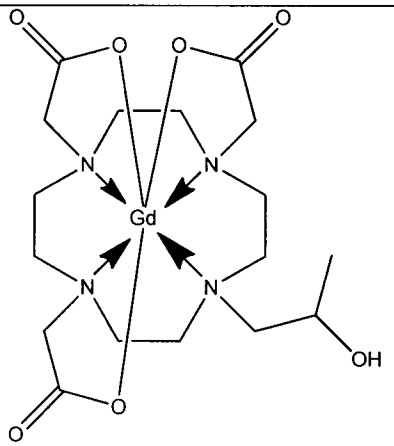
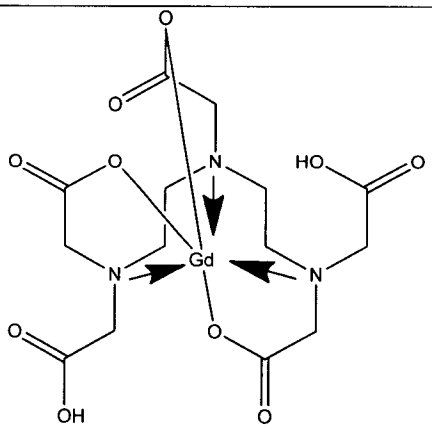
Для присоединения больших молекулярных фрагментов, таких как комплексы радиометаллов (99mTc, 68Ga, 111In) , к наночастицам , была разработан агент для визуализации, содержащий фрагмент, нацеленный на PSMA, линкер для фармакокинетической настройки и хелатирующий агент. Сделано было предположение, что PSMA будет подходящим биомаркером для МРТ молекулярной визуализации из-за внеклеточного расположения сайта связывания лиганда и расчетной высокой концентрации рецептора на клетку (около 3,2 мкМ / объем клетки; см. Вспомогательную информацию). Чтобы проверить гипотезу, мы синтезировали три нацеленных на PSMA агента, несущих один, два или три комплекса GdIII, Gd1, Gd2 и Gd3, соответственно (рис. 1). Затем мы оценили аффинность связывания PSMA и релаксацию синтезированных агентов. Поглощение клетками агентов в клетках, экспрессирующих PSMA, и изогенных неэкспрессирующих контрольных клетках оценивали с помощью масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS). Наконец, способность агентов отличать клетки, экспрессирующие PSMA, от контрольных клеток, оценивали как in vitro, так и in vivo с помощью МР-визуализации.

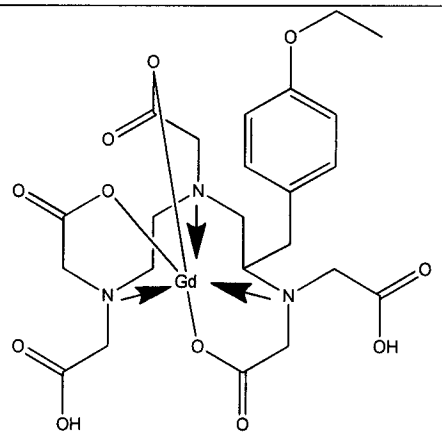
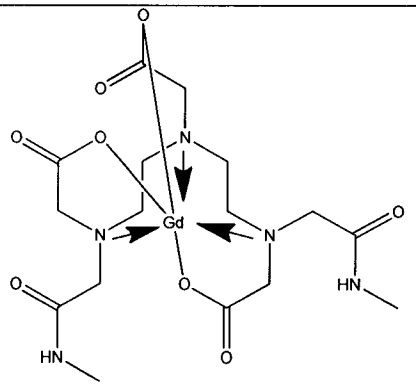
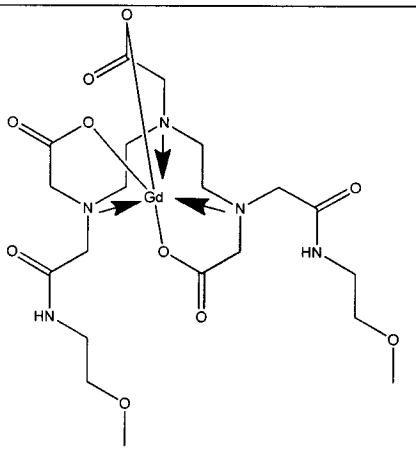
Для приготовления контрастных веществ были разработаны многоэтапные методы синтеза в фазе раствора. Мочевина Lys-Glu использовалась в качестве нацеливающего фрагмента для PSMA. К этой целевой группе были добавлены различные количества основного макроциклического хелатирующего агента 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триуксусной кислоты (DO3A) или 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4, 7,10-тетрауксусная кислота (DOTA). Gd1 содержит хелатирующий агент п-изотио-цианатобензил ДОТА (DOTA-Bn-SCN). Структура Gd1 основана на свинцовом 86Y-меченном визуализирующем агенте для позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), который продемонстрировал высокое и специфическое накопление опухоли в доклинической модели. Gd2 был получен путем конъюгации α- и η -амины лизина с DO3A-NHS, используя стратегию синтеза пептидов на основе раствора. В тех же условиях выходы реакций сочетания были значительно улучшены, когда реакцию проводили в бане для обработки ультразвуком при комнатной температуре. Gd3

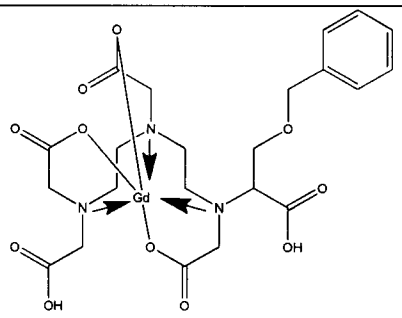
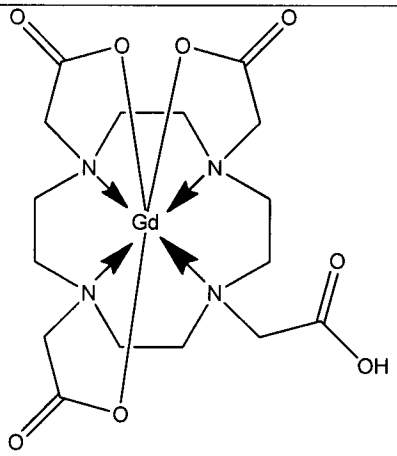
содержит фенольное ядро, с которым три хелатора GdIII-DOTA были связаны жесткими триазольными связями, с этим ядром конъюгировали функциональную группу, нацеленную на PSMA, через фенольный кислород. Агенты очищали обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ) и характеризовали масс-спектрометрией. Чтобы установить любые потенциально отрицательные эффекты GdIII-содержащей части агентов на аффинности связывания зондов, были определены значения константы ингибирования PSMA (Ki) для агентов Gd1, Gd2 и Gd3, которые перечислены в таблице 1. В качестве лиганда сравнения использовали известный высокоаффинный ингибитор PSMA N - {[((S) -1-карбокси-3-метилбутил) амино] карбонил} -L-глутаминовая кислота (ZJ43). Все агенты сохраняли высокую аффинность связывания со значениями Ki в низком наномолярном диапазоне (Gd1> Gd3> Gd2).

Для определения специфичности Gd1 – Gd3 использовали изогенные клетки рака предстательной железы человека PC3, генетически модифицированные для экспрессии высоких количеств PSMA (PC3 PIP) и соответствующих неэкспрессирующих PSMA клеток дикого типа (грипп PC3; PIP и flu - это названия, исторически связанные с клетками PSMA + PC3 и PSMA-PC3. После инкубации с Gd1 или Gd2 осажденные клетки PC3 PIP (PSMA +) и PC3 flu (PSMA-) не демонстрировали какого-либо значимого T1-взвешенного МР-контраста или изменений скорости релаксации (R1). И наоборот, T1-взвешенные изображения после инкубации с Gd3 показали значительное усиление МР-контраста в клетках PC3 PIP (PSMA +) по сравнению с немечеными клетками, а также с осадками клеток гриппа PC3 (PSMA-) Клетки, инкубированные с Gd3 в присутствии ZJ43, показали лишь незначительные изменения значения T1 в обоих типах клеток, что указывает на то, что ZJ43 способен специфически блокировать связывание Gd3. Эти результаты показали, что Gd3 проявлял рецептор-специфическое связывание клеток с клетками PC3 PIP (PSMA +) и демонстрировал опосредованное PSMA усиление контраста.

На территории России в настоящее время зарегистрированы гадолиний-содержащие контрастные препараты для МРТ диагностики:

ЛП в ЖНВЛП	**Структура**
Прохэнс, ЛП-001781, Бракко Свисс – Швейцария.	
Магневист, П N015832/01, Байер – Германия; Полисан –Россия.	
Гадопентетовая кислота, ЛП-006180, ООО «Джодас Экспоим» - Россия/Индия.	
Гадопентетовая кислота – ТЛ, ЛП-004716, ООО «Технология лекарств», ФГУП «Фармзащита».	

Примовист, ЛСР-003252/07, Байер – Германия	
Омнискан, П N015800/01, Джии Хелскеа – Норвегия.	
Гадодиамид, ЛП-002763, ООО «Джодас Экспоим» - Россия/Индия.	
Гадодиамид-ТЛ, ЛП-004291, ООО «Технология лекарств», ФГУП «Фармзащита».	
Мирадоскан, ЛП-007013, ООО «Фармасинтез-Тюмень»	
-	

Мультихэнс, ЛП-002084, Бракко Имажинг – Италия.	
Дотарем, П N010463, Гербе - Франция	
Кларискан, ЛП-006111, Джии Хелскеа – Норвегия.	
Гадотеровая кислота-ТЛ, ЛП-006699, АО Р-Фарм - Россия	
Гадотеровая кислота ДЖ, ЛП-006737, ООО «Джодас Экспоим» - Россия/Индия.	

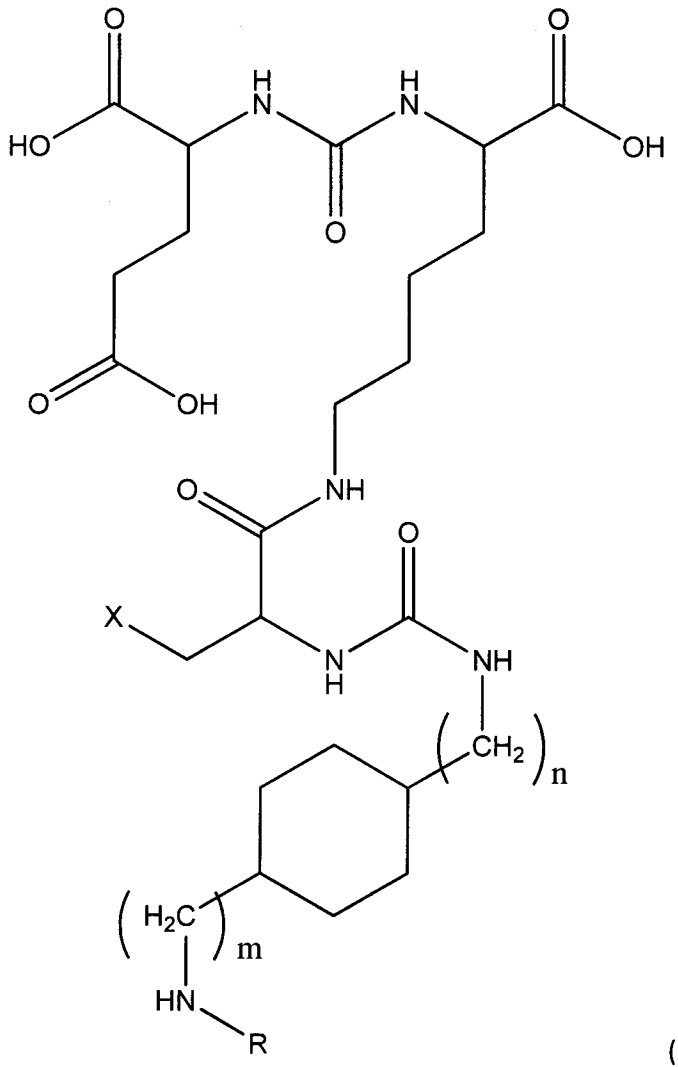
Но нет ни одного препарата, селективно накапливающегося именно в клетках РПЖ. Данная разработка рассчитана на достижение уменьшения необходимой концентрации гадолиния по сравнению с существующимипрепаратами, не обладающими селективным воздействием.

Технической задачей заявленного изобретения является разработка новых контрастных агентов для визуализации на основе пептидов для МРТ с возможностью нацеливания на PSMA для большей эффективности при диагностике рака предстательной железы (РПЖ) с помощью магнитно-резонансной (МРТ) и расширение ассортимента таких эффективных контрастных агентов для визуализации, усиление контраста

Техническим результатом заявленного изобретения в соответствии с поставленной технической задачей является повышение эффективности и расширение ассортимента таких эффективных контрастных агентов для

визуализации, усиление контраста при диагностики с целью раннего выявления и последующего лечения РПЖ.

Поставленная техническая задача и технический результат достигаются новым комплексными соединениями гадолиния, включающими ПСМА–связывающий лиганд, конъюгированный с хелатирующими агентами, в качестве контрастного вещества для визуализации рака предстательной железы у человека или животного на МРТ на основе пептида и Gd^{+3}, содержащие направлющий модуль, способный взаимодействовать со специфическим маркером рака предстательной железы, представляющим собой специфический мембранный антиген предстательной железы PSMA (ПСМА) и детектируемый компонент, где направляющий модуль представляет собой молекулу соединения, включающего ПСМА-связывающий лиганд, конъюгированный с хелатирующим агентом, при этом в качестве детектируемого компонента молекула соединения содержит компонент для детекции на основе иона парамагнетика Gd^{+3}, такой как хелат гадолиния, а молекула соединения, включающая ПСМА-связывающий лиганд, конъюгированный с хелатирующим агентом, отвечает общей структурной формуле (I)

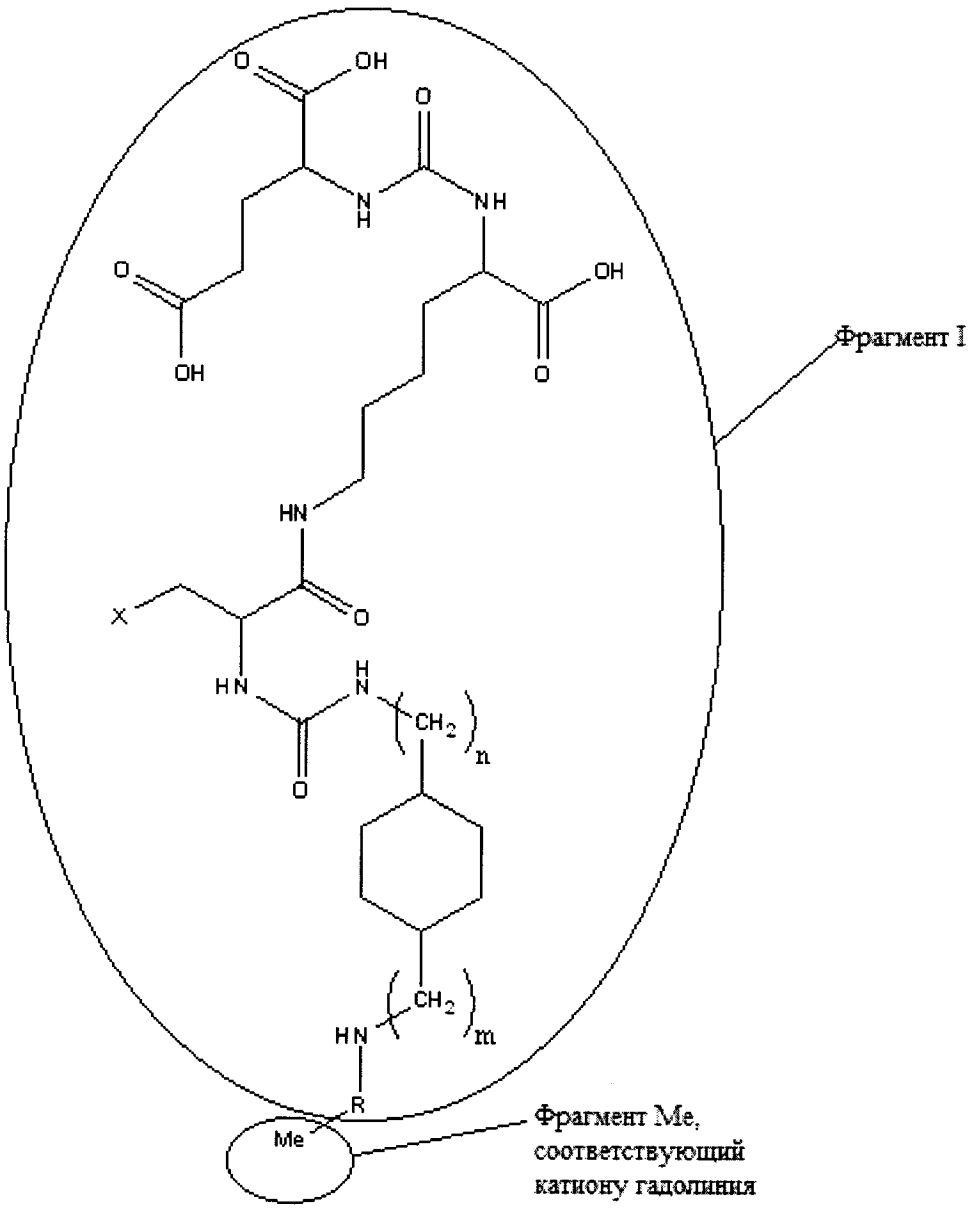


(I)

где “m”,”n”, “X” и “R” имеют следующие значения:

n:	0; 1
m:	0; 1
X:	нафтил (наиболее предпочтительно), фенил, бифенил, индолил (=2,3-бензопирролил), бензотриазолил, п-йодфенил, п-бромфенил.

R – фрагмент, соответствующий бифункциональным хелатирующим агентам приведенным ниже, входящий в состав соединения (I) за счет образования амидной связи и способный образовывать координационные связи с катионом гадолиния ^{+3}Gd.



(I)

где Me – фрагмент, соответствующий катиону гадолиния, кроме радиоактивного изотопа ^{159}Gd, а I – фрагмент, соответствующий органической молекуле соединения, в котором “m”,”n”, “X” и “R” имеют следующие значения:

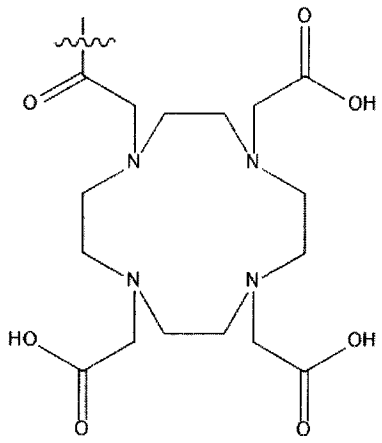
n:	0; 1
m:	0; 1
X:	нафтил (наиболее предпочтительно), фенил, бифенил, индолил (=2,3-бензопирролил), бензотриазолил, п-йодфенил, п-бромфенил.

В заявленном контрастном веществе по изобретению, в качестве хелатирующих агентов (R) используют следующие соединения, выбранные из группы, включающей:

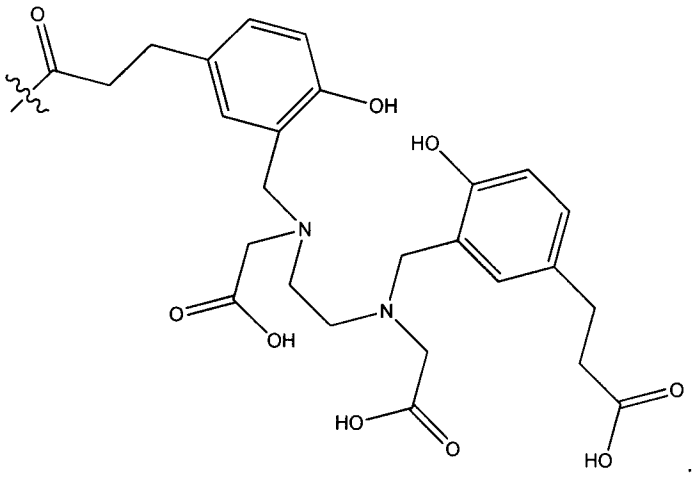
N,N'-бис[2-гидрокси-5-(карбоксиэтил)бензил]этилендиамин-N,N"-диуксусная кислота(-HBED-CC);2-(4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)пентандиовая кислота (-DOTAGA); 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота (-DOTA) ; 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1,4,8,11-тетрауксусная кислота (-TETA); 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1,4,8,11-тетрапропионовая кислота (-TETPA; Диэтилентриаминпентауксусная кислота (-DTPA); Транс-циклогексил-диэтилентриаминпентауксусная кислота (-CHX-DTPA).

Ниже приведены структурные формулы этих соединений:

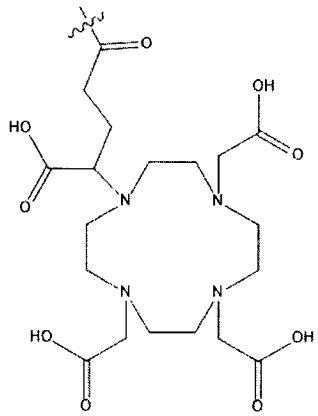
1. 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота (-DOTA);



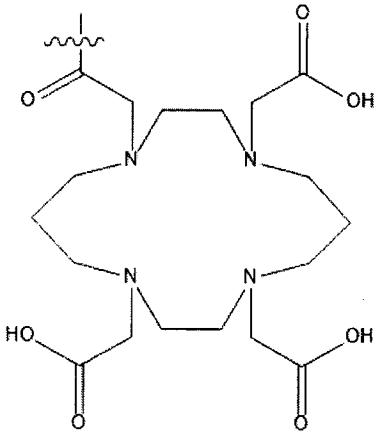
2. N,N'-бис[2-гидрокси-5-(карбоксиэтил)бензил]этилендиамин-N,N"-диуксусная кислота (-HBED-CC);



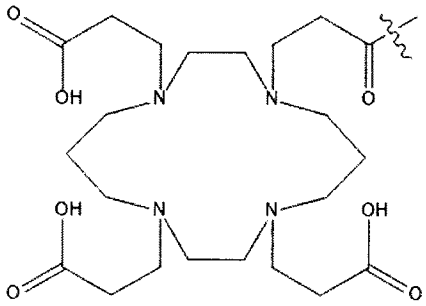
3. 2-(4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)пентандиовая кислота (-DOTAGA);



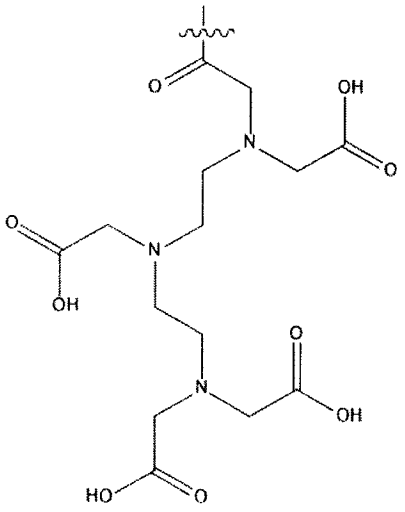
4. 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1,4,8,11-тетрауксусная кислота (-ТЕТА);



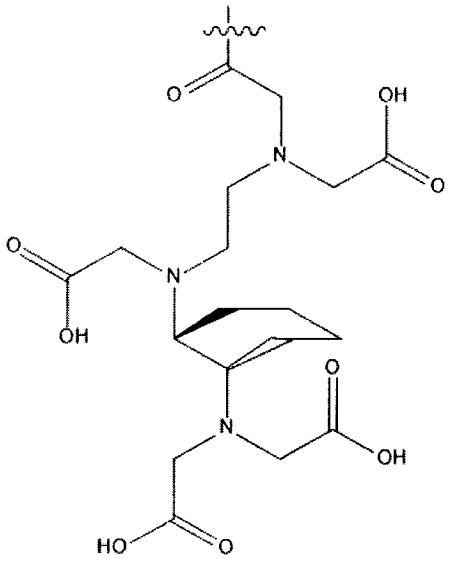
5. 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1,4,8,11-тетрапропионовая кислота (-TETPA);



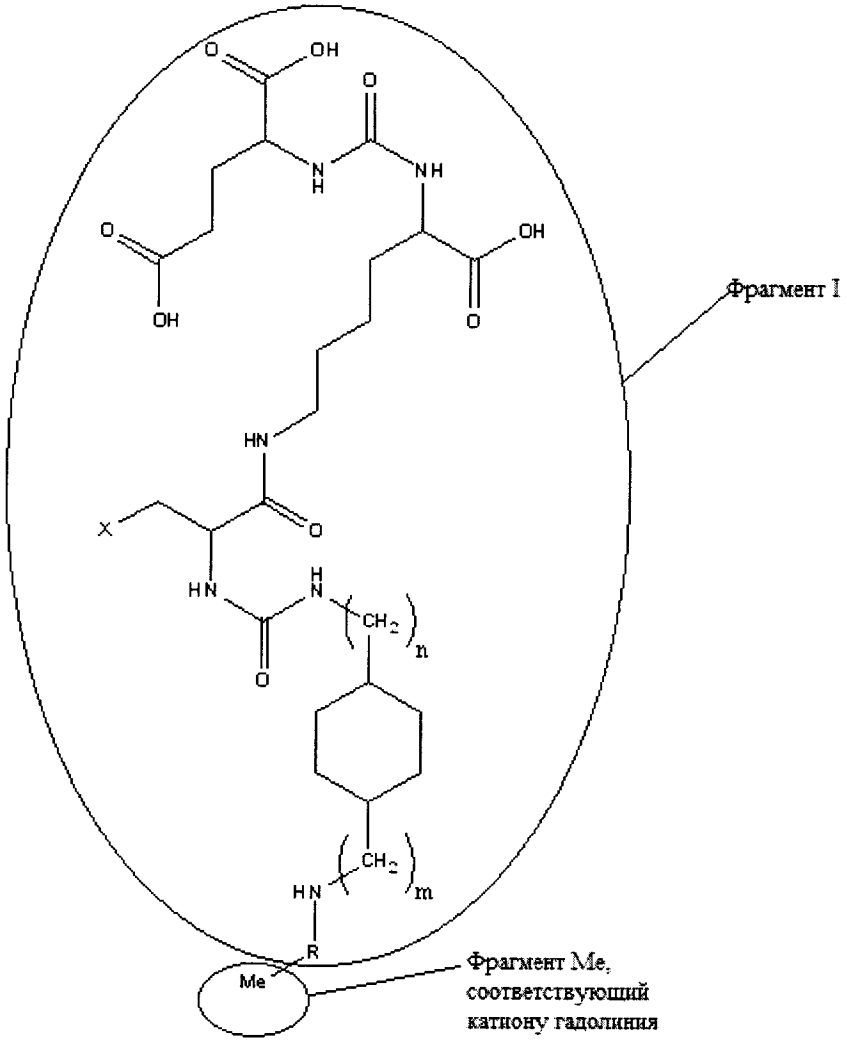
6. Диэтилентриаминпентауксусная кислота (-DTPA);



7. Транс-циклогексил-диэтилентриаминпентауксусная кислота (-CHX-DTPA);

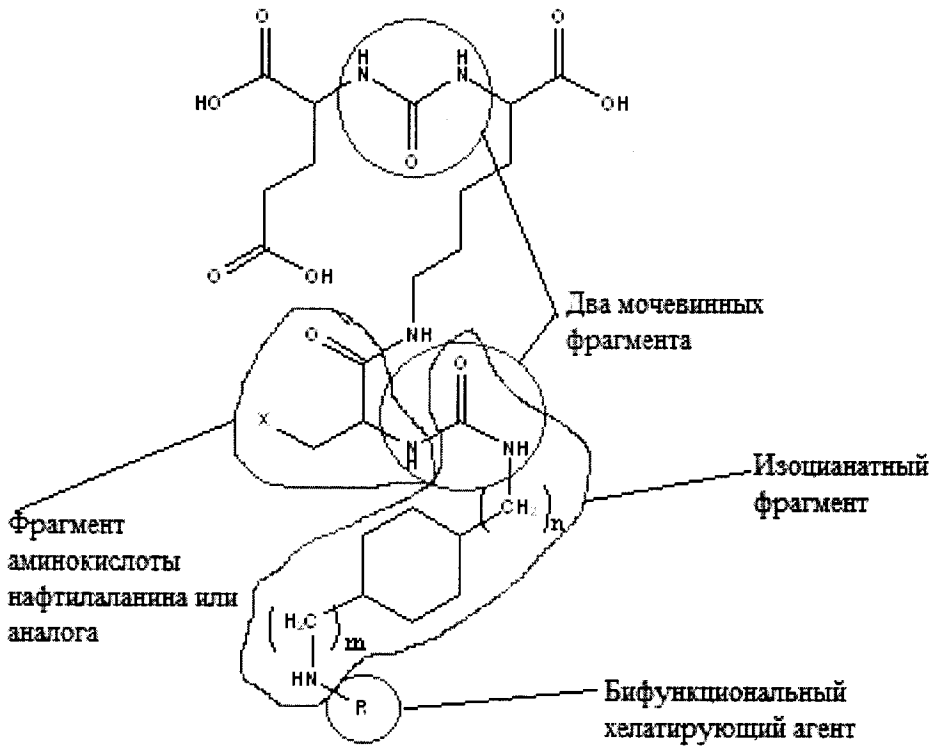


Ниже приведена подробная структура химического соединения формулы (I) с указанием в ней структурных фрагментов:



(I)

или со следующими обозначенными в ней (структурной формуле) структурных фрагментов:

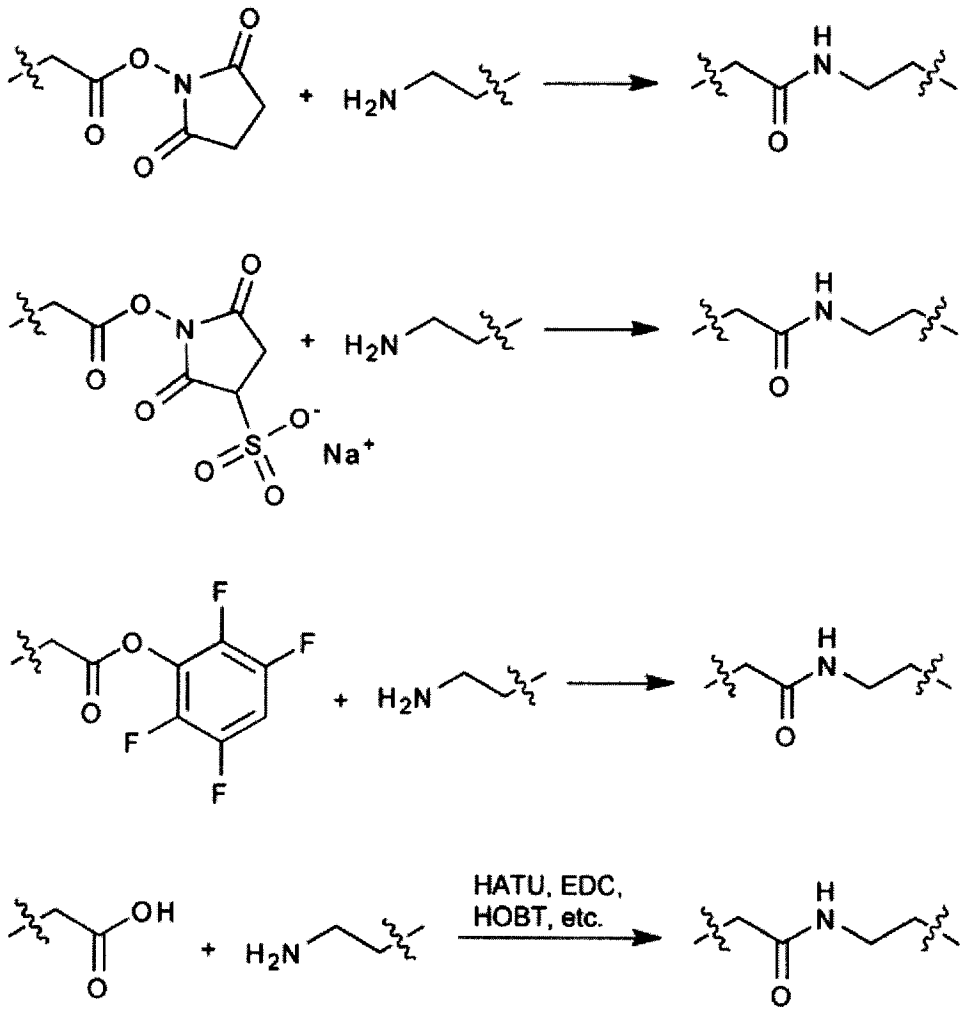


Молекула химического соединения общей структуры (I) включает в себя вышеуказанный хелатирующий агент R.

Итак, заявленное изобретение описывает комплексные соединения парамагнетика гадолиния GdIII (Gd^{+3}), включающие ПСМА-связывающий лиганд, конъюгированный с хелатирующими агентами, используемого в качестве контрастного вещества для МРТ исследований простатспецифического мембранного антигена ПСМА экспрессирующих опухолей предстательной железы и метастазов.

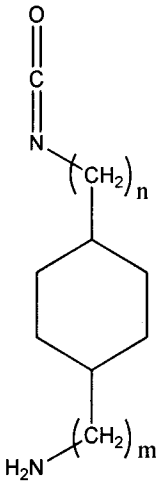
Все вышеобозначенные хелатирующие агенты R входят в состав молекулы соединений общей структуры I за счет образования амидной связи. Конъюгирование бифункцционального агента R в состав молекулы соединений общей структуры I может проходить с использованием различных способов активации карбоксильной группы фрагмента R, при этом, участвующие в образовании амидной связи карбоксильные группы при необходимости защищаются, например, трет-бутильным фрагментом [«A practical guide to the construction of radiometallated bioconjugates for positron emission tomography» Brian M. Zeglis and Jason S. Lewis, / Dalton Trans./ , 2011, 40, 6168–6195].

При проведении экспериментальных работ использовалась активация карбоксильной группы реагентами пептидного связывания, однако, это не должно ограничивать объект заявляемого на защиту решения использованием только такого способа активации карбоксильной группы.



Образование пептидной связи посредством реакции первичного амина с активированной карбоновой кислотой, соответствующей бифункциональному хелатирующему агенту R, с сукцинимидиловым эфиром (NHS),сульфосукцинимидиловым эфиром (SNHS), тетрафторфенолом (TFP) или реагентом пептидного связывания [A practical guide to the construction of radiometallated bioconjugates for positron emission tomography» Brian M. Zeglis and Jason S. Lewis, / Dalton Trans./ , 2011, 40, 6168–6195].

В качестве изоцианатного фрагмента могут быть использованы молекулы:



В которых m = 0; 1 и n = 0; 1 при этом, наиболее предпочтительно m = 1, n = 0 или m = 1, n = 1. Аминогруппа изоцианатного фрагмента защищена Cbz-защитой, либо Fmoc-защитой, либо Boc-защитой. Cbz-защита наиболее предпочтительна и использовалась нами при синтезе. Использование изоцианата с Boc-защищенной аминогруппой, как показала практика, обладает недостатком – в процессе гидролиза метилового эфира в реакционной смеси получается циклический побочный продукт – гидантоин (более подробно в примерах). Изоцианат с Fmoc-защитой нами не использовался, но возможность его применения с целью синтеза молекулы общей структуры I остается.

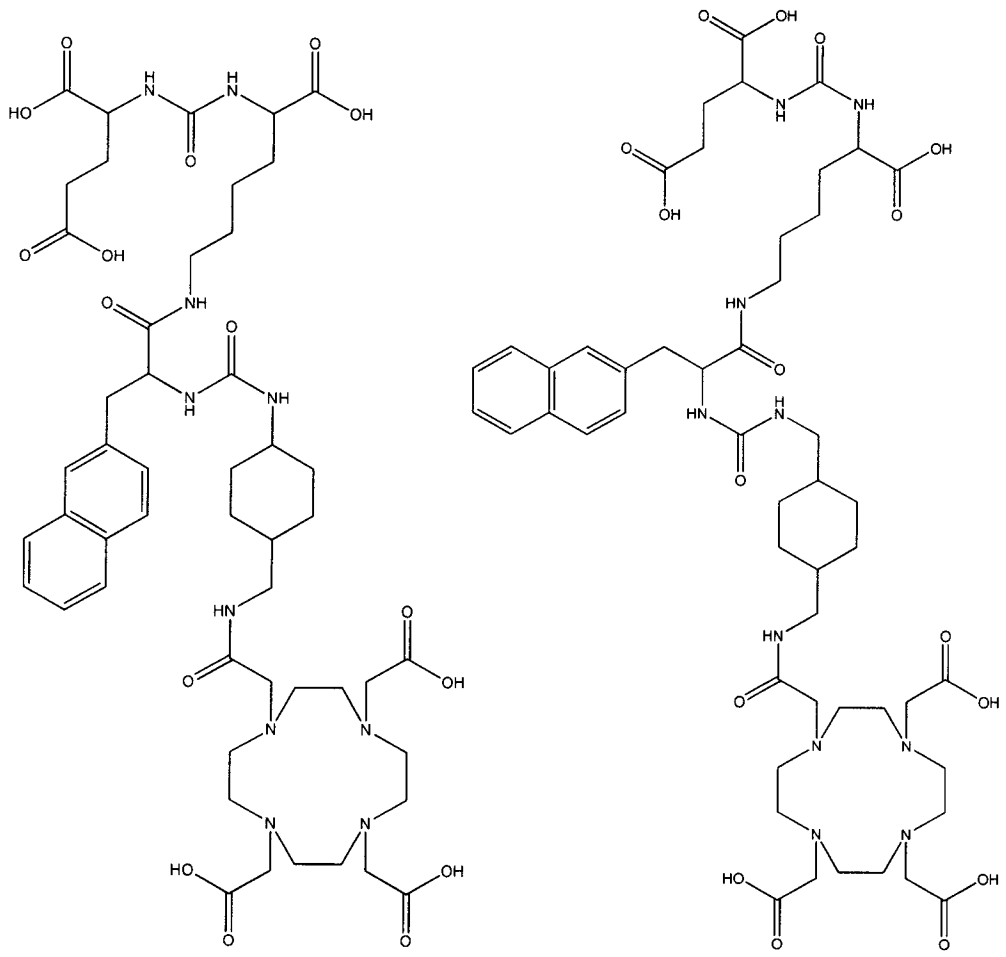
Основным отличием от EA 201690495 является создание молекулы общей структуры I, содержащей в своем составе два мочевинных фрагмента, это сделано с целью возможного увеличения связывания молекул общей структуры I с активными центрами в клетках ЗНО рака предстательной железы, отвечающими за взаимодействие с мочевинным фрагментом [«Design, Synthesis, Computational, and Preclinical Evaluation of natTi/ 45Ti-Labeled Urea-Based Glutamate PSMA Ligand» Kristina Søborg Pedersen, Christina Baun, Karin Michaelsen Nielsen, Helge Thisgaard, Andreas

Ingemann Jensen and Fedor Zhuravlev, / Molecules / 2020, 25, 1104].

Помимо изоцианатного фрагмента, второй мочевинный фрагмент в молекуле общей структуры I формирует аминокислота, содержащая фрагмент X. Наиболее предпочтительной аминокислотой является нафтилаланин. В заявке на патент EA 201690495 это было показано. Однако, не исключается возможность использования в качестве фрагмента X и других неполярных, либо слабополярных фрагментов, а именно: фенил, индолил (=2,3-бензопирролил), бензотриазолил, п-йодфенил, п-бромфенил.

Таким образом, с учетом вышеизложенного, молекула соединения общей структуры I может содержать различные бифункциональные хелатирующие агенты R в своем составе, изоцианатные фрагменты, отличающиеся количеством метиленовых групп, а также аминокислоты, отличающихся фрагментом X и образующих мочевинную связь с изоцианатным фрагментом.

Обозначение молекул соединений общей структуры I на примере молекул DOTA-PSMA-415 и DOTA-PSMA-1201. Методика их синтеза будет приведена в разделе «примеры».



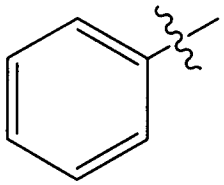
(а) (б)

Структурные формулы молекул соединений общей структуры I: DOTA-PSMA-415 (а), DOTA-PSMA-1201 (б).

В названии первым указывается хелатор R, далее обозначается сочетание остальных фрагментов молекулы соединения I. При использовании изоцианатного фрагмента с m = 1, n = 0, а в качестве аминокислоты – нафтилаланин и в качестве фрагмента X – нафтил, то это PSMA-415. При использовании изоцианатного фрагмента с m = 1, n = 1, а в качестве аминокислоты – нафтилаланин и в качестве фрагмента X – нафтил, то это PSMA-1201.

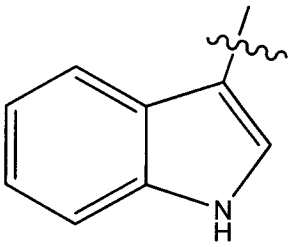
При изменении фрагмента X, это отображается в названии соединения (на примере соединения DOTA-PSMA-415):

- если X = фенил, изоцианатному фрагменту соответствует m = 1, n = 0, а хелатор = DOTA, то после названия молекулы общей структуры I в скобках указывается (Ph):



Структура фрагмента X в молекуле DOTA-PSMA-415(Ph);

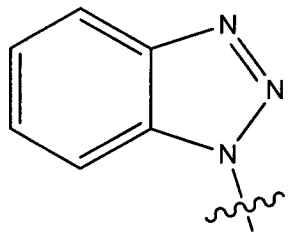
- если X = индолил, изоцианатному фрагменту соответствует m = 1, n = 0, а хелатор = DOTA, то после названия молекулы общей структуры I в скобках указывается (Ind): DOTA-PSMA-415(Ind);



*Структура фрагмента X в молекуле DOTA-PSMA-415(*Ind*);*

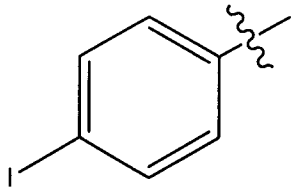
- если X = бензотриазолил, изоцианатному фрагменту соответствует m = 1, n = 0, а хелатор = DOTA, то после названия молекулы общей структуры I в скобках указывается (Btr): DOTA-PSMA-415(Btrz);

•



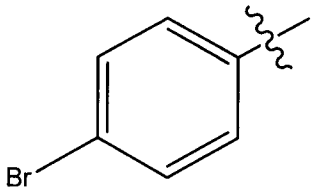
*Структура фрагмента X в молекуле DOTA-PSMA-415(*Btrz*);*

если X = п-йодфенил, изоцианатному фрагменту соответствует m = 1, n = 0, а хелатор = DOTA, то после названия молекулы общей структуры I в скобках указывается (IPh): DOTA-PSMA-415(IPh);



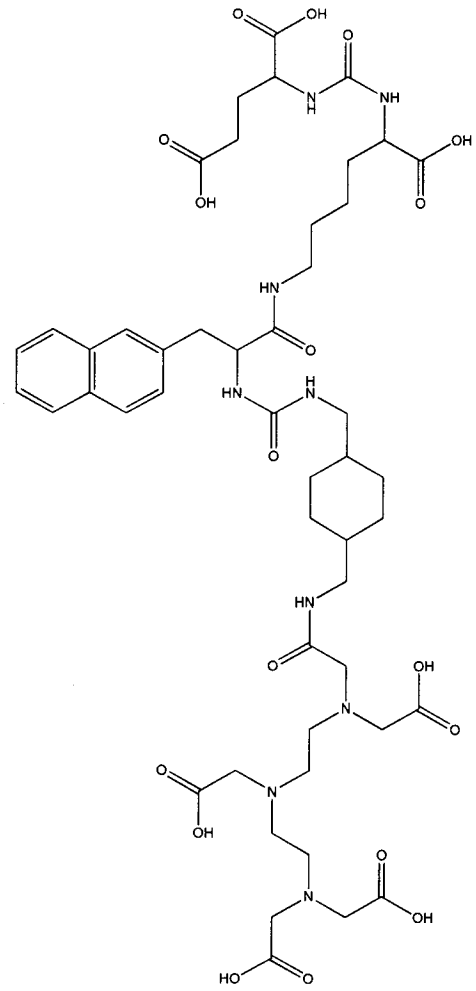
*Структура фрагмента X в молекуле DOTA-PSMA-415(*IPh*);*

если X = п-бромфенил, изоцианатному фрагменту соответствует m = 1, n = 0, а хелатор = DOTA, то после названия молекулы общей структуры I в скобках указывается (BrPh): DOTA-PSMA-415(BrPh).

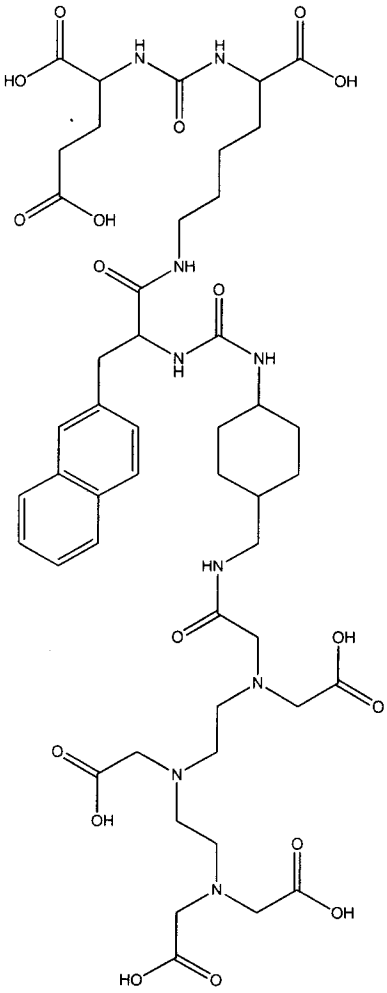


*Структура фрагмента X в молекуле DOTA-PSMA-415(*BrPh*);*

При замене хелатора DOTA на хелаторы, описанные выше, возможны к получению молекулы:

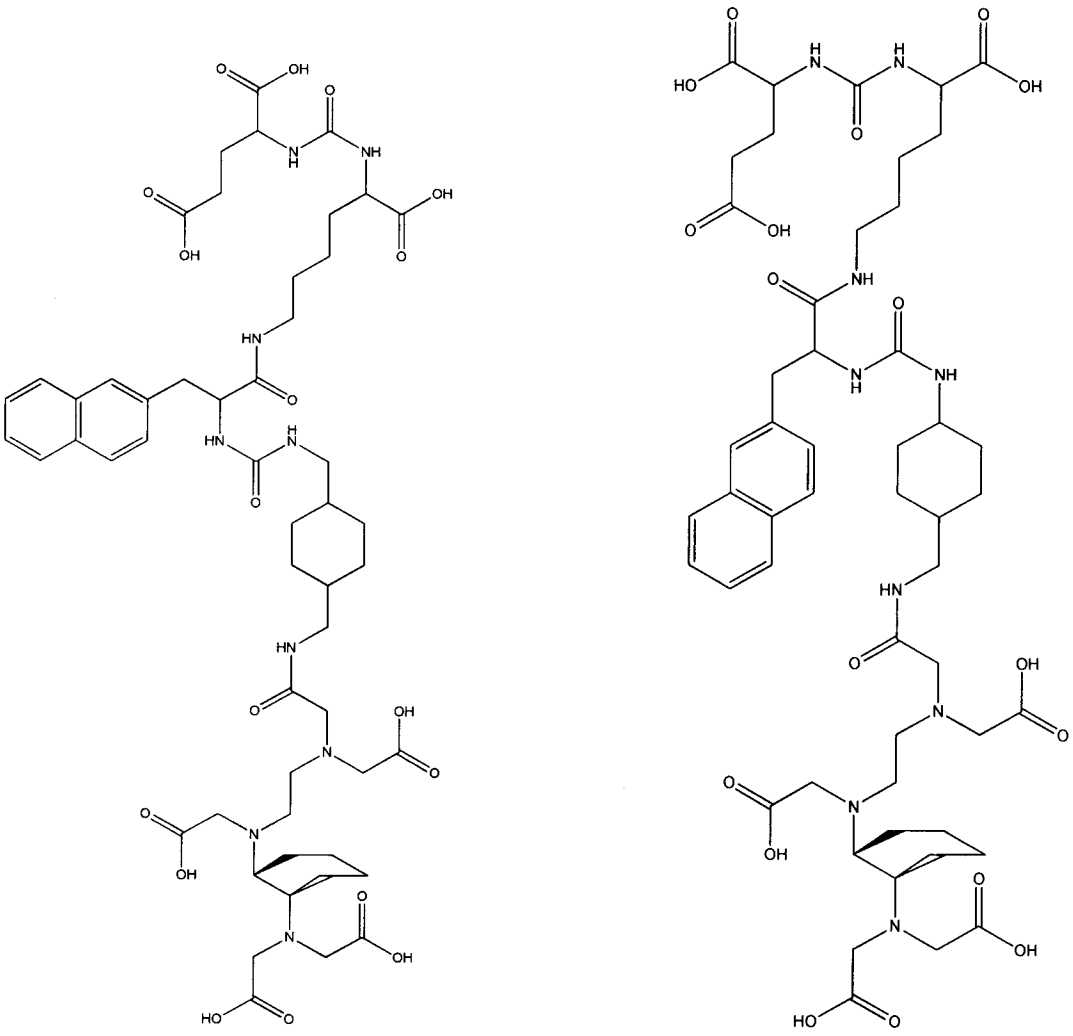


(а)



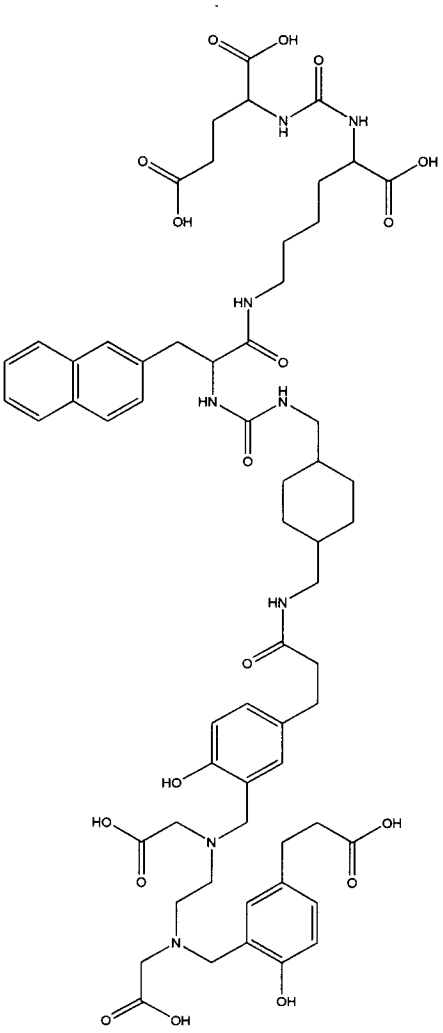
(б)

Молекулы: DTPA-PSMA-1201 (а); DTPA-PSMA-415 (б).

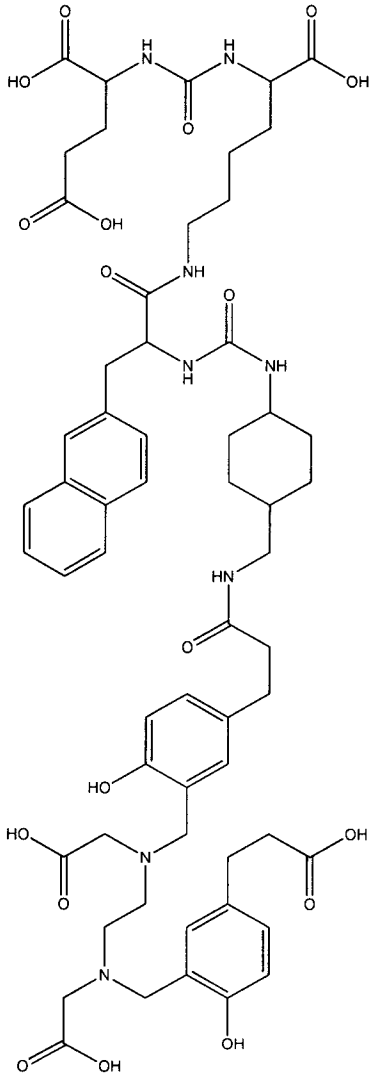


(а) (б)

Молекулы: CHX-DTPA-PSMA-1201 (а); CHX-DTPA-PSMA-415 (б).

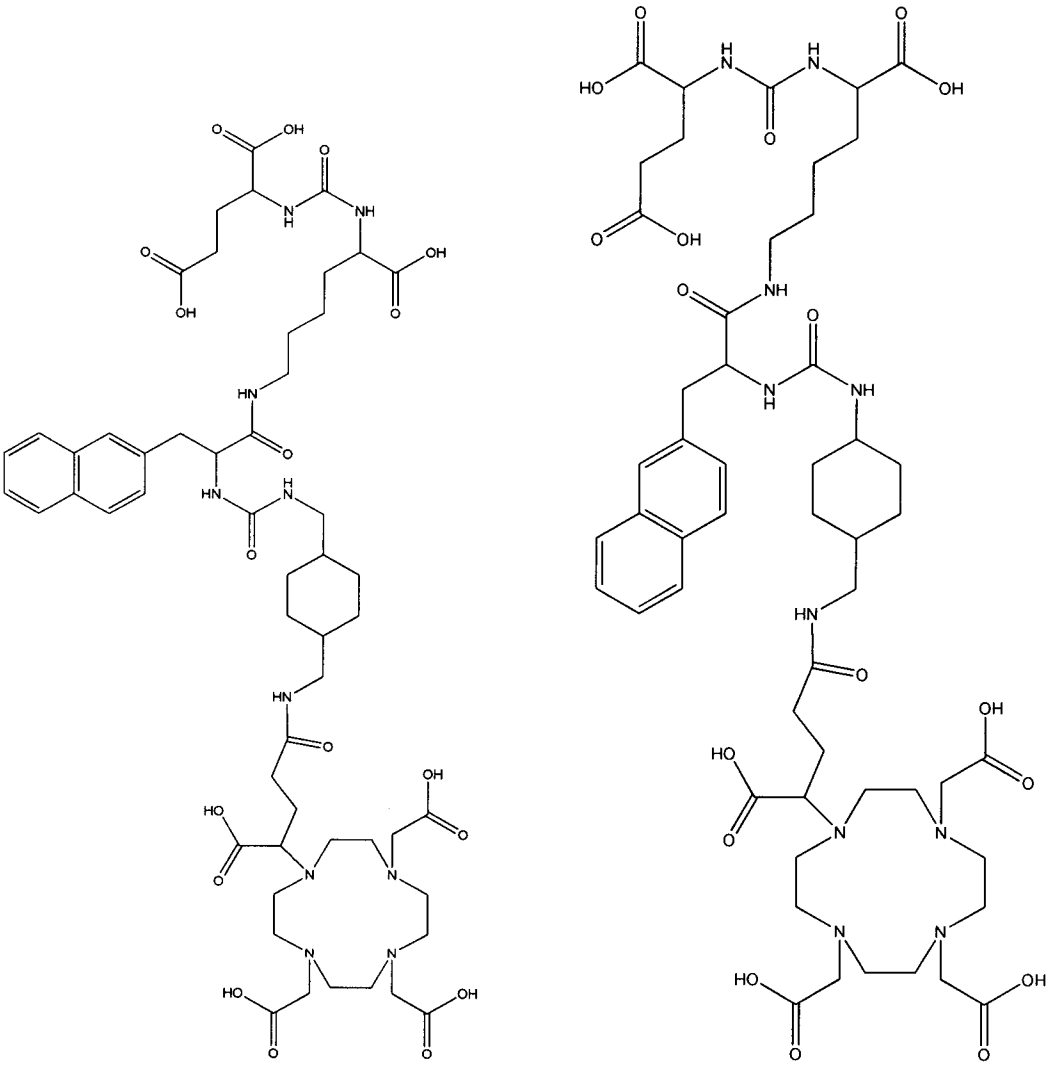


(а)



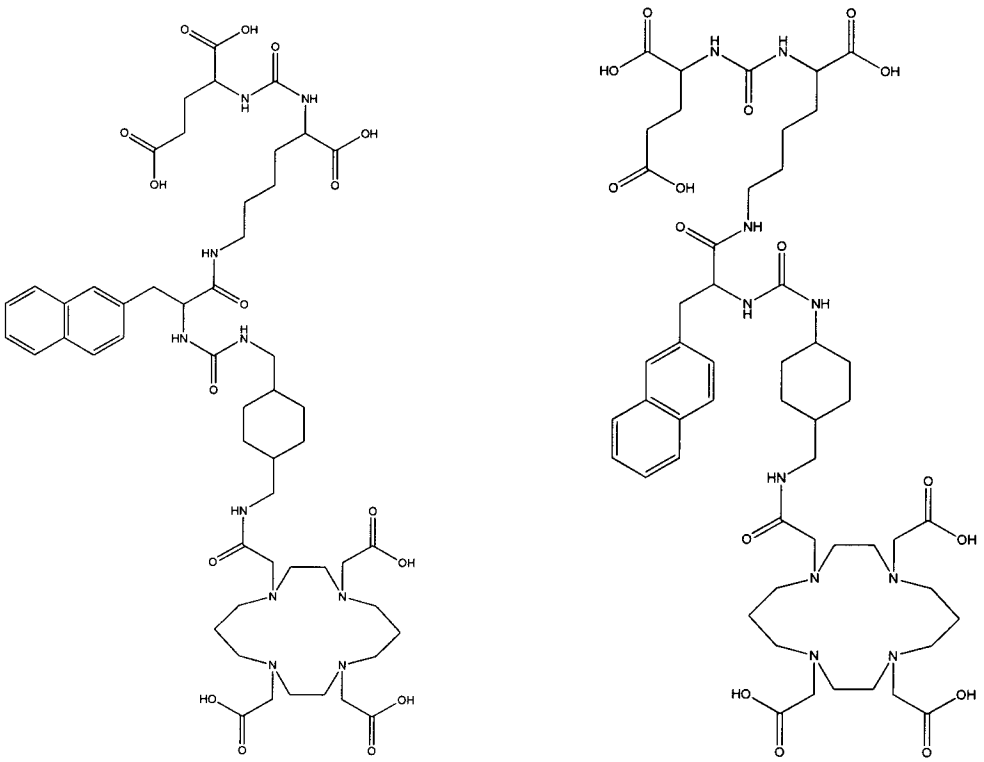
(б)

Молекулы HBED-CC-PSMA-1201 (а); HBED-CC-PSMA-415 (б).



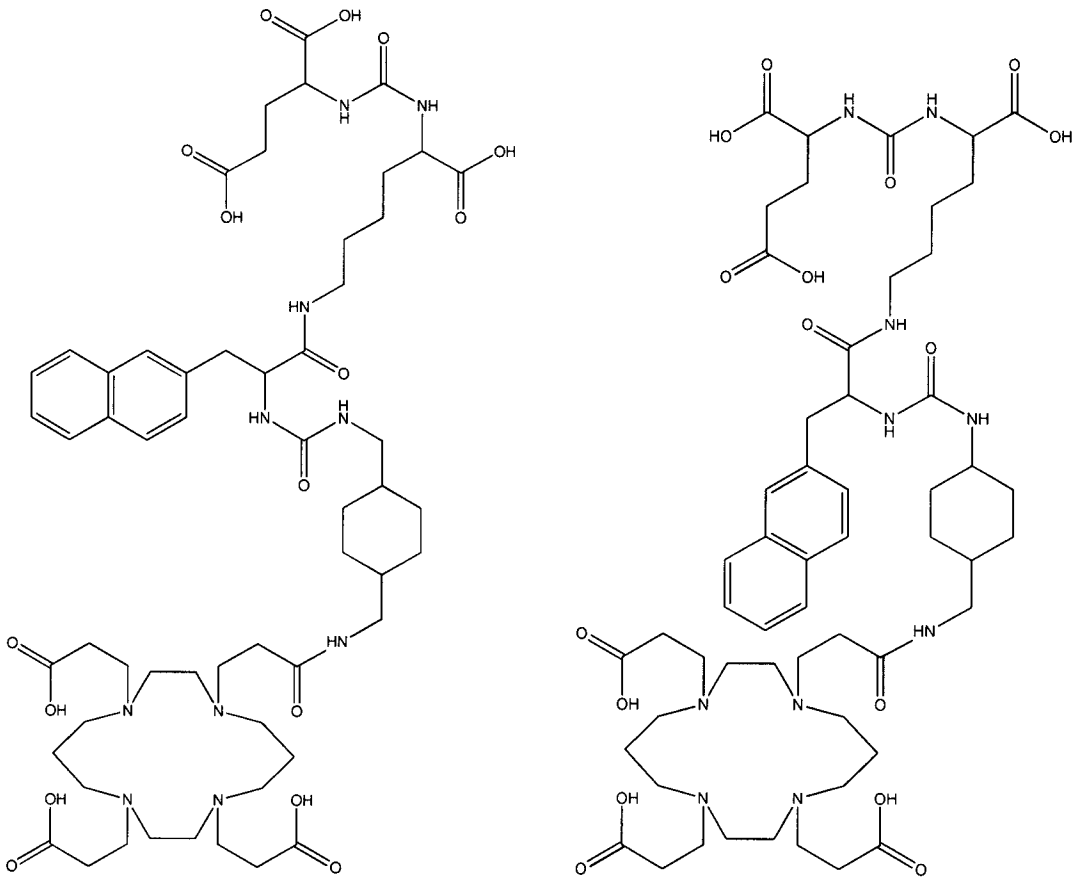
(а) (б)

Молекулы DOTAGA-PSMA-1201 (а); DOTAGA-PSMA-415 (б).



(а) (б)

Рисунок 40: молекулы TETA-PSMA-1201 (а); TETA-PSMA-415 (б).



(а) (б)

Рисунок 41: молекулы TETPA-PSMA-1201 (а); TETPA-PSMA-415 (б).

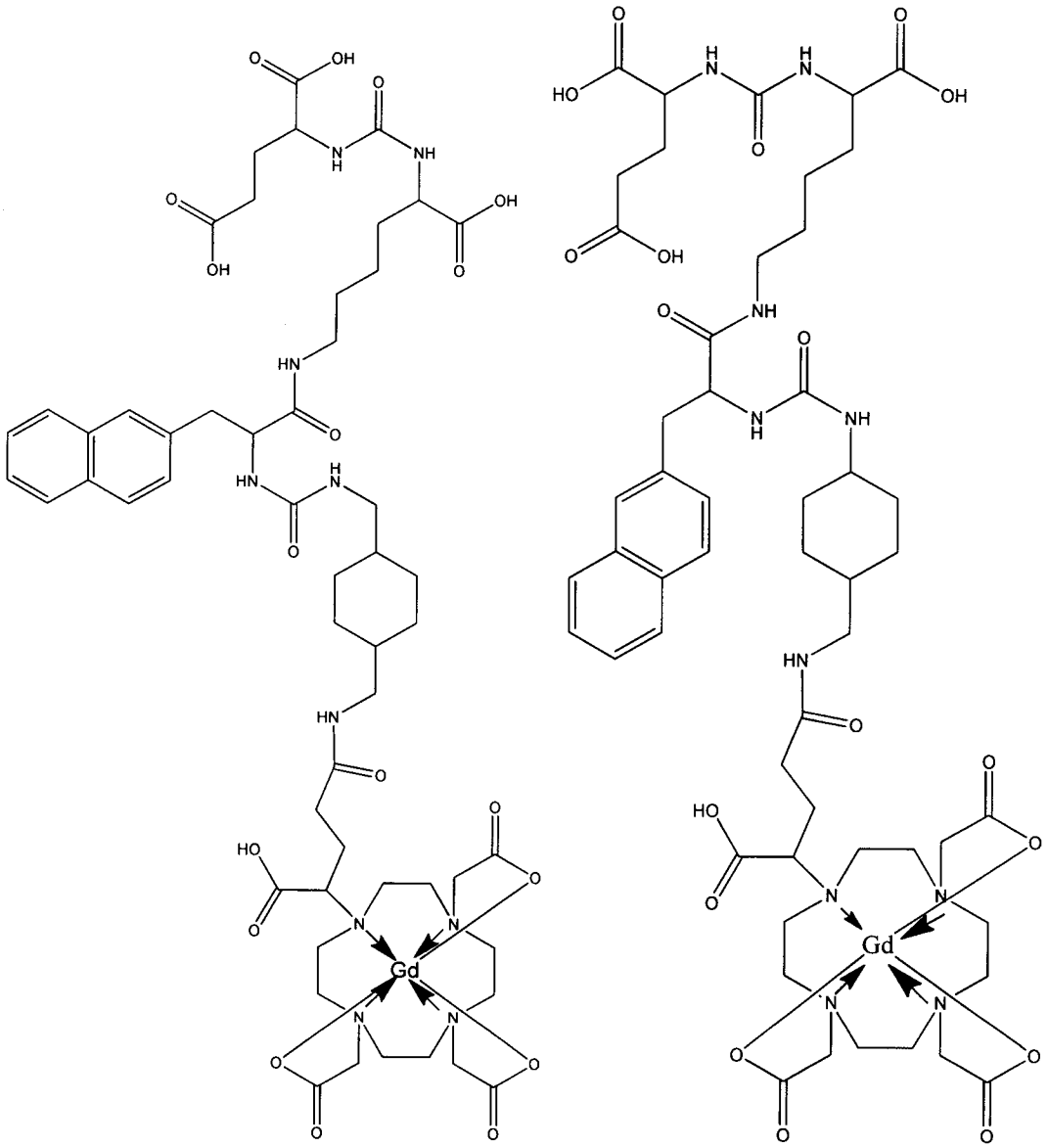
Одним объектом заявляемого изобретения является комплексное соединение общей структуры Me-I, в котором фрагменту (I) соответствует описанная выше молекула соединения (I), а фрагменту Me – катион металла парамагнетика гадолиния ^{+3}Gd, кроме радиоактивного изотопа гадолиния - ^{159}Gd. То есть во всех ниже приведенных структурных формулах под обозначением Gd следует понимать ^{+3}Gd.

Как было отмечено выше, за комплексообразование между молекулой соединения (I) и катионом металла Me отвечает бифункциональный хелатирующий агент R. Гадолиний обладает степенью окисления +3 и способен образовывать устойчивые комплексные соединения с бифункциональными хелатирующими агентами R в составе молекул соединений (I).

Далее в разделе «примеры» будут описаны методики получения некоторых комплексных соединений общей структуры (I) для каждого типа бифункциональных хелатирующих агентов, указанных в таблице выше.

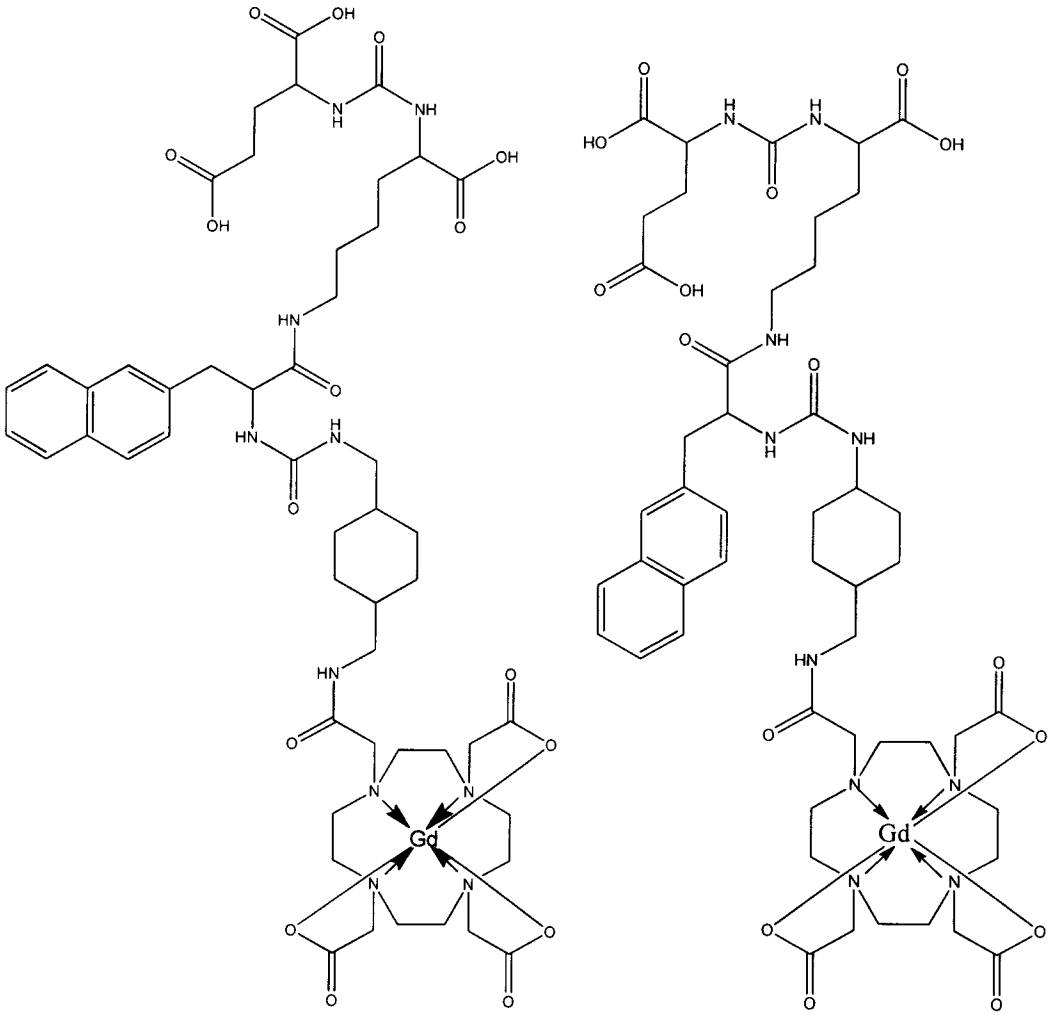
При этом, заявленное контрастное вещество на основе соединения, соответствующего общей структурной формуле (Me-I), выбрано, например, из следующих конкретных соединений (указанные ниже структуры, что иллюстрирует заявленное изобретение, но не ограничивает объем притязаний указанным перечнем возможных молекул общей структуры Me-I.

Другим объектом заявленной группы изобретений является способ применения комплексных соединений, указанных ниже и отвечающих общей приведенной структурной формуле, в качестве активного действующего вещества в составе контрастного диагностического и терапевтического средства для магнитно-резонансной диагностики злокачественных образований рака предстательной железы и метастазов.



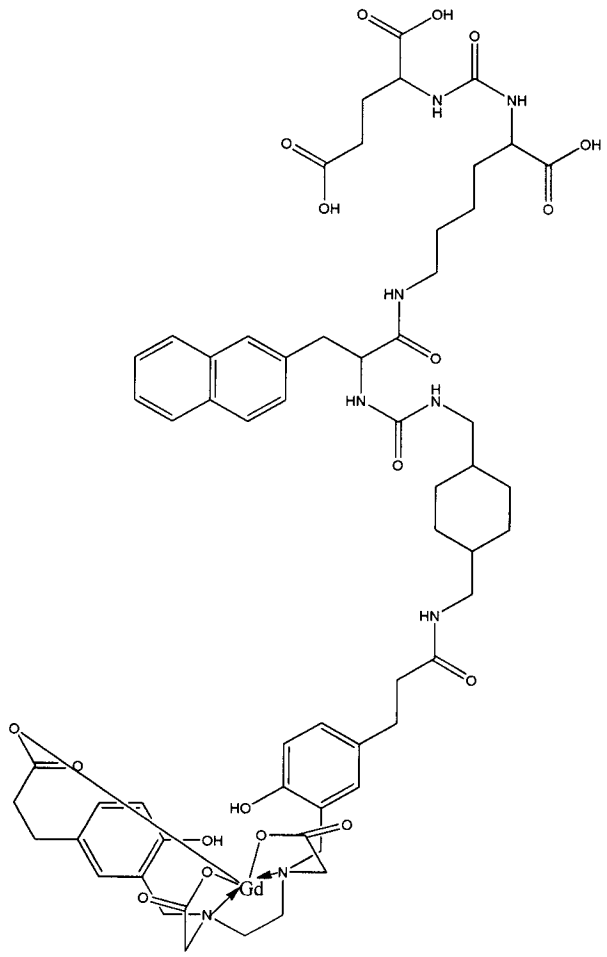
(а) (б)

Молекулы соединений: Gd-DOTAGA-PSMA-1201 (а); Gd-DOTAGA-PSMA-415

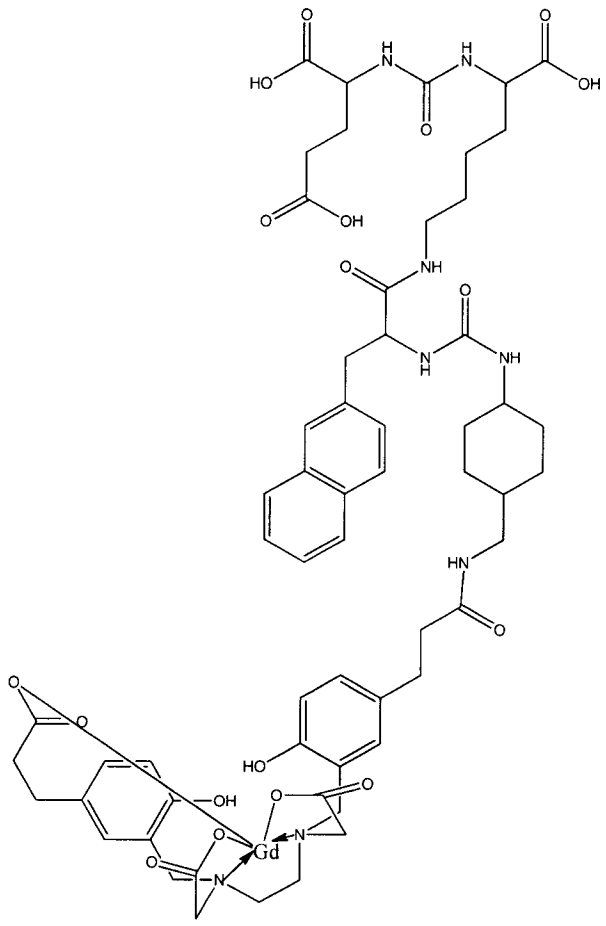


(а) (б)

Молекулы соединений:Gd-DOTA-PSMA-1201 (а); Gd-DOTA-PSMA-415 (б).

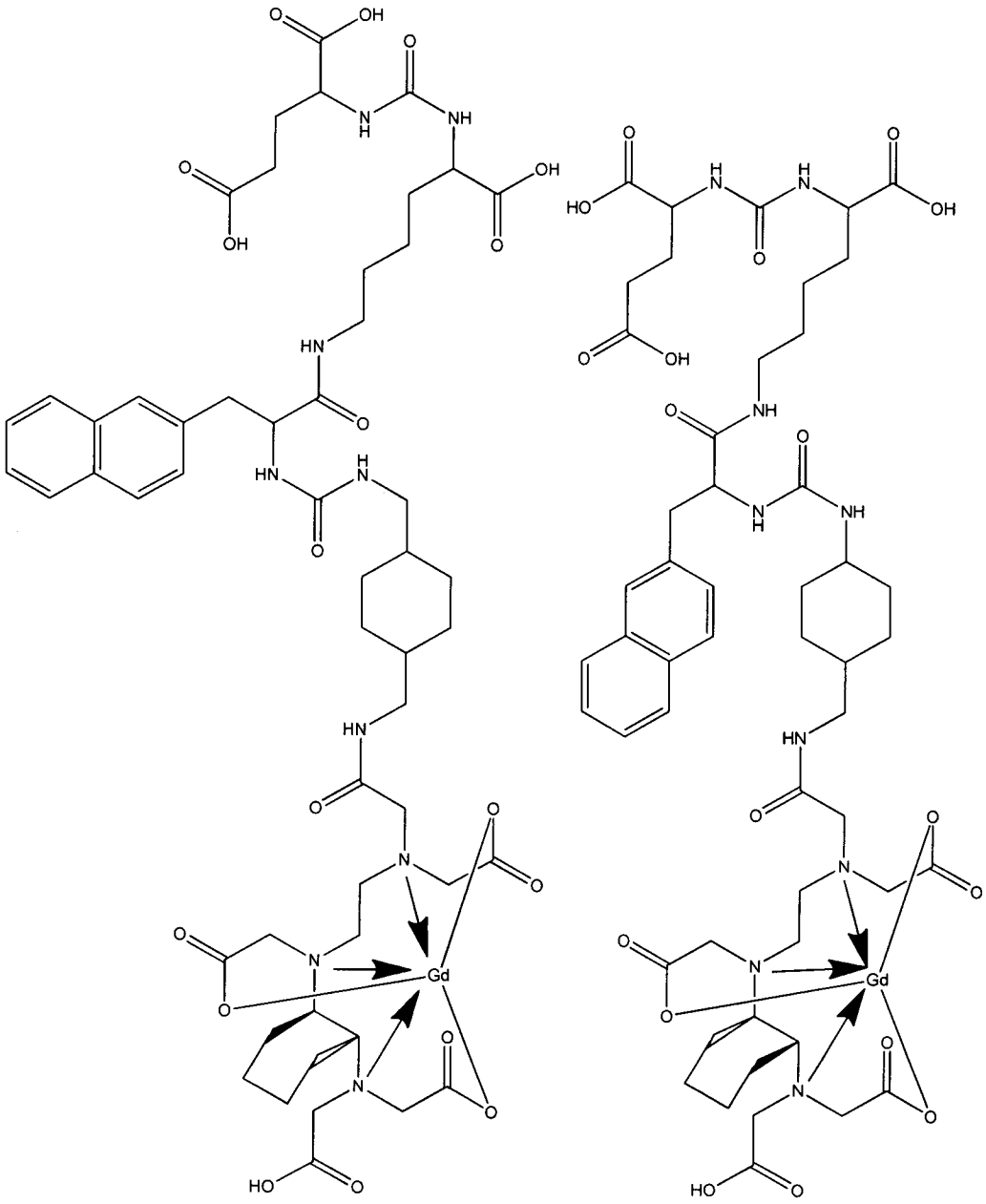


(а)



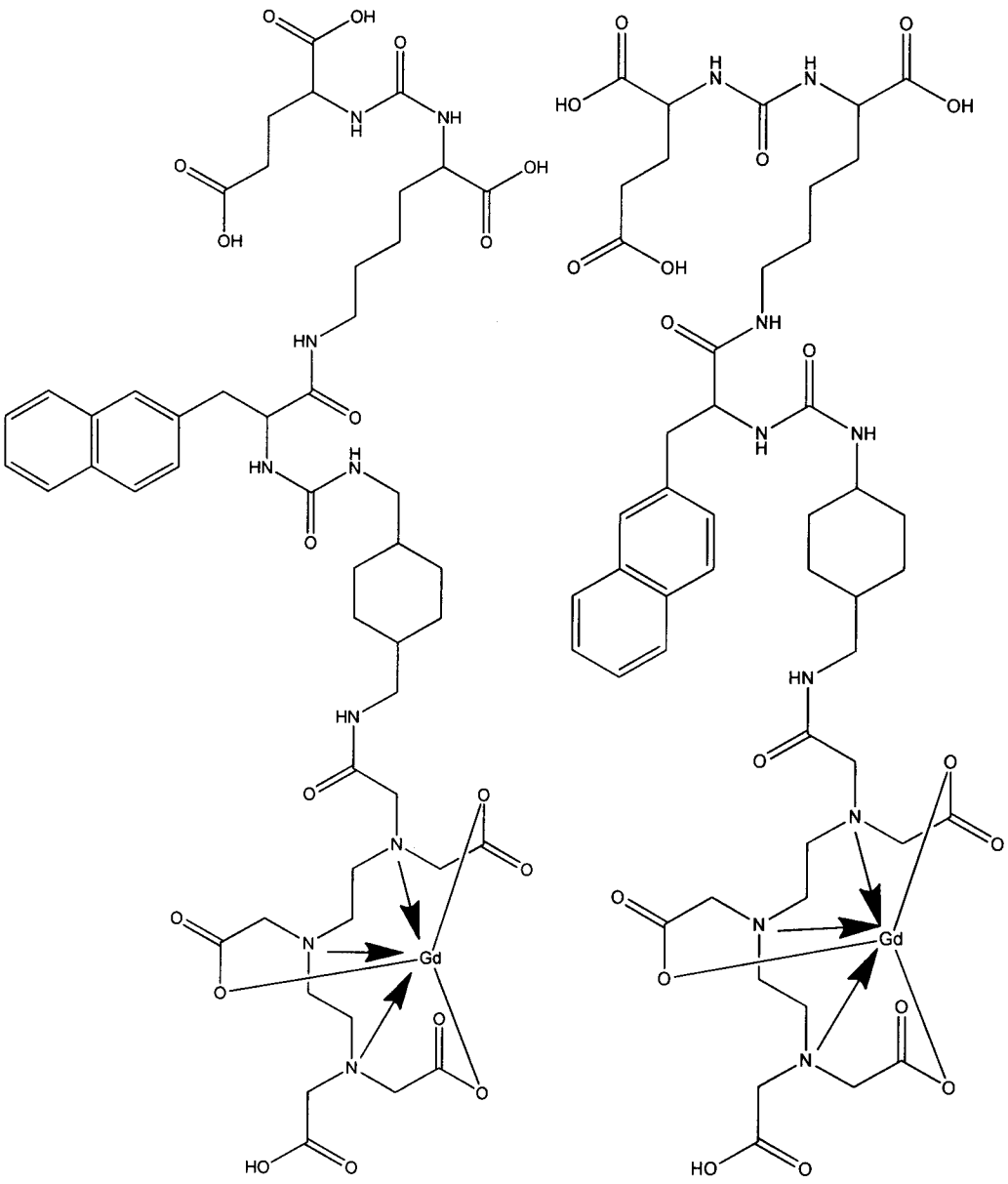
(б)

Молекулы соединений: Gd-HBED-CC-PSMA-1201 (а); Gd-HBED-CC-PSMA-415 (б).

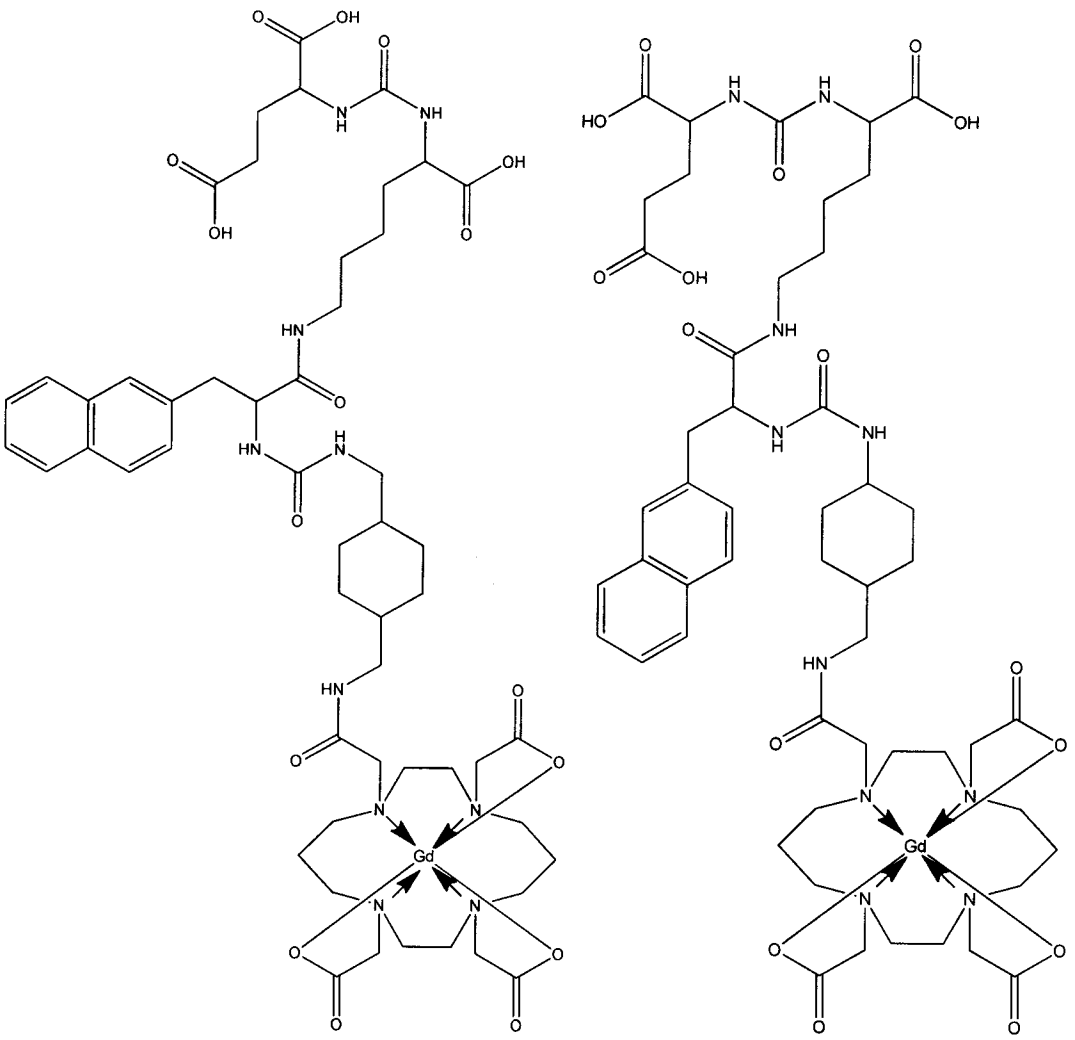


(а) (б)

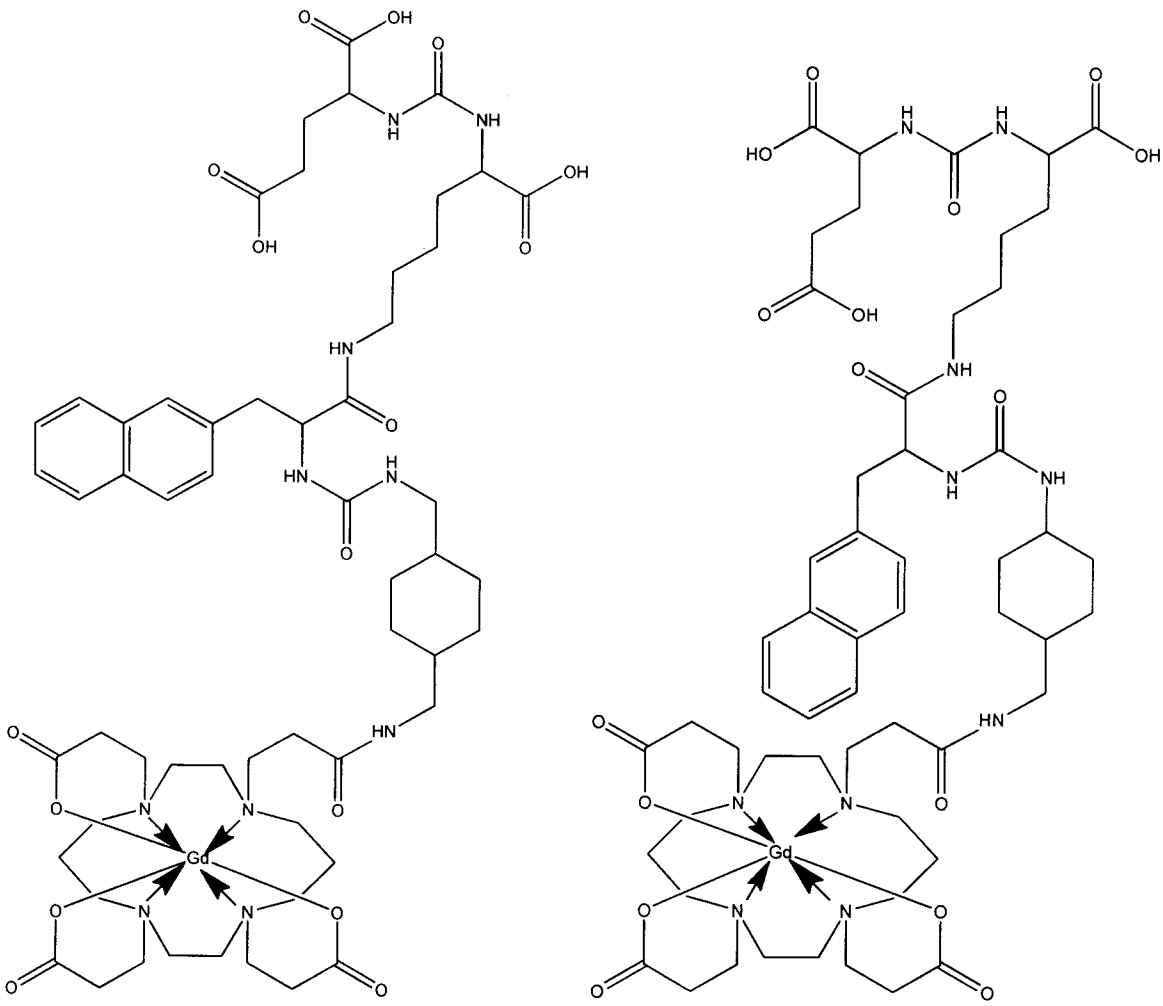
Молекулы соединений: Gd-CHX-DTPA-PSMA-1201 (а); Gd-CHX-DTPA-PSMA-415 (б).



Молекулы соединений: Gd-DTPA-PSMA-1201 (а); Gd-DTPA-PSMA-415 (б).



Молекулы соединений: Gd-TETA-PSMA-1201 (а); Gd-TETA-PSMA-415 (б).



(а) (б)

Молекулы соединений: $^{+3}$Gd-TETPA-PSMA-1201 (а); $^{+3}$Gd-TETPA-PSMA-415 (б).

При этом, наиболее предпочтительны молекулы соединений общей структуры Me-I, в которых использован циклический хелатирующий агент (DOTA, DOTAGA, TETA, TETPA), и еще более предпочтительны молекулы соединений общей структуры Me-I, в которых использован циклический хелатирующий агент и все свободные карбоксильные группы хелатора

задействованы в образовании комплексных соединений Me-I (DOTA, TETA, TETPA)

Примеры:

Синтез молекул соединений общей структуры (I):

Общие методы.

Растворители (метанол, диметилформамид, тетрагидрофуран, этилацетат, ацетонитрил для ВЭЖХ) приобретались в Merck и использовались без предварительной очистки. Дихлорметан перегонялся над CaH2. Исходные вещества, реагенты и аминокислоты приобретались в Merck. Анализ соединений и характеризация осуществлялись посредством ВЭЭЖХ-МС системы Agilentc колонкой ReprosilPurBasicC18, с элюентами: вода + 0.1% ТФУ и ацетонитрил + 0.1% ТФУ. Программа градиента 5% - 100% ацетонитрила в воде в течение 30 минут.

Описание синтеза.

Подробно синтез соединений согласно выносящемуся на защиту решению приведен ниже на примерах получения молекул DOTA-PSMA-415 и DOTA-PSMA-1201. Приведенные схемы не должны трактоваться как ограничивающие структуры соединений согласно настоящему решению исключительно представленным на них бифункциональным хелатирующим агентом - DOTA или выбором защищенного изоцианата (3) –производного аминокислоты (1), а также выбором аминокислоты на месте нафтилаланина (4). Примеры иных возможных к использованию бифункциональных хелатирующих агентов, защищенных изоцианатов, а также аминокислот на месте нафтилаланина будут приведены ниже. Опытному химику не составит труда адаптировать приведенные ниже методики под иные бифункциональные хелатирующие агенты, защищенные изоцианаты, а также аминокислоты на месте нафтилаланиа.

Методика синтеза описывает пептидный синтез в жидкой фазе, не исключено использование твердофазного метода синтеза, описанного подробно в заявке EA201690495 A1, являющейся прототипом.

Пример 1:

Синтез молекулы соединений: R-PSMA-415 на примере DOTA-PSMA-415.

Предложен ретросинтетический подход, основанный на Cbz-защищенном изоцианате (на примере производного транексамовой кислоты), который позволяет осуществить формирование мочевинного фрагмента на поздних стадиях синтеза, при последовательной сборке от N- конца к C- концу. В качестве хелатирующего агента R в составе защищаемого пептида выбран бифункциональный хелатирующий агент DOTA ((1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраил)тетрауксусная кислота), однако, не исключено использование других хелатирующих агентов, указанных выше.

.

Получение соединения (2):

Cbz-Транексамовая кислота.

При охлаждении льдом и перемешивании к раствору транексамовой кислоты (1) (5 г., 31.8 ммоль) и NaOH(2.6 г, 65 ммоль)в смеси 50 мл. воды и 30 мл. тетрагидрофурана прикапывают одновременно из двух воронок бензилхлорформат (7 г, 41 ммоль) и раствор NaOH (1.3 г , 32.5 ммоль)в 5 мл воды. Смесь оставляют на 16 часов. Прикапывают еще 0.7 г (4.1 ммоль) бензилхлорформата при комнатной температуре. Через час смесь промывают три раза по 50 мл петролейного эфира и далее два раза по 50 мл диэтилового эфира. Остатки эфира удаляют под вакуумом на роторном испарителе, подкисляют соляной кислотой до pH=2, экстрагируют дихлорметаном, экстракт сушат ночь над сульфатом натрия. Фильтруют, упаривают, остаток затирают с петролейным эфиром, высушивают. Получено 8.8 г N-бензилоксикарбонилтранексамовой кислоты (2) 98% чистоты по данным ВЭЖХ.

Получение соединения (3):

бензил ((4-изоцианатоциклогексил)метил)карбамат.

К раствору N-бензилоксикарбонилтранексамовой кислоты (2) (291 мг., 1 ммоль., 1 экв.) добавили Et_3N (0.18 мл., 1.28 ммоль), дифенилфосфоразид (DPPA, 0.28 мл., 1.28 ммоль), молекулярныесита (4Å, 1.0 г) и суспендировали в толуоле (5 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь нагревали на масляной бане до кипения с дефлегматором при 110°C в течение 4 часов, охладили до к.т., отфильтровали через целит. Далее использовали раствор изоцианата (3) без выделения.

Получение соединения (6):

Ди-трет-бутил(((S)-1-(трет-бутокси)-5-((R)-3-(нафт-2-ил)-2-((2-оксо-2-фенил-1l2-этил)амино)пропанамидо)-1-оксопент-2-ил)карбамоил)-L-глутамат.

К охлажденному на ледяной бане раствору смеси состоящей из мочевины (5)(10.59 г., 17 ммоль, 76% чистоты) (см. схему), N-бензилоксикарбонил-3-(2-нафтил)-L-аланина (4) (6.2 г., 17.7 ммоль), N-гидроксибензотриазола моногидрата (4.2 г., 27.5 ммоль) в 100 мл диметилформамида прибавили N-метилморфолин(6.8 г., 67.2 ммоль) и прикапывали в течение получаса раствор дициклогексилкарбодиимида(4.6 г., 22.3 ммоль) в 30 мл диметилформамида. Смесь оставили на 16 часов перемешиваться при комнатной температуре. Отфильтровали от выпавшей дициклогексилмочевины и упарили на роторе до массы 25 г. Остаток растворили в 100 мл этилацетата и промыли в делительной воронке10% раствором лимонной кислоты (3×50 мл.), затем три раза по 30 мл воды. Сушили ночь над сульфатом натрия, отфильтровали, упарили. Остаток перекристаллизовали из этилацетата, получено 12.6 г вещества (6) с чистотой 94% по данным ВЭЖХ.

Получение соединения (7):

Ди-трет-бутил (((S)-5-((R)-2-амино-3-(нафт-2-ил)пропанамидо)-1-(трет-бутокси)-1-оксопент-2-ил)карбамоил)-L-глутамат.

В смеси 110 мл метанола и 2 мл тетрагидрофурана растворили 12.6 г карбамата (6). Добавили$Pd(OH)_2$ и полученную смесь гидрировали в течение суток при нормальном

давлении. Смесь отфильтровали через целит, упарили, остаток затирали с диэтиловым эфиром, отфильтровали, высушили. Получено 11 г амина 87% чистоты по данным ВЭЖХ.

Получение соединения (8)

Ди-трет-бутил (((S)-5-((R)-2-(3-((1r,4R)-4-((((бензилокси)карбонил)амино) метил)циклогексил)уреидо)-3-(нафт-2-ил)пропанамидо)-1-(трет-бутокси)-1-оксопент-2-ил)карбамоил)-L – глутамат. Изоцианат (3) (288.3 мг, 1 ммоль, 1 экв.) и амин (7) (570 мг., 0.85 ммоль, 0.85 экв.) растворили в сухом дихлорметане (10 мл, перегнанный над CaH_2). Прибавили к реакционной смеси N-метилморфолин (NMM, 108 мкл., 1 экв.). Далее 6 часов нагревали реакционную смесь на водяной бане при температуре 40°C, и затем оставили на ночь при к.т

Продукт осадили из раствора холодным гексаном (20 мл.) и отфильтровали осадок. Осадок промыли 1 раз Et_2O (10 мл.), гексаном (3×10 мл.). Получено 760мг., белый порошок (8).**Выход: 93%. HPLC-MS (Q): $[M+H]^+$=959.54 m/z.**

Получение соединения (9):

Ди-трет-бутил (((S)-5-((R)-2-(3-((1s,4S)-4-(аминометил) циклогексил) уреидо)-3(нафт-2-ил) пропанамидо)-1-(трет-бутокси)-1-оксопент-2-ил)карбамоил)-L-глутамат.

В 10 мл метанола растворили760мг.карбамата (8). Добавили$Pd(OH)_2$ и полученную смесь гидрировали в течение суток при нормальном давлении. Смесь отфильтровали через целит, упарили, остаток затирали с диэтиловым эфиром, отфильтровали, высушили. Получено645 мг.амина (9)89% чистоты по данным ВЭЖХ.**Выход: 98%. HPLC-MS (Q): $[M+H]^+$=825.50m/z.**

Получение соединения (11):

Ди-трет-бутил(((S)-1-(трет-бутокси)-5-((R)-3-(нафт-2-ил)-2-(3-((1r,4R)-4-((2-(4,7,10-трис-(2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазацилододе-1-

цил)ацетамидо)метил)циклогексил)уреидо)пропанамидо)-1-оксопент-2-ил)карбамоил)-L-глутамат.

К раствору смеси амина (9) (645 мг,0.672ммоль, 1 экв.) 89% чистоты, DOTA(tert-Bu)$_3$OH (10) (432,9мг, 0.751ммоль), N-гидроксибензотриазола моногидрата (0.21 г., 0.72 ммоль) в 16 мл диметилформамида прибавили N-метилморфолин (1.1 г., 10.9 ммоль) при перемешивании и комнатной температуре. Прикапали раствор дициклогексилкарбодиимида (1.27 г., 6.16 ммоль) в 5 мл диметилформамида в течение получаса, оставили на 16 часов. Отфильтровали от выпавшей дициклогексилмочевины, фильтрат упарили и остаток растворили в смеси 20 мл н-бутанола и 20 мл этилацетата. Полученный раствор промыли смесью 100 мл рассола и 100 мл 10% раствора лимонной кислоты (5×40 мл.). Затем смесью 100 мл рассола и 100 мл воды (5×40 мл.). Отфильтровали повторно через целит и сушили ночь над сульфатом натрия. Упарили на роторном испарителе, остаток затерли с диэтиловым эфиром. Масса продукта (11) 1.03 г с чистотой 86% по данным ВЭЖХ. **Выход: 95% HPLC-MS (Q): $[M+H]^+$=1379.87 m/z.**

Получение соединения (12) DOTA-PSMA-415:

(((S)-1-карбокси-4-((R)-3-(нафт-2-ил)-2-(3-((1r,4R)-4-((2-(4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододе-1-цил)ацетамидо)метил)цилогексил)уреидо)пропанамидо)бутил)карбамоил)-D-глутаминовая кислота (DOTA-PSMA-415)

К охлажденной до -15°C ТФУ (1 мл) прибавили $HSiEt_3$ при перемешивании. Далее к реакционной смеси прибавили PSMA(-OtBu)$_6$ (11)(0.1 г., $7*10^{-5}$ моль). Выдержали реакционную смесь при этой температура 10 минут, после чего убрали баню и перемешивали при к.т. 3 часа, затем при 0°C 24 часа. Реакционную смесь разбавили холодным Et_2O (10 мл), декантировали жидкость с осадка, промыли (2×5 мл.) холодного Et_2O и высушили на роторном испарителе. **Получено 72.5 мг целевого PSMA. Выход 96%.**

Дальнейшая очистка осуществлялась методомпрепаративного ВЭЖХ на C18 силикагеле, в качестве элюента использовались ацетонитрил и вода с добавкой ТФУ 0.5 г/л.

Получение соединения (5):

К смеси 10г. (33,8 ммоль) дитретбутилового эфира L-глютаминовой кислоты гидрохлорида (5.1) и 15.4 мл (110 ммоль) триэтиламина в 300 мл дихлорметана при перемешивании и охлаждении сухим льдом в атмосфере азота прикапывают раствор 3,41 г (11,5 ммоль) трифосгена в 100 мл дихлорметана в течение одного часа. Дают выдержку 10 мин, убирают баню, перемешивают ещё 30 мин при комнатной температуре. После чего присыпают 7.57 г (20,3 ммоль) третбутилового эфира ε-карбобензокси-L-лизина гидрохлорида (5.2) и затем прикапывают 2,85 мл (20,5 ммоль) триэтиламина. Смесь оставляют на 16 часов при комнатной температуре и перемешивании. Реакционную массу разбавляют 200 мл дихлорметана и промывают в воронке три раза по 300 мл воды.

Сушат сульфатом натрия, фильтруют и упаривают под вакуумом. Получают 16,7 г. масла которое разделяют на хроматографической колонке смесью этилацетет-гексан (2-3). Выделяют соединение (5.3) в количестве12,8 г.

В 130 мл метанола растворяют 12,8 г (20,58ммоль) соединения (5.3), добавляют Pd и гидрируют при нормальном давлении в течение ночи. Смесь фильтруют от катализатора, раствор упаривают, а остаток затирают с небольшим количеством петролейного эфира. Получают 9,59 г соединения (5) (19,72ммоль).

Пример 2:

Синтез молекулы R-PSMA-1201 на примере DOTA-PSMA-1201.

Основное отличие молекулы DOTA-PSMA-1201 от DOTA-PSMA-415 заключается в наличии дополнительной метиленовой группы в фрагменте изоцианата (3) и следовательно – аминокислоты (1) из которой он получается. Методика сходна с методикой, описанной в примере 1. В качестве хелатирующего агента R в составе защищаемого пептида выбран бифункциональный хелатирующий агент DOTA (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраил)тетрауксусная кислота), однако, не исключено использование других хелатирующих агентов, указанных выше.

Пример 3:

Основное отличие от примера 1 приведенной ниже методики получения DOTA-PSMA-415 заключается в использовании изоцианатного фрагмента (3), защищенного t-Boc защитой, который является коммерчески доступным.

Сначала производится сборка первой половины структуры пептида из метилового эфира нафтил-аланина (2), изоцианата (3) и трис-tBu-DOTA (6), а затем после гидролиза метилового эфира (7) происходит конвергентная сборка двух пептидных фрагментов.

На последнем этапе синтеза производится снятие tBu- защитных групп в трифторуксусной кислоте, что после препаративной хроматографии позволяет получить целевое соединение (11):

Цепочка синтеза молекулы соединения DOTA-PSMA-415 с использованием Boc-защищенного изоцианата.

Этот подход обладает недостатком – в процессе гидролиза метилового эфира (7) в реакционной смеси получается циклический побочный продукт – гидантоин (8.1).

Побочный продукт – гидантоин..

Получение соединения 2:

Метиловый эфир S-нафтилаланина.

К раствору L-нафтилаланина (1) (5 г., 0.023 моль, 1 экв.) в метаноле (30 мл.) прибавили по каплям хлористый тионил ($SOCl_2$, 6.08 г., 0.051 моль, 2.22 экв.) при охлаждении 0°C, затем подняли температуру реакционной смеси до к.т. и затем кипятили с обратным холодильником 1.5 часа. Реакционную смесь упарили с холодной ловушкой и водяной баней, а затем на роторном испарителе и провели переэкстракцию основной формы в виде свободного основания в EtOAc (50мл.). для этого растворили реакционную смесь в EtOAc (50мл) и насыщенном растворе $NaHCO_3$. Органический слой промыли насыщенным раствором $NaHCO_3$ (3×30 мл.) затем водой (2×30 мл.)

Органические слои были высушены над Na_2SO_4 (б.в.). После упаривания органических фракций на роторном испарителе получено 4.2г метилового эфира (2) в виде коричневого масла, которое закристаллизовалось при стоянии. **Выход: 79%. HPLC-MS (Q): $[M+H]^+$=230.11 m/z.**

Получение соединения 4:

Метил (S)-2-(3-((1r,4S)-4-(аминометил)циклогексил)уреидо)-3-(нафт-2-ил)пропаноат.

L-Нафтил-аланина метиловый эфир (2) (0.23 г., 0.001 моль, 1 экв.) и изоцианат (3) (0.255 г., 1.15 экв.) растворили в минимальном количестве сухого DCM (1-2ml, перегнанного над CaH_2). Нагрели реакционную смесь на водяной бане до 40°C. Прибавили к реакционной смеси N-метилморфолин (NMM, 108 мкл., 1 экв.). Далее 6 часов нагревали реакционную смесь при температуре 40 °C, и затем оставили на ночь при r.t. Продукт высадили из раствора холодным гексаном (20 мл.) и отфильтровали осадок. Осадок промыли 1 раз Et_2O (10 мл.), гексаном (3×10 мл.). Получено 300 мг., белый порошок (4). **Выход: 62%. HPLC-MS (Q): $[M+H]^+$=484.27 m/z.**

Получение соединения 5:

Метил (S)-2-(3-((1R, 4S)-4-(аминометил) циклогексил) уреидо)-3-(нафт-2-ил) пропаноат.

Дихлорметан (далее - ДХМ) использовался без предварительной осушающей перегонки. 862 мг. Boc-защищенный полупродукт (4) растворили в ДХМ, реакционую смесь охладили до -20°C и прибавили 20 мл. трифторуксусной кислоту (ТФУ). Через 1 час при комнатной температуре и перемешивании реакционную смесь упарили на роторном испарителе.

Осуществили переэкстракцию в EtOAc (50 ml) в присутствии 10% раствора $NaHCO_3$ (3 * 15 ml). После переэкстракции свободный амин растворили в ДХМ и упарили на роторном испарителе. Получено 510 мг свободного основания (5). белый аморфный порошок. **Выход: 75% HPLC-MS (Q): $[M+H]^+$=384.22 m/z.**

Получение соединения 7:

Трис-трет-бутил 2,2',2''-(10-(2-((((1S,4r)-4-(3-((S)-1-метокси-3-(нафт-2-ил)-1-оксопроп-2-ил)уреидо)циклогексил)метил)амино)-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триил)триацетат.

В колбу на 20 ml загрузили амин (5) (382 мг., 0.001 моль, 1 экв.), кислота (6) (573 мг., 1.2 экв.), HOBt (37 мг., 1 экв.), диметилформамид (ДМФА). Перемешивали в течение 20 минут и охладили до -10°C. Подождали 10 минут при перемешивании и -10°C. Прибавили N-метилморфолин (NMM, 3 экв.) и подождали еще 10 минут. Добавили по каплям раствор дициклогексилкарбодиимида (DCC, 1.7 экв.) в ДМФА в течение 10 минут при -10 °C. Затем охлаждение убрали и оставили реакцию overnight при комнатной температуре.

Реакционную смесь упарили на роторном испарителе на 2/3, разбавили водой и экстрагировали этилацетатом (2×50 ml). Объединенные органические фракции промывали рассолом, 10% раствором гидрокарбоната натрия (3×20 ml), дистиллятом (1×10 ml).

Получено 170 мг. с чистотой продукта 89% (ВЭЖХ-МС). **Выход: 91%. HPLC-MS (Q): $[M+H]^+$=938.59 m/z.**

Получение соединения 8:

(S)-3-(нафт-2-ил)-2-(3-((1r,4S)-4-((2-(4,7,10-трис(2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)ацетамидо)метил)циклогексил)уреидо) пропановая кислота.

К охлажденному до -10°C раствору метилового эфира (7) (700 мг., 0.746 ммоль, 1 экв.) в THF (5 мл.) прибавили покапельно раствор LiOH (34.5 мг., 0.82 ммоль, 1.1 экв.) в H_2O (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при -10°C 3 часа. Затем реакционную смесь обрабатывали экстракцией в EtOAc (30 мл.), промывая органический слой 10% лимонной кислотой (2×15 мл.), а затем водой (2×15 мл.). Получено 550 мг продукта (8) содержащего 71% побочного продукта - гидантоина (8.1) (см. схему ниже.).

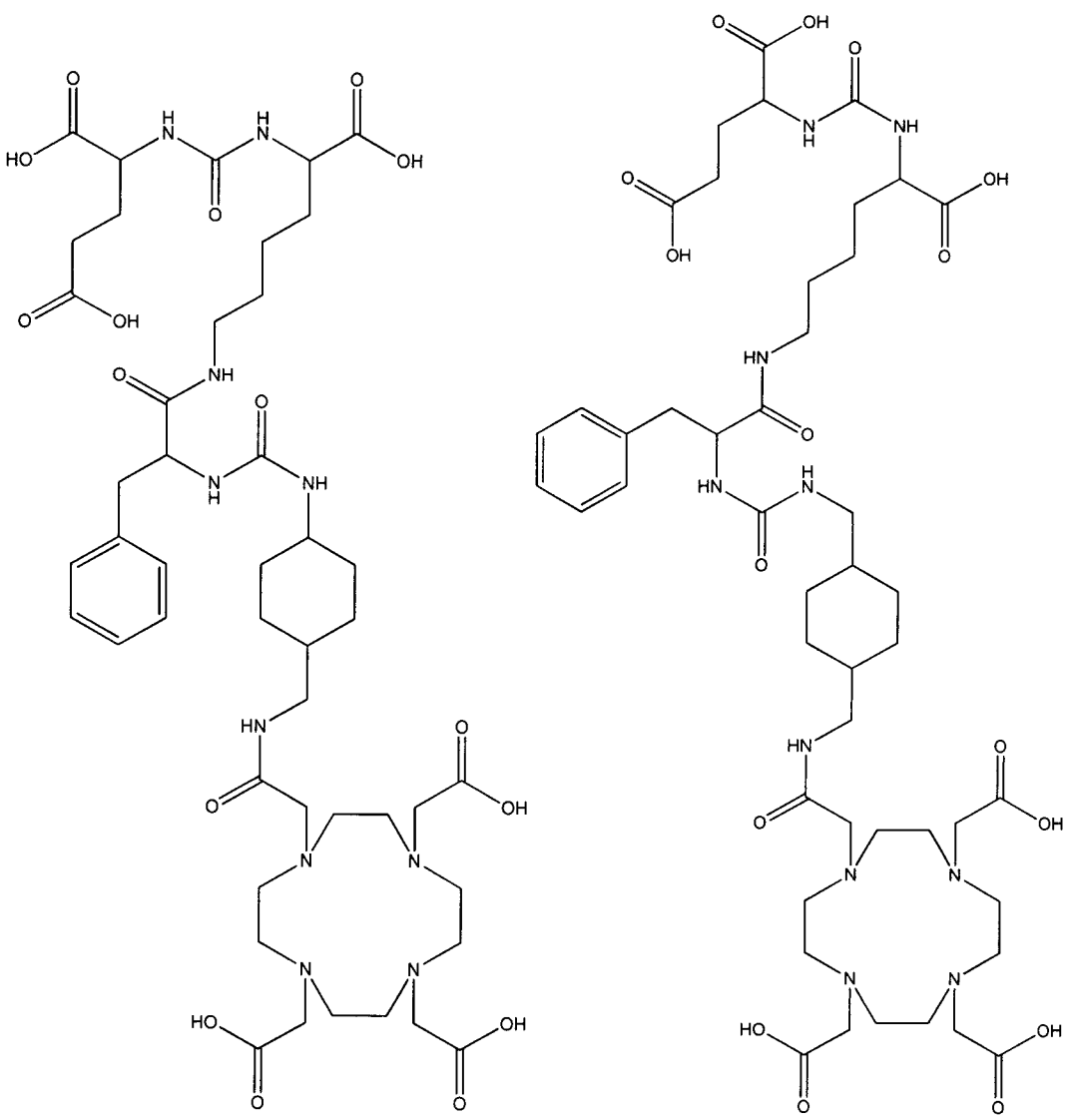
Эксперимент оказался менее удачным, чем пример 1, поскольку в присутствии LiOH происходит образование циклической мочевины – гидантоина (8.1) (**Схема 6**).

Пример 4:

Синтез молекул R-PSMA-415 или R-PSMA-1201 на примере DOTA-PSMA-415 или DOTA-PSMA-1201, содержащих в своем составе на месте фрагмента X: фенил, или индолил (=2,3-бензопирролил), или бензотриазолил, или п-йодфенил, или п-бромфенил.

Методика синтеза соединений DOTA-PSMA-415(Ph), DOTA-PSMA-415(Ind), DOTA-PSMA-415(Btrz), DOTA-PSMA-415(IPh), DOTA-PSMA-415(BrPh) и DOTA-PSMA-1201(Ph), DOTA-PSMA-1201(Ind), DOTA-PSMA-1201(Btrz), DOTA-PSMA-1201(IPh), DOTA-PSMA-1201(BrPh) отличается от методик, описанных в примерах 1 и 2 лишь аминокислотой (4), используемой при получении соединения (6).

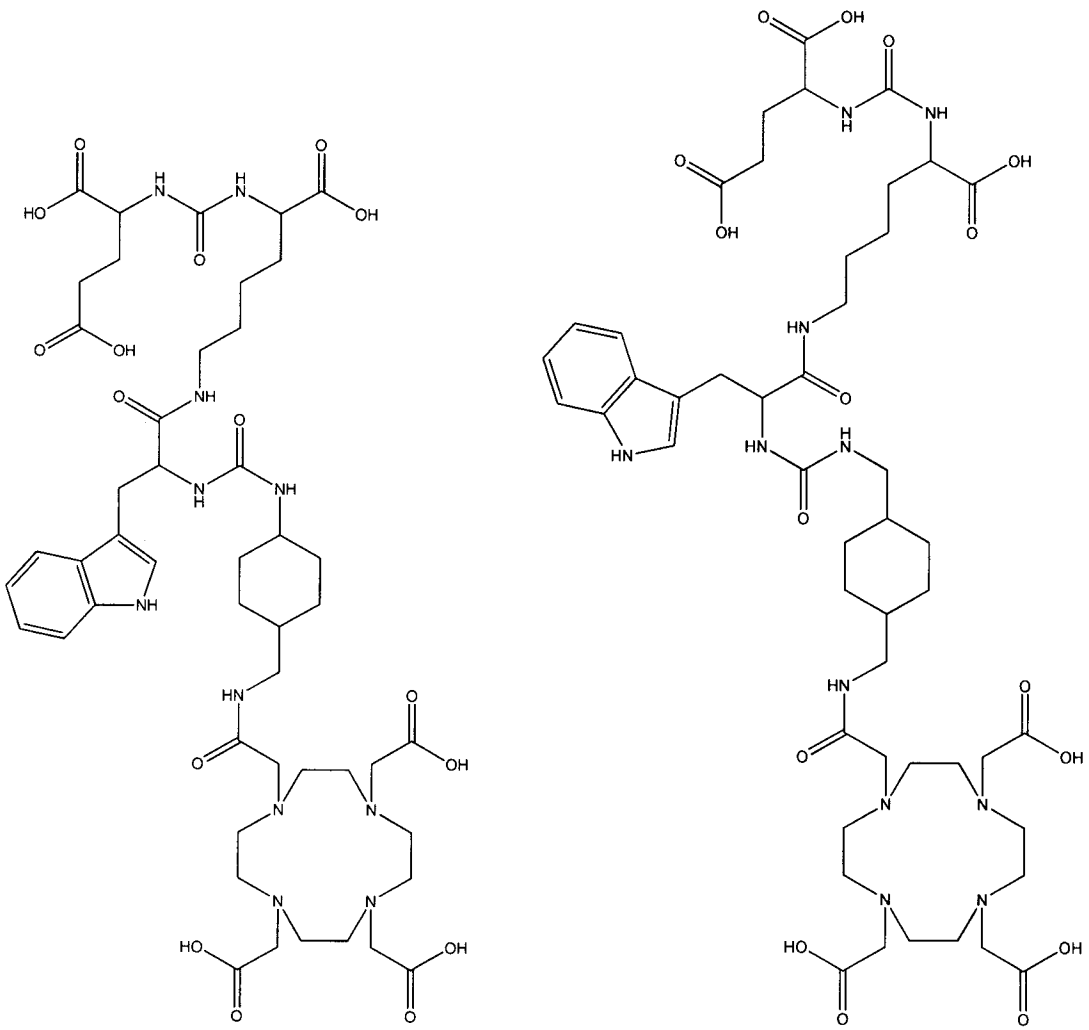
В случае синтеза молекул DOTA-PSMA-415(Ph) и DOTA-PSMA-1201(Ph) в качестве соединения (4) используется защищенная аминокислота N-Cbz-фенилаланин.



(а) (б)

Молекулы: DOTA-PSMA-415(Ph) (а); DOTA-PSMA-1201(Ph) (б).

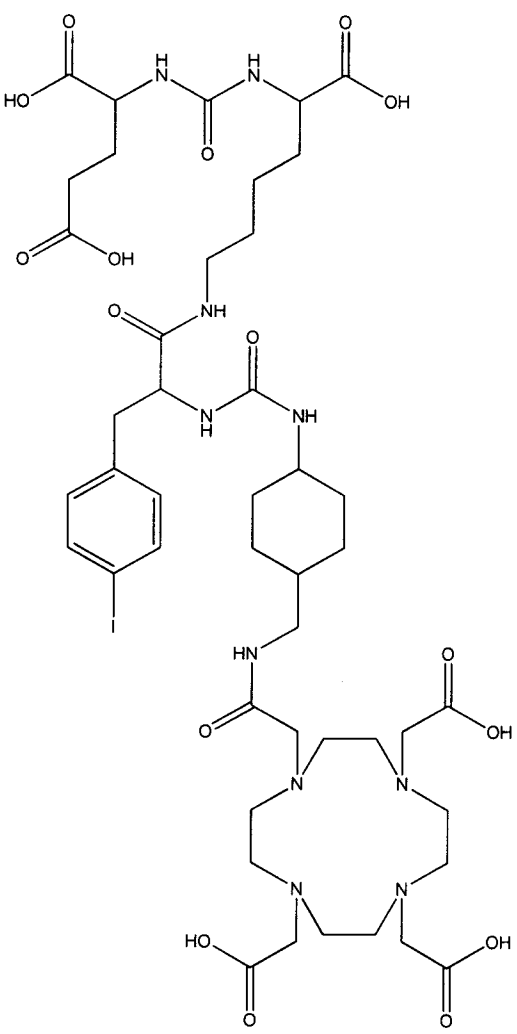
В случае синтеза молекул соединений DOTA-PSMA-415(Ind) и DOTA-PSMA-1201(Ind) в качестве соединения (4) используется защищенная аминокислота N-Cbz-триптофан.



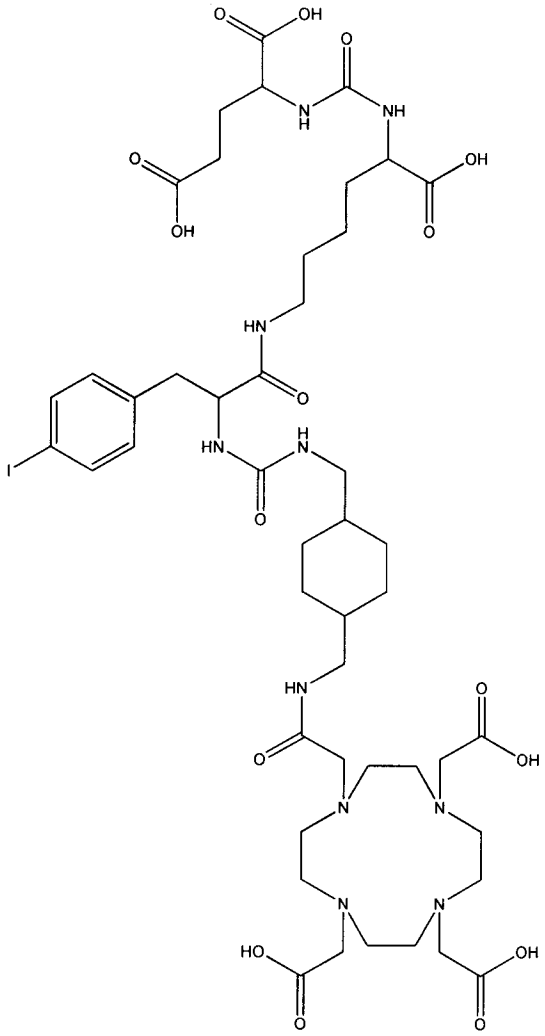
(а) (б)

Молекулы соединений: DOTA-PSMA-415(Ind) (а); DOTA-PSMA-1201(Ind) (б).

В случае синтеза молекул соединений DOTA-PSMA-415(IPh) и DOTA-PSMA-1201(IPh) в качестве соединения (4) используется защищенная аминокислота N-Cbz-п-йод-фенилаланин.



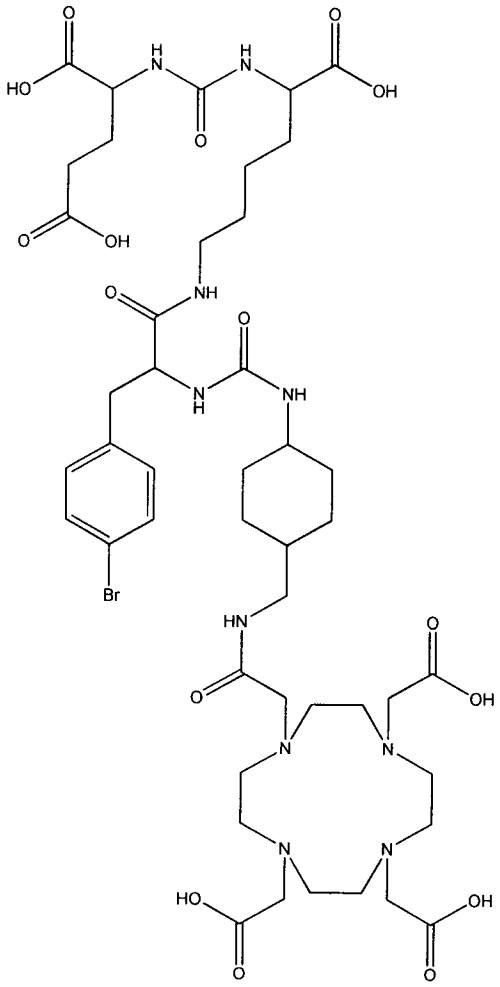
(а)



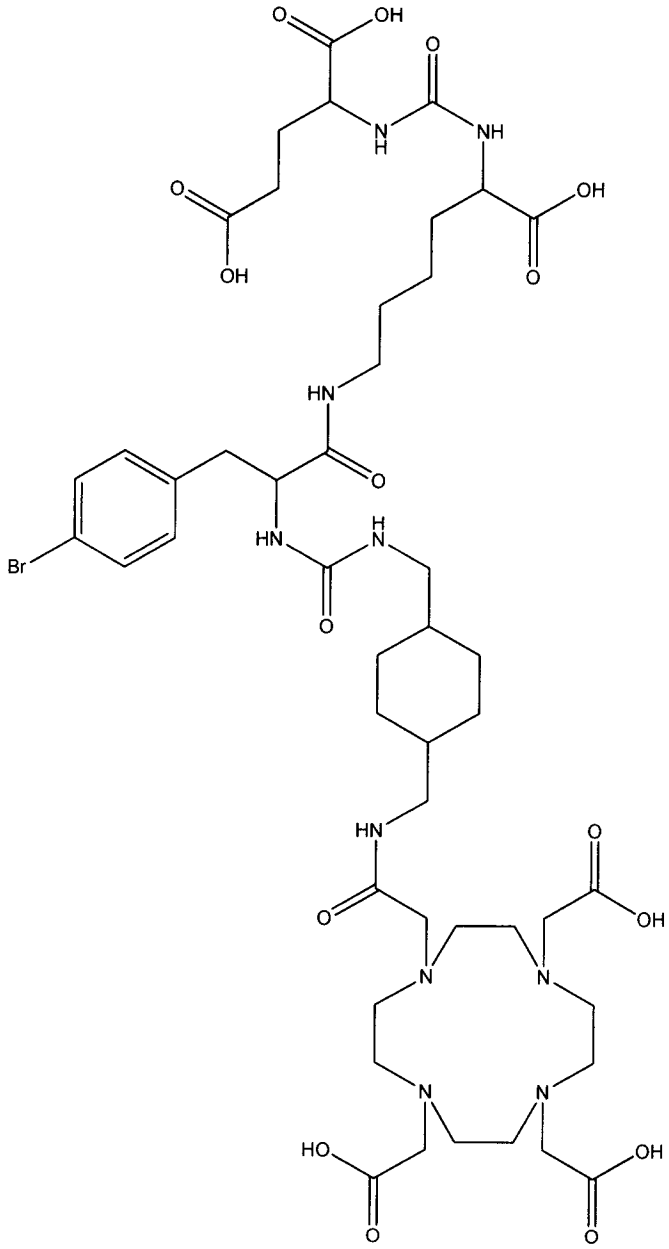
(б)

Молекулы: DOTA-PSMA-415(IPh) (а); DOTA-PSMA-1201(IPh) (б).

В случае синтеза молекул соединений DOTA-PSMA-415(BrPh) и DOTA-PSMA-1201(BrPh) в качестве соединения (4) используется защищенная аминокислота N-Cbz-п-бром-фенилаланин.



DOTA-PSMA-415(BrPh)



DOTA-PSMA-1201(BrPh)

Молекулы соединений: DOTA-PSMA-415(BrPh) (а); DOTA-PSMA-1201(BrPh) (б)

Пример 5:

Синтез молекул R-PSMA-415 или R-PSMA-1201, содержащих в своем составе на месте фрагмента R бифункциональные агенты, описанные выше.

Методика синтеза соединений R-PSMA-415 или R-PSMA-1201 отличается от методик, описанных в примерах 1 и 2 лишь защищенным бифункциональным хелатирующим агентом (10), используемом при получении соединения (11). Примеры защищенных хелатирующих агентов, применяемых помимо DOTA-трис(трет-бутиловый эфир) (10) и пригодных для синтеза молекул R-PSMA-415 или R-PSMA-1201: HBED-CC-трис(трет-бутиловый эфир), DOTAGA-тетра(трет-бутиловый эфир), TETA-трис(трет-бутиловый эфир), TETPA-трис(трет-бутиловый эфир), DTPA-тетра(трет-бутиловый эфир), CHX-DTPA-тетра(трет-бутиловый эфир).

При желании, возможно использовать указанные выше бифункциональные агенты, в том числе DOTA-трис(трет-бутиловый эфир), в которых карбоксильная группа, участвующая в образовании амидной связи активирована, например, сукцинимидиловым эфиром (NHS). В таком случае, схема 7, описанная в примере 1 и пригодная и для примера 2, видоизменится, а точнее – изменится соединение (10), а также условия синтеза и вспомогательные реактивы, но продукт (11) останется неизменным. Реакция проводится в щелочных условиях (pH = 7,2 - 9,0) при комнатной температуре, целевой продукт (11) образуется в течение 2 – 12 часов (время зависит от требуемого выхода).

Использование в качестве соединения (10) активированного сукцинимидиловым эфиром бифункционального хелатора R на примере DOTA-tris(t-Bu)-NHS-ester.

Пример 6:

Мечение молекул соединений R-PSMA-415 или R-PSMA-1201 на примере соединения DOTA-PSMA-415 катионом гадолиния.

100 мг DOTA-PSMA-415 (1057,5 г/моль) растворяют в 20 мл 0,4 М ацетатного буфера в деионизированной воде с pH приблизительно 4,5-5,5.

К образовавшемуся раствору добавляют 5,0 мл раствора трихлорида гадолиния (439770-5G или 203289-5G Sigma) в аналогичном растворителе в мольном соотношении 1:5 (DOTA-PSMA-415 : трихлорид гадолиния). Конечный объем реакционной смеси составляет 25 мл. Образовавшийся раствор ставят на водяную баню на 30 минут и нагревают при температуре 90 °C. По завершении нагрева, раствор остужают при комнатной температуре и отбирают контрольную пробу на анализ по показателям

качества, основные из которых, анализируют выход реакции образования комплекса $^{+3}$Gd- DOTA-PSMA-415, при не достижении выхода реакции равном или более 98%, нагрев повторяют и, при необходимости, добавляют еще трихлорид гадолиния.

Очистка может быть осуществлена различными методами: на катионообменной смоле, на SPE картриджах, на хроматографических колонках, но, независимо от применяемого метода, конечный раствор содержит максимально возможное количество молекул соединения $^{+3}$Gd-DOTA-PSMA-415 с минимально возможным содержанием как свободного катиона $^{+3}$Gd, так и непрореагировавшего DOTA-PSMA-415.

Возможно изменение количества реагентов, а также вспомогательных компонентов, используемых для получения комплекса соединений $^{+3}$Gd-DOTA-PSMA-415 или $^{+3}$Gd-DOTA-PSMA-1201. Количества реагентов в первую очередь зависит от требуемого конечного количества полученного комплексного соединения.

Молекулы соединений $^{+3}$Gd-R-PSMA-415 или $^{+3}$Gd-R-PSMA-1201 на примере $^{+3}$Gd-DOTA-PSMA-415 или $^{+3}$Gd-DOTA-PSMA-1201 пригодны для применения в качестве действующего вещества потенциального контрастного лекарственного средства для магнитно-резонансной диагностики злокачественных образований рака предстательной железы.

Методика, описанная в примере 6 пригодна для адаптации к использованию не только для молекул I с хелатором DOTA, но и для молекул I со всеми описанными выше хелаторами, а также изоцианатными фрагментами и фрагментами X нафтилаланина.

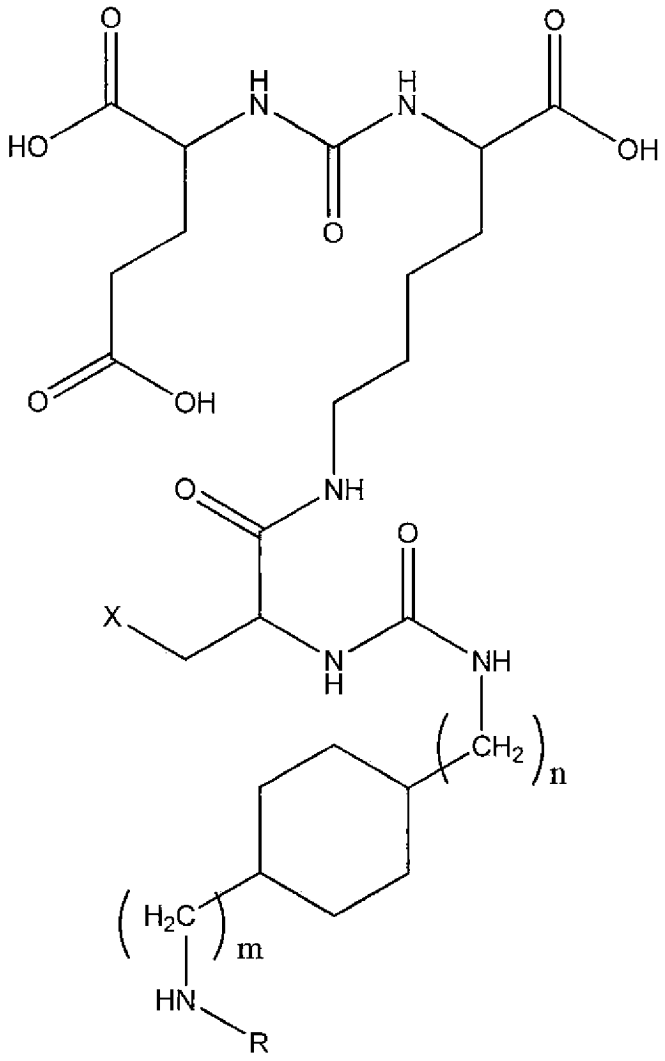
Таким образом, разработанные по изобретению новые контрастные агенты для визуализации на основе пептидов для МРТ обеспечивают возможность нацеливания на PSMA для большей эффективности при диагностике рака предстательной железы (РПЖ) с помощью магнитно-резонансной (МРТ), и расширение ассортимента таких эффективных контрастных агентов для визуализации, усиление контраста при диагностики с целью раннего выявления и последующего лечения РПЖ, то есть в

качестве эффективных контрастных веществ для МРТ исследований простатспецифического мембранного антигена ПСМА экспрессирующих опухолей предстательной железы и метастазов.

В конечном итоге, изобретение позволяет эти полученные новые соединения использовать для создания различных фармацевтических препаратов, в которых комплексные соединения применяются в качестве действующего вещества потенциального контрастного диагностического (лекарственного) средства для магнитно-резонансной томографии злокачественных образований рака предстательной железы (РПЖ).

Формула изобретения

1.Комплексные соединения гадолиния, включающие, ПСМА–связывающий лиганд, конъюгированный с хелатирующими агентами, в качестве контрастного вещества для визуализации рака предстательной железы у человека или животного на МРТ на основе пептида и Gd^{+3}, содержащие направлющий модуль, способный взаимодействовать со специфическим маркером рака предстательной железы, представляющим собой специфический мембранный антиген предстательной железы PSMA (ПСМА) и детектируемый компонент, где направляющий модуль представляет собой молекулу соединения, включающего ПСМА-связывающий лиганд, конъюгированный с хелатирующим агентом, при этом в качестве детектируемого компонента молекула соединения содержит компонент для детекции на основе иона парамагнетика Gd^{+3}, такой как хелат гадолиния, а молекула соединения, включающего ПСМА-связывающий лиганд, конъюгированный с хелатирующим агентом, отвечает общей структурной формуле (I)

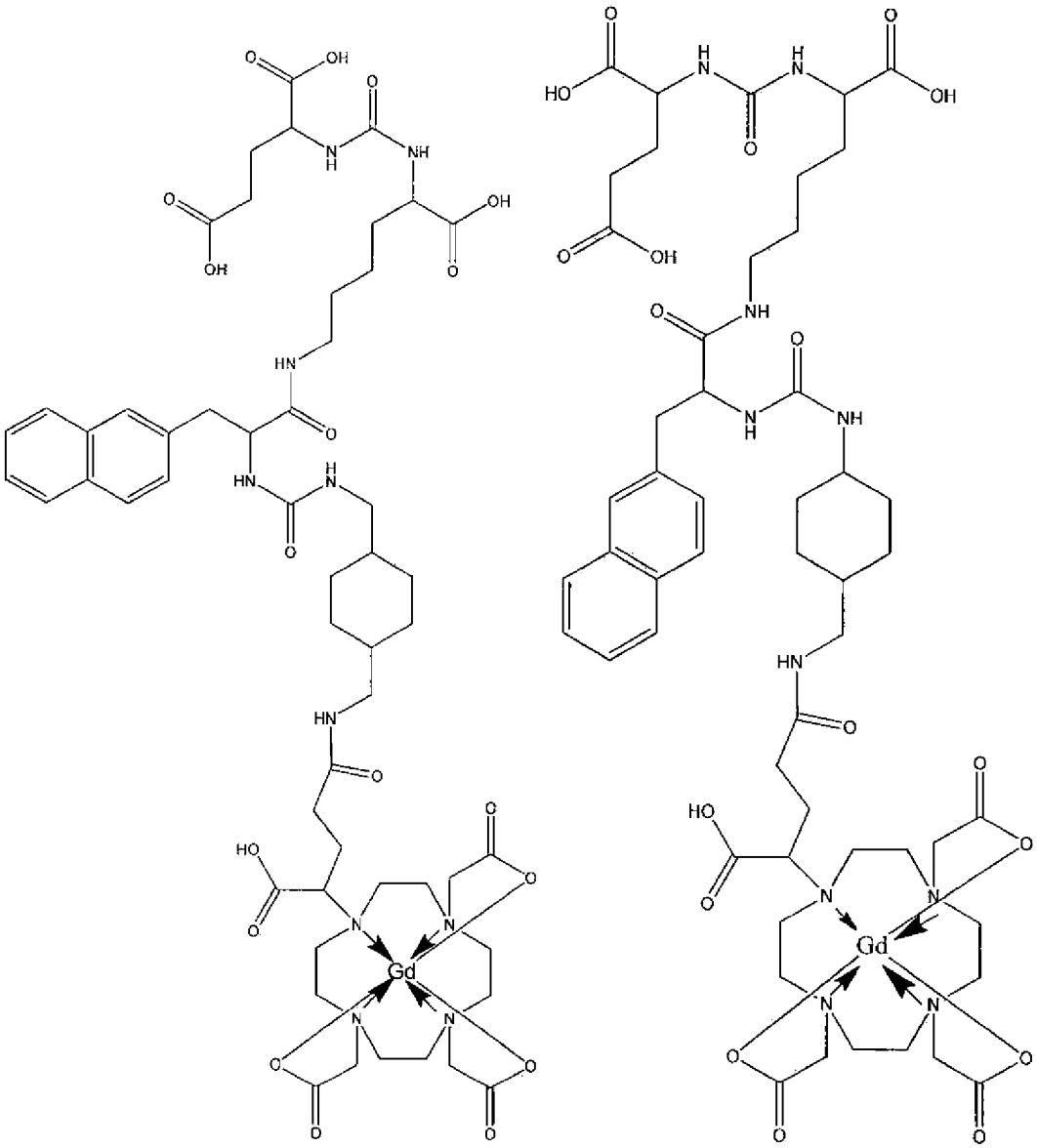


(I)

в котором “m”,”n”, “X” и “R” имеют следующие значения:

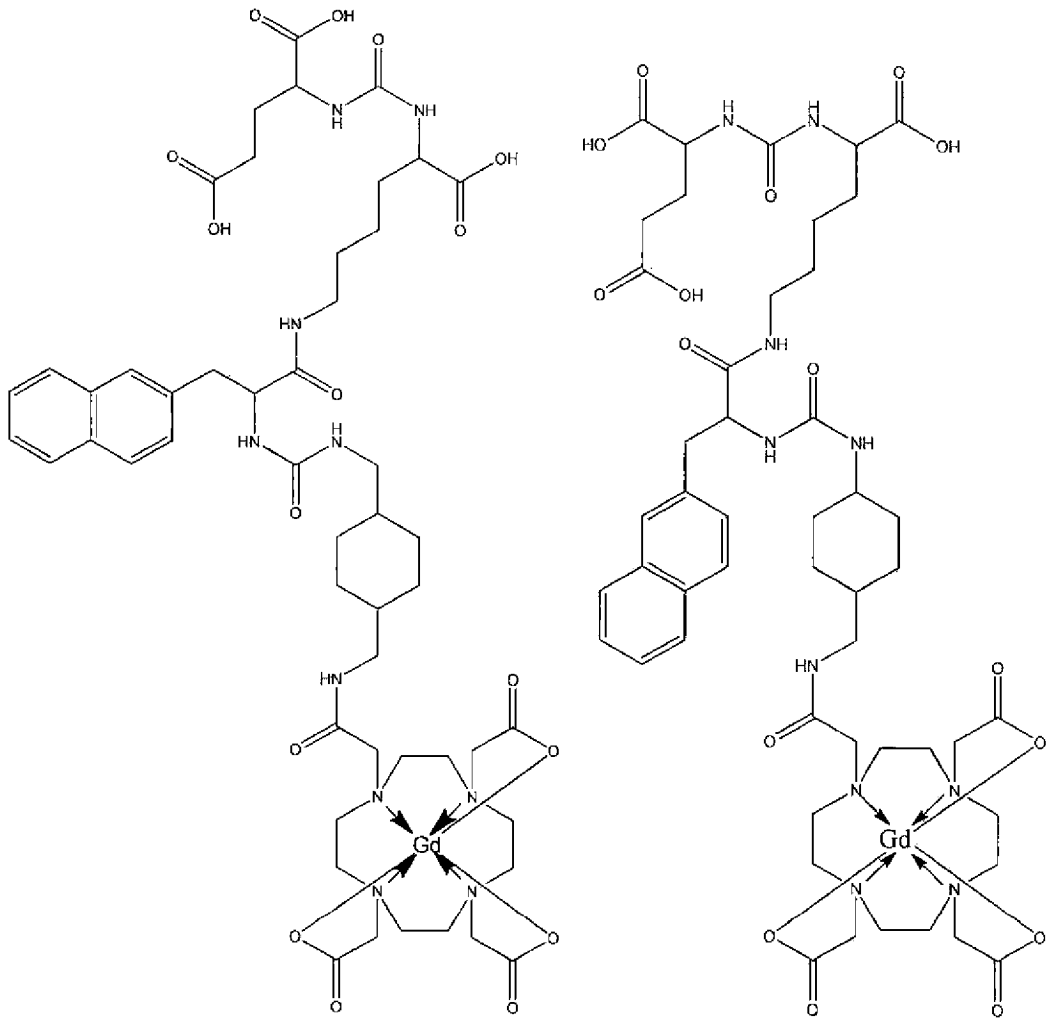
n:	0; 1
m:	0; 1
X:	нафтил (наиболее предпочтительно), фенил, бифенил, индолил (=2,3-бензопирролил), бензотриазолил, п-йодфенил, п-бромфенил.
R – фрагмент, соответствующий бифункциональным хелатирующим агентам приведенным правее, либо их производным (эфирам, ангидридам, солям), входящий в состав соединения I за счет образования амидной связи и способный образовывать координационные связи с катионами металлов.	1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота (-DOTA); N,N’-бис[2-гидрокси-5-(карбоксиэтил)бензил]этилендиамин-N,N”-диуксусная кислота (-HBED-CC); 2-(4,7,10-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-ил)пентандиовая кислота (-DOTAGA); 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1,4,8,11-тетрауксусная кислота (-TETA); 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1,4,8,11-тетрапропионовая кислота (-TETPA); Диэтилентриаминпентауксусная кислота (-DTPA); Транс-циклогексил-диэтилентриаминпентауксусная кислота (-CHX-DTPA).

2 . Комплексные соединения гадолиния по п.1, отличающиеся тем, что выбраны из группы соединений, включающие:



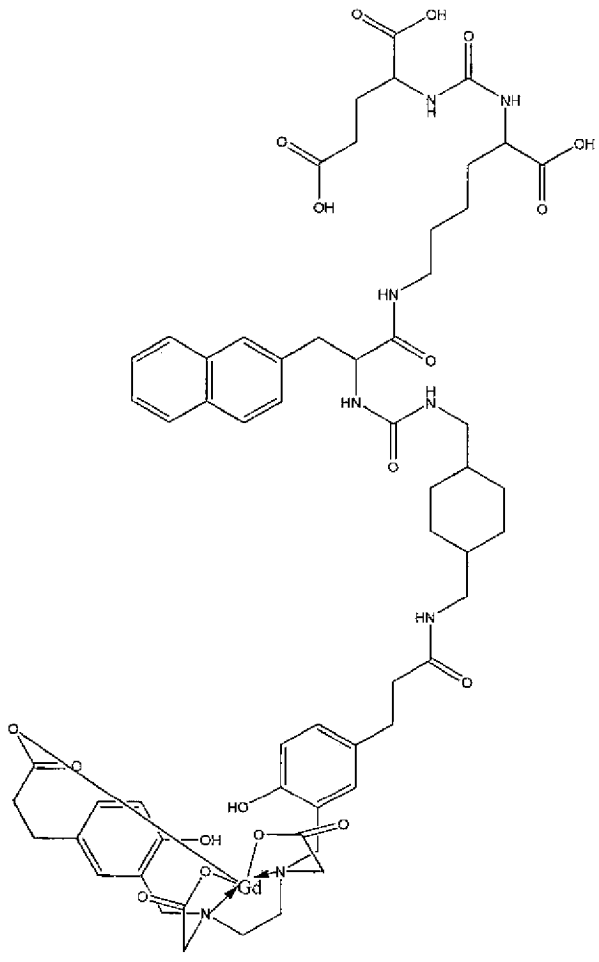
(а) (б)

Gd-DOTAGA-PSMA-1201 (а); Gd-DOTAGA-PSMA-415 (б).

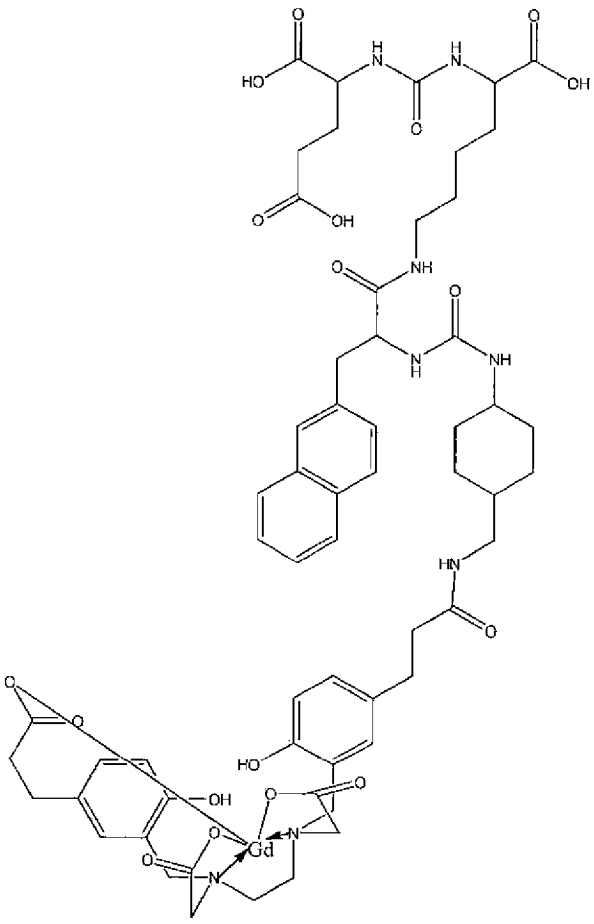


(а) (б)

Gd-DOTA-PSMA-1201 (а); Gd-DOTA-PSMA-415 (б).

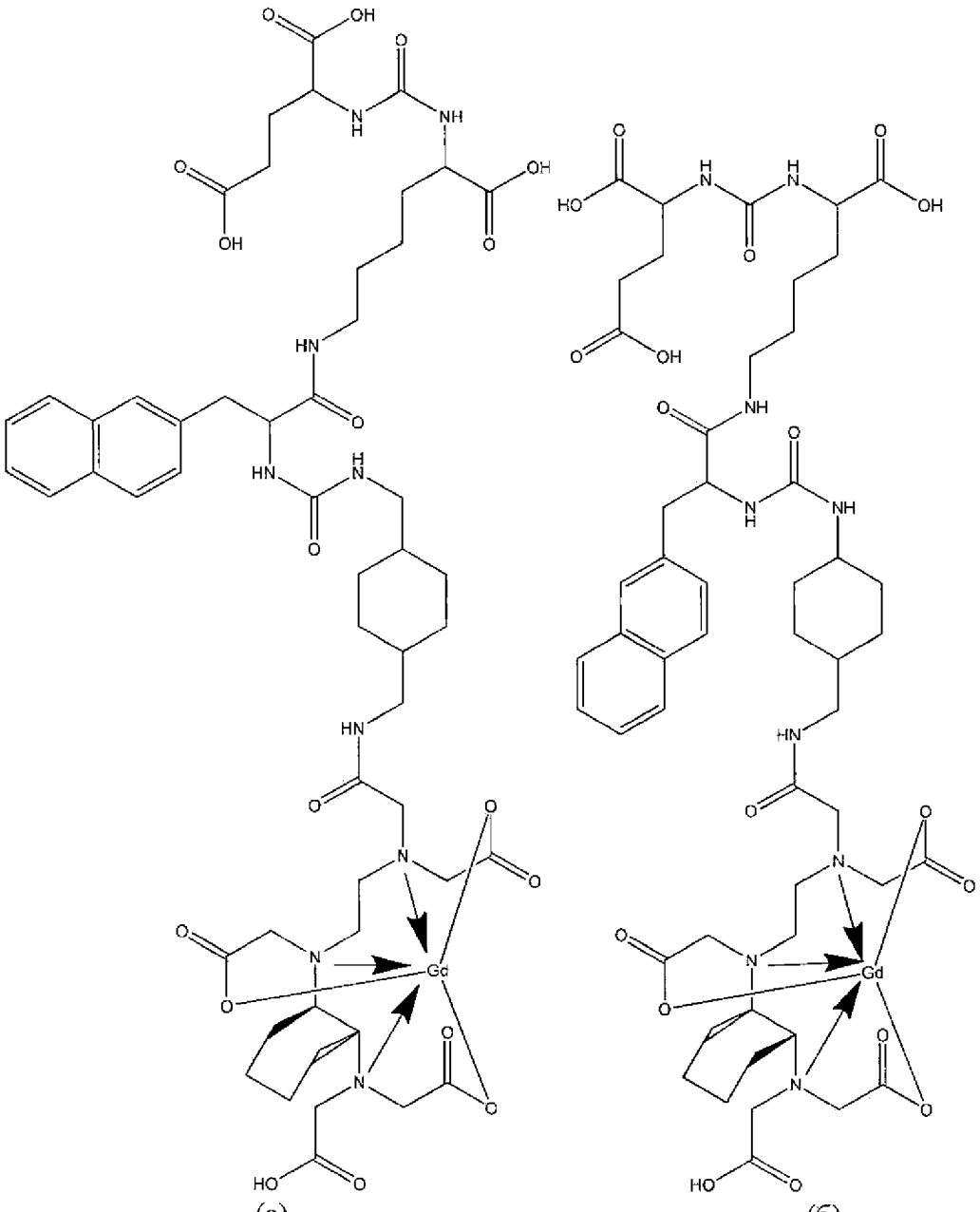


(а)



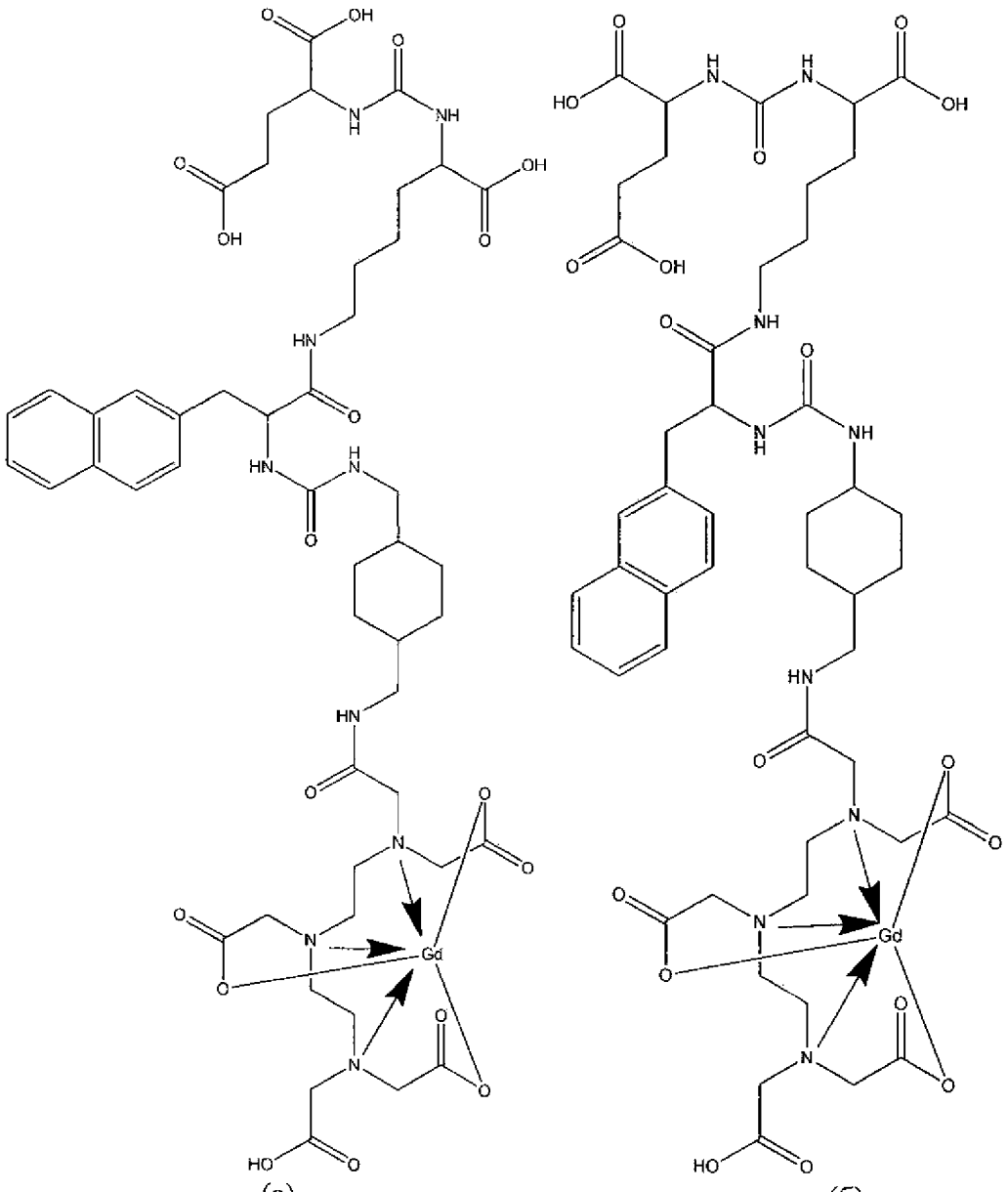
(б)

Gd-HBED-CC-PSMA-1201 (а); Gd-HBED-CC-PSMA-415 (б).



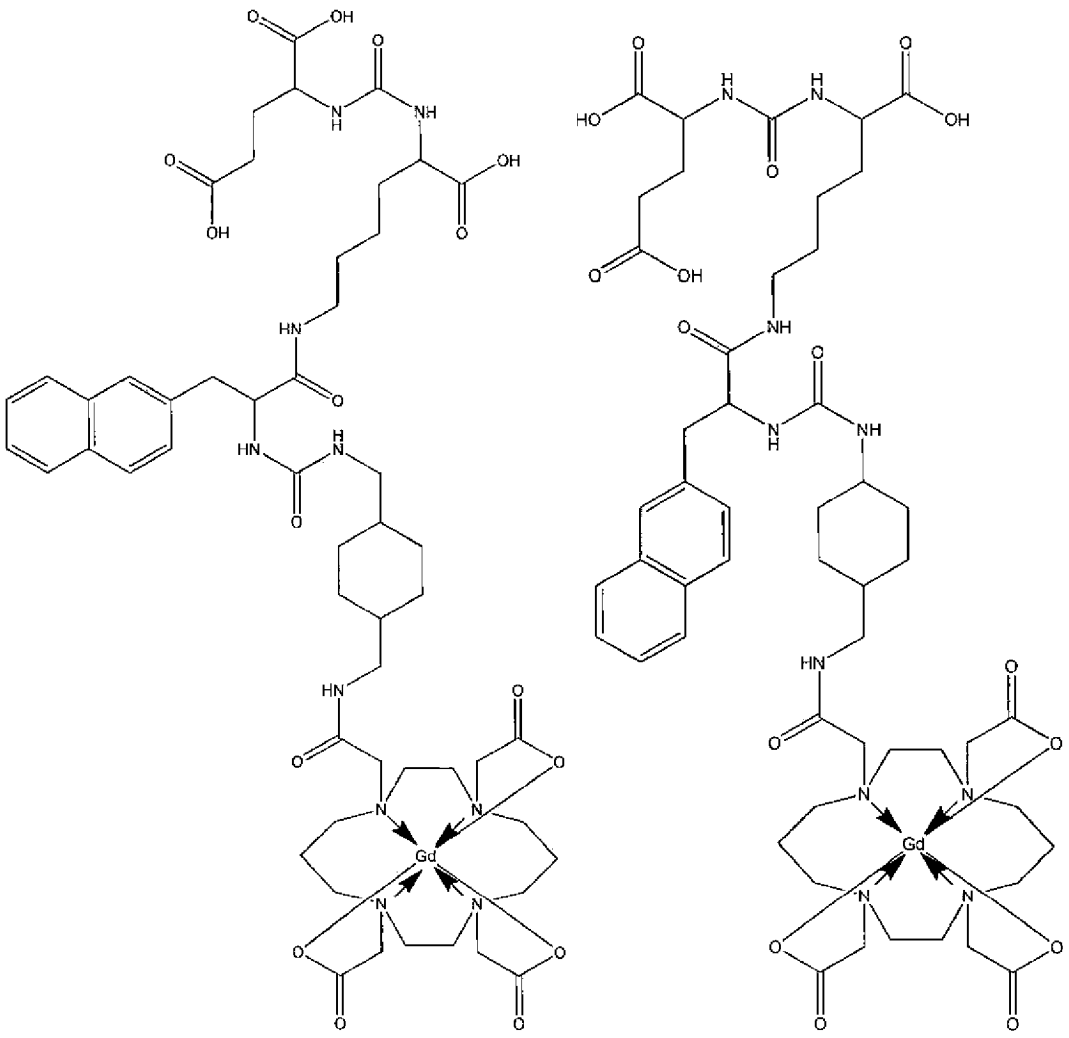
(а) (б)

Gd-CHX-DTPA-PSMA-1201 (а); Gd-CHX-DTPA-PSMA-415 (б).



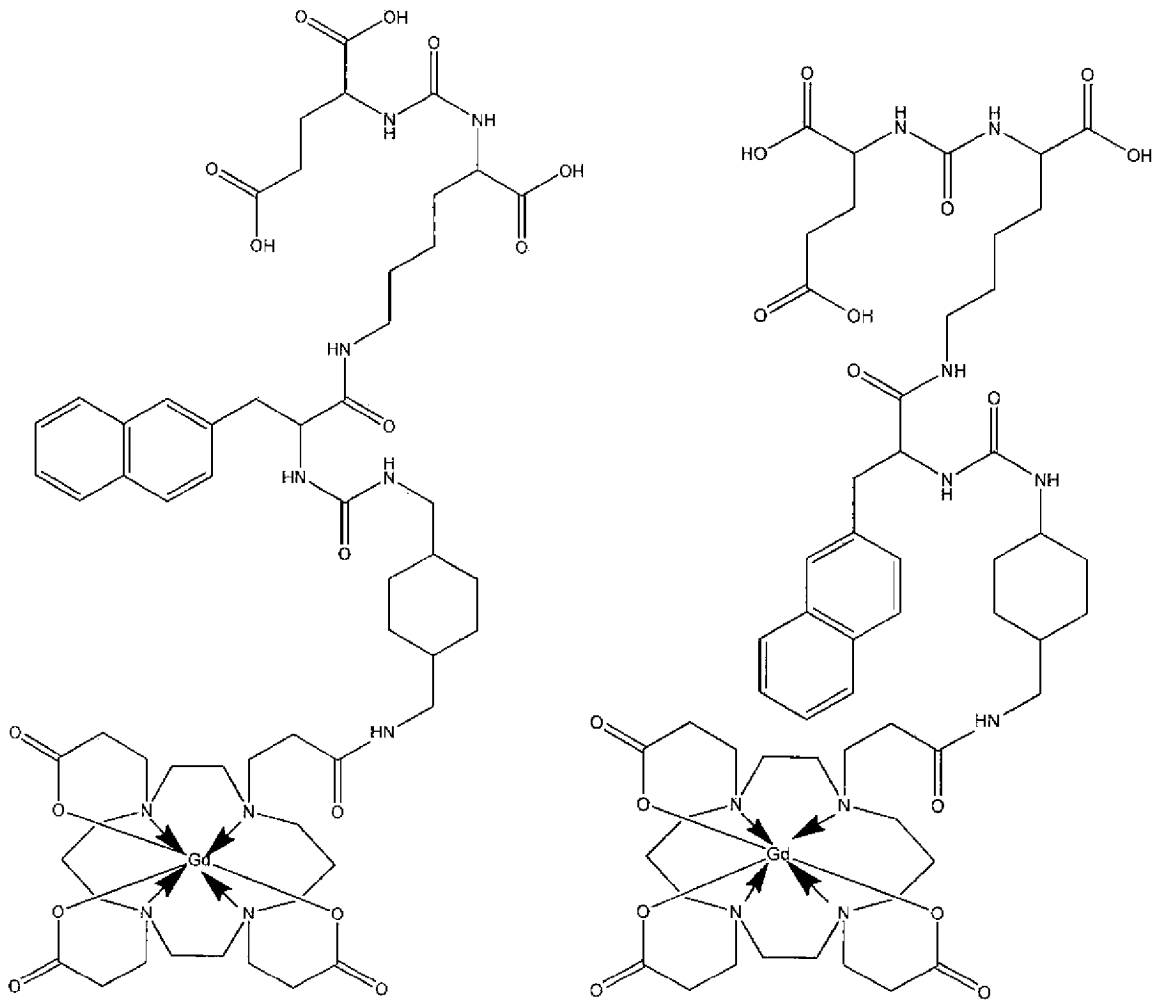
(а) (б)

Gd-DTPA-PSMA-1201 (а); Gd-DTPA-PSMA-415 (б).



(а) (б)

Gd-TETA-PSMA-1201 (а); Gd-TETA-PSMA-415 (б).



(а) (б)

Gd-TETPA-PSMA-1201 (а); Gd-TETPA-PSMA-415 (б).

3. Способ применения комплексного соединения гадолиния, включающего ПСМА–связывающий лиганд, конъюгированный с хелатирующими агентами, по одному из пп.1-2 в качестве активного действующего вещества в составе контрастного диагностического и терапевтического средства для магнитно-резонансной диагностики злокачественных образований рака предстательной железы и метастазов.

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

202100274

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:
См. дополнительный лист

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)
C07F 5/00, C07D 257/02, C07C 275/24, 275/26, A61K 49/10

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)
Espacenet, ЕАПАТИС, EPOQUE Net, Reaxys, Google

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	WO 2015/171792 A1 (THE JOHNS HOPKINS UNIVERSITY et al.) 12.11.2015, страница 11, строки 1-17, пример 1, пункты 1-5, 9-13, 18-22 формулы	1-3
A	WO 2015/055318 A1 (DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.) 23.04.2015, страница 3, строка 28- страница 3, строка 6, пункты 1-6, 8-10 формулы	1-3
A	WO 2021/013978 A1 (BAYER AS et al.) 28.01.2021, страница 1, строки 3-9, страница 252, пример 29-A, страницы 368-369, пример 40-A, пункты 1-3, 20 формулы	1-3
A	EP 1302465 A1 (BRACCO IMAGING S.P.A.) 16.04.2003, параграф [0129], пункты 1, 11, 15, 16 формулы, реферат	1-3

☐ последующие документы указаны в продолжении

* Особые категории ссылочных документов:
«A» - документ, определяющий общий уровень техники
«D» - документ, приведенный в евразийской заявке
«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее
«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.
"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«T» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения
«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности
«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории
«&» - документ, являющийся патентом-аналогом
«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: 08 ноября 2022 (08.11.2022)

Уполномоченное лицо:
Начальник Управления экспертизы

Документ подписан электронной подписью
Сертификат: 1653480328483
Владелец: CN=Аверкиев С.
Действителен: 25.05.2022-25.05.2023

С.Е. Аверкиев

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ
(дополнительный лист)

Номер евразийской заявки:

202100274

КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ (продолжение графы А)

C07F 5/00 (2006.01)
C07D 257/02 (2006.01)
C07C 275/24 (2006.01)
C07C 275/26 (2006.01)
A61K 49/10 (2006.01)