

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046402**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.03.08

(51) Int. Cl. **A61K 51/04** (2006.01)
A61K 51/08 (2006.01)

(21) Номер заявки
202090370

(22) Дата подачи заявки
2018.07.30

(54) **ДВУХРЕЖИМНАЯ РАДИОАКТИВНАЯ МЕТКА И РАДИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО**

(31) **17183795.8**

(32) **2017.07.28**

(33) **EP**

(43) **2020.05.25**

(86) **PCT/EP2018/070533**

(87) **WO 2019/020831 2019.01.31**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ТЕХНИШЕ УНИВЕРЗИТЕТ
МЮНХЕН; ТЕХНИШЕ
УНИВЕРЗИТЕТ МЮНХЕН -
КЛИНИКУМ РЕХТС ДЕР ИЗАР (DE)**

(72) Изобретатель:
**Вурцер Александер Йозеф, Вестер
Ханс-Йюрген, Айбер Маттиас
Иоганнес (DE)**

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Билык А.В., Дмитриев А.В., Черкас
Д.А., Игнатъев А.В., Путинцев А.И.
(RU)**

(56) S. LITAU ET AL.: "Next Generation of SiFA lin-Based TATE Derivatives for PET Imaging of SSTR-Positive Tumors: Influence of Molecular Design on in Vitro SSTR Binding and in Vivo Pharmacokinetics", *BIOCONJUGATE CHEMISTRY*, vol. 26, no. 12, 16 December 2015 (2015-12-16), pages 2350-2359, XP055452403, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.5b00510, abstract; figures 4-7

SIMON LINDNER ET AL.: "Synthesis and in Vitro and in Vivo Evaluation of SiFA-Tagged Bombesin and RGD Peptides as Tumor Imaging Probes for Positron Emission Tomography", *BIOCONJUGATE CHEMISTRY*, vol. 25, no. 4, 16 April 2014 (2014-04-16), pages 738-749, XP055449461, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/bc400588e, page 739; figure 1; compound 1

VADIM BERNARD-GAUTHIER ET AL.: "From Unorthodox to Established: The Current Status of 18 F-Trifluoroborate- and 18 F-SiFA-Based Radiopharmaceuticals in PET Nuclear Imaging", *BIOCONJUGATE CHEMISTRY*, vol. 27, no. 2, 17 February 2016 (2016-02-17), pages 267-279, XP055305200, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.5b00560, figure 8a; compounds 18F-35

CN-A-102626522

(57) Изобретение относится к конъюгату лиганд-SiFA-хелатор (SiFA-кремнефторидный акцептор), содержащему в одной молекуле три отдельных фрагмента: (a) один или более лигандов, которые способны связываться с молекулой-мишенью, соответствующей заболеванию, (b) фрагмент кремнефторидного акцептора (SiFA), который содержит ковалентную связь между атомом кремния и атомом фтора, и (c) одну или более хелатирующих групп, необязательно содержащую хелатированный нерадиоактивный или радиоактивный катион.

B1**046402****046402 B1**

Настоящее изобретение относится к конъюгату лиганд-SIFA-хелатор (SIFA -кремнефторидный акцептор), содержащему в одной молекуле: (a) один или более лигандов, которые способны связываться с молекулой-мишенью, соответствующей заболеванию, (b) фрагмент кремнефторидного акцептора (SIFA), который содержит ковалентную связь между кремнием и атомом фтора и который может быть помечен ^{18}F путем изотопного обмена ^{19}F на ^{18}F или который мечен ^{18}F , и (c) одну или более хелатирующую группу, необязательно содержащую хелатированный нерадиоактивный или радиоактивный катион.

В настоящем описании цитируется ряд документов, в том числе патентные заявки и руководства производителя. Раскрытие данных документов, хотя и не считается значимым для патентоспособности настоящего изобретения, полностью включено в настоящее описание посредством ссылки. Более конкретно, все указанные документы включены посредством ссылки в той же степени, как если бы каждый отдельный документ был конкретно и индивидуально включен посредством ссылки.

Рак предстательной железы

Рак предстательной железы (РПЖ) оставался на протяжении последних десятилетий наиболее распространенным злокачественным заболеванием с низкой частотой выживания у мужчин. Вследствие сверхэкспрессии при раке предстательной железы (Silver et al., *Clinical Cancer Research* 3, 81-85 (1997)) простатспецифический мембранный антиген (PSMA) или глутаматкарбоксипептидаза II (GCP II) доказали свою пригодность в качестве превосходной мишени для разработки высокочувствительных радиомеченных агентов для эндоррадиотерапии и визуализации РПЖ (Afshar-Oromieh et al., *European journal of nuclear medicine and molecular imaging* 42, 197-209 (2015), Benešová et al., *Journal of Nuclear Medicine* 56, 914-920 (2015), Robu et al., *Journal of Nuclear Medicine*, jnumed. 116.178939(2016), Weineisen et al., *Journal of Nuclear Medicine* 55, 1083-1083 (2014), Rowe et al., *Prostate cancer and prostatic diseases* (2016), Maurer et al., *Nature Reviews Urology* (2016)). Простатспецифический мембранный антиген представляет собой внеклеточную гидролазу, каталитический центр которой содержит два иона цинка (II) с мостиковым гидроксидо-лигандом. Он сильно повышен при метастатическом и гормонально-рефрактерном раке предстательной железы, но его физиологическая экспрессия также отмечена в почках, слюнных железах, тонком кишечнике, мозге и, в меньшей степени, также в здоровой ткани предстательной железы. В кишечнике PSMA способствует абсорбции фолата путем превращения птероилполи-у-глутамата в птероилглутамат(фолат). В мозге он гидролизует N-ацетил-ласпартил-L-глутамат (NAAG) до N-ацетил-L-аспартата и глутамата.

Простатспецифический мембранный антиген (PSMA)

Простатспецифический мембранный антиген (PSMA) представляет собой трансмембранный гликопротеин типа II, который высоко сверхэкспрессируется в эпителиальных клетках рака предстательной железы. Несмотря на свое название, PSMA также в разной степени экспрессируется в новообразованных сосудах большого числа видов рака, не относящихся к предстательной железе. К числу наиболее распространенных видов рака, не относящихся к предстательной железе, демонстрирующих экспрессию PSMA, относятся рак молочной железы, легких, колоректальный и почечно-клеточный рак.

Общие необходимые структуры молекул, обеспечивающих целенаправленное воздействие на PSMA, содержат связывающую единицу, которая включает цинк-связывающую группу (такую как мочевины (Zhou et al., *Nature Reviews Drug Discovery* 4, 1015-1026 (2005)), фосфинат или фосфорамидат), связанные с фрагментом P1'-глутамат, который гарантирует высокую аффинность и специфичность к PSMA и, как правило, дополнительно связан с эффекторной функциональной группой (Machulkin et al., *Journal of drug targeting*, 1-15 (2016)). Эффекторная часть более гибкая и в некоторой степени устойчива к структурным изменениям. Входной туннель вмещает две другие важные структурные характеристики, которые важны для связывания лиганда. Первая представляет собой пэтч аргинина, положительно заряженный участок на стенке входного туннеля и механистическое объяснение предпочтения отрицательно заряженных функциональных групп в положении P1 PSMA. По-видимому, это является причиной предпочтительного включения отрицательно заряженных остатков в каркас лиганда. Насколько известно авторам изобретения, углубленный анализ влияния положительных зарядов на лиганды PSMA до сих пор не был проведен. При связывании, согласованное перемещение боковых цепей аргинина может привести к открытию гидрофобного вспомогательного кармана S1, второй важной структуры, которая, как было показано, вмещает йодобензильную группу из более ингибиторов на основе мочевины, тем самым способствуя их высокой аффинности к PSMA (Barinka et al., *Journal of medicinal chemistry* 51, 7737-7743 (2008)).

Zhang и соавторы обнаружили удаленный сайт связывания PSMA, который можно применять для режима бидентатного связывания (Zhang et al., *Journal of the American Chemical Society* 132, 12711-12716 (2010)). Так называемый сайт связывания арена представляет собой простой структурный мотив, образованный боковыми цепями Arg463, Arg511 и Trp541, и является частью входной крышки GCP II. Вовлечение сайта связывания арена дистальным ингибиторным фрагментом может привести к значительному увеличению аффинности ингибитора к PSMA вследствие эффектов avidности. PSMA I&T разработали специально для взаимодействия с PSMA таким образом, хотя анализ кристаллической структуры режима связывания недоступен. Необходимая характеристика, в соответствии с Zhang и соавторами, представляет собой линкерную единицу (субериновая кислота в случае PSMA I&T), которая способствует открытой

конформации входной крышки GСРІІ и, таким образом, обеспечивает доступность сайта связывания арена. Далее было показано, что структурный состав линкера оказывает значительное влияние на направленную доставку терапевтического препарата в область опухоли и биологическую активность, а также на контрастность изображения и фармакокинетику (Liu et al., *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 21, 7013-7016 (2011)), свойства, которые имеют решающее значение как для высокого качества изображения, так и для эффективной направленной эндордиотерапии.

В настоящее время в клинических условиях применяют две категории ингибиторов, обеспечивающих целенаправленное воздействие на PSMA. С одной стороны, существуют радиоактивные метки с хелатирующими звеньями для комплексообразования с радионуклидами, такими как PSMA I&T или родственными соединениями (Kiess et al., *The quarterly journal of nuclear medicine and molecular imaging* 59, 241 (2015)). С другой стороны, существуют небольшие молекулы, включающие элемент, обеспечивающий целенаправленное воздействие, и эффекторные молекулы.

Наиболее часто применяемые агенты для селективной визуализации PSMA представляют собой PSMA HBED-CC (Eder et al., *Bioconjugate chemistry* 23, 688-697 (2012)), PSMA-617 (Benešová et al., *Journal of Nuclear Medicine* 56, 914-920 (2015)) и PSMA I&T (Weineisen et al., *Journal of Nuclear Medicine* 55, 1083-1083 (2014)), которые преимущественно мечены ^{68}Ga (88,9% β^+ , E_{β^+} , макс = 1,89 МэВ, $t_{1/2}$ = 68 мин). Среди указанных, ^{68}Ga -PSMA-HBED-CC (также известен как ^{68}Ga -PSMA-11) до сих пор считается золотым стандартом для ПЭТ-визуализации (ПЭТ - позитронно-эмиссионная томография) РПЖ.

Мечение ^{18}F

В последнее время несколько групп сосредоточились на разработке новых ингибиторов, меченных ^{18}F , на основе мочевины для диагностики РПЖ. В отличие от радиометалла ^{68}Ga , который можно получить из коммерчески распространяемых генераторов радионуклидов $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ (^{68}Ge , $t_{1/2}$ = 270,8 д), радиоизотоп ^{18}F -фторид (96,7% β^+ , E_{β^+} , макс = 634 кэВ) требует наличия циклотрона для его получения. Несмотря на это ограничение, ^{18}F обладает из-за своего более длительного периода полураспада ($t_{1/2}$ = 109,8 мин) и более низкой энергии позитронов, значительными преимуществами с точки зрения рутинной обработки и качества изображения. Кроме того, существует возможность крупномасштабного производства в циклотроне, что было бы выгодно для более высокой пропускной способности пациентов и снижения производственных затрат. ^{18}F -меченный ингибитор PSMA на основе мочевины ^{18}F -DCFpYl продемонстрировал многообещающие результаты в обнаружении первичного и метастатического РПЖ (Rowe et al., *Molecular Imaging and Biology*, 1-9 (2016)) и превосходство над ^{68}Ga -PSMA-HBED-CC в сравнительном исследовании (Dietlein et al., *Molecular Imaging and Biology* 17, 575-584 (2015)). На основе структуры PSMA-617 недавно был разработан ^{18}F -меченный аналог PSMA-1007, который показал сравнимые соотношения опухоли к органам (Cardinale et al., *Journal of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine* 58, 425-431 (2017), Giesel et al., *European journal of nuclear medicine and molecular imaging* 43, 1929-1930 (2016)). Сравнительное исследование с ^{68}Ga -PSMA-HBED-CC выявило сходную диагностическую точность обеих радиоактивных меток и сниженный мочевой клиренс ^{18}F -PSMA-1007, что позволило улучшить оценку предстательной железы (Giesel et al., *European journal of nuclear medicine and molecular imaging* 44, 678-688 (2017)).

Привлекательным подходом для введения меток ^{18}F является применение кремнефторидных акцепторов (SIFA). Кремнефторидные акцепторы описаны, например, в Lindner et al., *Bioconjugate Chemistry* 25, 738-749 (2014). Чтобы сохранить связь кремний-фторид, применение кремнефторидных акцепторов приводит к необходимости введения стерически требовательных групп вокруг атома кремния. Это, в свою очередь, делает кремнефторидные акцепторы высоко гидрофобными. Что касается связывания с молекулой-мишенью, в частности с молекулой-мишенью, которая представляет собой PSMA, гидрофобный фрагмент, обеспечиваемый кремнефторидным акцептором, можно применять для установления взаимодействий радиодиагностического или терапевтического соединения с гидрофобным карманом, как описано в Zhang et al., *Journal of American Chemical Society* 132, 12711-12716 (2010). Тем не менее, до связывания более высокая степень липофильности, введенная в молекулу, представляет серьезную проблему для разработки радиофармацевтических средств с подходящим биораспределением *in vivo*, то есть с низким неспецифическим связыванием в нецелевой ткани.

Невозможность решить проблему гидрофобности

Несмотря на многочисленные попытки, проблема гидрофобности, вызываемая кремнефторидными акцепторами, не была удовлетворительно решена в предшествующем уровне техники.

Более подробно, Schirmacher E. и соавторы (*Bioconjugate Chem.* 2007, 18, 2085-2089) синтезировали различные ^{18}F -меченные пептиды с применением высокоэффективного меченого синтона р-(ди-трет-бутилфторсилл) бензальдегида (^{18}F]-SIFA-A), который является одним из примеров кремнефторидного акцептора. Метод SIFA привел к неожиданно эффективному изотопному обмену ^{19}F - ^{18}F и дал ^{18}F -синтон с почти количественным выходом при высокой удельной активности между 225 и 680 ГБк/ммоль (6081-18 378 Ки/ммоль) без применения очистки ВЭЖХ (высоко эффективная жидкостная хроматография). ^{18}F]-SIFA-бензальдегид был наконец применен для мечения N-концевых аминокислот (N-AO) дериватизированных пептидов АО-Тур3-октреотат (АО-TATE), цикло(fK(AO-N)RGD) и N-AO-PEG₂-[D-Тур-Gln-

Trp-Ala-Val-Ala-His-Thi-Nle-NH₂](AO-BZH3, производное бомбезина) с высокими радиохимическими выходами. Тем не менее, меченые пептиды являются высоко липофильными (что может быть взято из времени удержания ВЭЖХ с применением условий, описанных в указанном документе) и, таким образом, не подходят для дальнейшей оценки на моделях животных или на людях.

У Wängler C. и соавторов (Bioconjugate Chem., 2009, 20 (2), стр. 317-321), было описано первое основанное на SIFA Kit-подобное радиофторирование белка (сывороточный альбумин крысы, RSA). В качестве маркирующего агента, 4-(ди-трет-бутил[¹⁸F]фторсил)бензолтиол (Si[¹⁸F]FA-SH) получали простым изотопным обменом с радиационно-химическим выходом (ПХВ) от 40 до 60% и связывали продукт непосредственно с дериватизированным малеимидом сывороточным альбумином с общим ПХВ 12% в течение от 20 до 30 мин. Технически простой способ мечения не требует каких-либо сложных процедур очистки и является прямым примером успешного применения химического состава Si-¹⁸F для визуализации *in vivo* с помощью ПЭТ. Зависимости время-активность и изображения мПЭТ у мышей показали, что большая часть активности была локализована в печени, что свидетельствует о том, что маркирующий агент является слишком липофильным и направляет зонд *in vivo* к выведению гепатобилиарной системой и интенсивному метаболизму в печени.

Wängler C. и соавторы (см. Bioconjug Chem. 2010 Dec 15, 21 (12): 2289-96) впоследствии попытались преодолеть главный недостаток методики SIFA, высокую липофильность получаемых радиофармацевтических средств, путем синтеза и оценки новых аналогов SIFA-октреотата (SIFA-Тур3-октреотат, SIFA-Asn(AcNH-β-Glc)-Тур3-октреотат и SIFA-Asn(AcNH-β-Glc)-PEG-Тур3-октреотат). В данных соединениях гидрофильные линкеры и фармакокинетические модификаторы были введены между пептидом и фрагментом SIFA, то есть углеводом и линкером PEG плюс углевод. В качестве меры липофильности конъюгатов было определено, что log P(ow) составляет 0,96 для SIFA-Asn(AcNH-β-Glc)-PEG-Тур3-октреотата и 1,23 для SIFA-Asn(AcNH-β-Glc)-Тур3-октреотата. Данные результаты показывают, что высокая липофильность фрагмента SIFA может быть лишь незначительно компенсирована применением гидрофильных фрагментов. Первое исследование изображений показало чрезмерный печеночный клиренс/эффективность всасывания в печени и, следовательно, дальнейшее первое исследование на людях не осуществляли.

Bernard-Gauthier и соавторы (Biomed Res Int. 2014, 2014:454503) рассматривают большое количество различных видов SIFA, о которых сообщалось в литературе, от небольших простетических групп и других соединений с низкой молекулярной массой до меченых пептидов и совсем недавно описанных молекул аффител. Основываясь на этих данных, проблема липофильности простетических групп на основе SIFA не была решена, то есть способ, который снижал бы общую липофильность конъюгированного с SIFA пептида до log D ниже приблизительно минус 2,0, не был описан.

У Lindner S. и соавторов (Bioconjug Chem. 2014 Apr 16, 25 (4):738-49) описано, что производные пегилированного бомбезина (PESIN) в качестве специфических лигандов рецептора GRP и пептидов RGD (однобуквенные коды для аргинин-глицин-аспарагиновой кислоты) в качестве специфических αvβ3 связующих веществ были синтезированы и мечены фрагментом кремнефторидного акцептора (SIFA). Чтобы компенсировать высокую липофильность фрагмента SIFA, были введены различные модификации гидрофильной структуры, что привело к снижению значений logD. SIFA-Asn(AcNH-β-Glc)-PESIN, SIFA-Ser(β-Lac)-PESIN, SIFA-Суа-PESIN, SIFA-LysMe3-PESIN, SIFA-γ-карбоксо-d-Glu-PESIN, SIFA-Суа2-PESIN, SIFA-LysMe3-γ-карбоксо-d-Glu-PESIN, SIFA-(γ-карбоксо-d-Glu)2-PESIN, SIFA-RGD, SIFA-γ-карбоксо-d-Glu-RGD, SIFA-(γ-карбоксо-d-Glu)2-RGD, SIFA-LysMe3-γ-карбоксо-d-Glu-RGD. Все эти пептиды, уже улучшенные и дериватизированные с целью снижения липофильности, показали значение logD в диапазоне от плюс 2 до минус 1,22.

Niedermoser S. и соавторы (J Nucl Med. 2015 Jul, 56 (7): 1100-5) сравнивали недавно разработанные ¹⁸F-SIFA- и ¹⁸F-SIFA1in- (SIFA - кремнефторидный акцептор) модифицированные производные TATE с текущим клиническим золотым стандартом ⁶⁸Ga-DOTATATE для высококачественной визуализации опухолей, несущих рецептор соматостатина. Для этой цели были разработаны ¹⁸F-SIFA-TATE и два довольно сложных аналога, ¹⁸F-SIFA-Glc-PEG1-TATE, ¹⁸F-SIFA1in-Glc-Asp2-PEG1-TATE. Ни один из агентов не показал logD менее минус 1,5.

Ввиду вышесказанного, техническая задача, лежащая в основе настоящего изобретения, может быть определена в обеспечении радиодиагностических и радиотерапевтических средств, которые содержат кремнефторидный акцептор и в то же время характеризуются благоприятными свойствами *in vivo*.

Как станет ясно далее, в настоящем изобретении раскрыты проверка и подтверждение принципа применения специфических конъюгатов, которые связываются с высокой аффинностью с простатспецифическим антигеном (PSMA) в качестве мишени. Соответственно, еще одна техническая задача, лежащая в основе настоящего изобретения, заключается в создании улучшенных радиотерапевтических и радиодиагностических средств для медицинских показаний, которые представляют собой рак, предпочтительно рак предстательной железы.

Решение указанных технических задач обеспечено заявленным предметом настоящего изобретения. Соответственно, в первом аспекте настоящее изобретение относится к конъюгату лиганд-SIFA-хелатор,

содержащему в одной молекуле: (а) один или более лигандов, которые могут связываться с молекулой-мишенью, соответствующей заболеванию, (b) фрагмент кремнефторидного акцептора (SIFA), который содержит ковалентную связь между кремнием и атомом фтора и который может быть мечен ^{18}F путем изотопного обмена ^{19}F на ^{18}F или который мечен ^{18}F , и (с) одну или более хелатирующую группу, необязательно содержащую хелатированный нерадиоактивный или радиоактивный катион.

Конъюгат лиганд-SIFA-хелатор включает три отдельных фрагмента. Три отдельных фрагмента представляют собой: а) один или более лигандов, которые способны связываться с молекулой-мишенью, соответствующей заболеванию, (b) кремнефторидный акцептор (SIFA), который содержит ковалентную связь между кремнием и атомом фтора, и (с) одну или более хелатирующую группу, необязательно содержащую хелатированный нерадиоактивный или радиоактивный катион.

Атом фтора в фрагменте SIFA может представлять собой ^{19}F или ^{18}F .

Хотя определенные лиганды, которые могут связываться с молекулой-мишенью, относящейся к заболеванию, могут представлять собой циклические пептиды, такие циклические пептиды не являются хелатирующими группами, как предусмотрено в настоящем документе, поскольку задача гидрофобного фрагмента SIFA не решается в отсутствие дополнительного хелатирующего фрагмента. Таким образом, соединения по настоящему изобретению требуют гидрофильной хелатирующей группы в дополнение к лигандам, которые способны связываться с молекулой-мишенью, соответствующей заболеванию. Гидрофильная хелатирующая группа необходима для уменьшения гидрофобной природы соединений, вызванной присутствием фрагмента SIFA.

Лиганд, соответствующий первому аспекту изобретения, определен в функциональном отношении. Это тот случай, потому что настоящее изобретение не зависит от конкретной природы лиганда в структурном отношении. Скорее, ключевым аспектом изобретения является комбинация, в пределах одной молекулы, кремнефторидного акцептора и хелатора или хелата. Данные два структурных элемента, SIFA и хелатор, демонстрируют пространственную близость. Предпочтительно кратчайшее расстояние между двумя атомами двух элементов составляет менее или равно 25 \AA , более предпочтительно менее 20 \AA и еще более предпочтительно менее 15 \AA . В качестве альтернативы или в дополнение, предпочтительно, чтобы не более 25 ковалентных связей отделяли атом фрагмента SIFA и атом хелатора, предпочтительно не более 20 химических связей и еще более предпочтительно не более 15 химических связей.

Катион в соответствии с пунктом (с) первого аспекта представляет собой радиоактивный или нерадиоактивный катион. Это предпочтительно катион радиоактивного или нерадиоактивного металла и более предпочтительно катион радиоактивного металла. Примеры приведены ниже.

Как следствие, входят в объем первого аспекта конъюгаты, которые являются радиоактивно мечеными как на фрагменте SIFA, так и на хелатирующей группе, молекулы, которые являются радиоактивно мечеными только на одной из двух сторон, а также молекулы, которые вовсе не являются радиоактивно мечеными. В последнем случае, хелатирующая группа может быть либо комплексом холодного (нерадиоактивного) иона, либо может не содержать никакого иона.

Авторами настоящего изобретения неожиданно обнаружено, что размещение кремнефторидного акцептора вблизи гидрофильного хелатора, такого как, но не ограничиваясь ими, DOTAGA ((1-(1,3-карбокспропил)4,7,10(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан) или DOTA (тетракетан), экранирует или эффективно компенсирует липофильность фрагмента SIFA до степени, которая сдвигает общую гидрофобность радиотерапевтического или радиодиагностического соединения в диапазоне, который делает соединение пригодным для введения *in vivo*.

Кроме того, сочетание применения хелатора и изотопного обмена на SIFA с помощью ^{18}F -фторида также приводит к "спаренным" диагностическим радиоактивным меткам, которые можно применять в качестве [^{18}F] $^{\text{nat}}$ Ион]меток в центрах с локальным циклотроном или центрах, которые получают ^{18}F -фторид путем отгрузки из циклотронных центров, тогда как в центрах, которые не имеют доступа к ^{18}F -фториду, но имеют доступ к радиоизотопным генераторам, таким как генератор Ge-68/Ga-68, можно применять соответствующие версии, например [$^{\text{nat}}\text{F}$] ^{68}Ga метки.

Важно, что в обоих случаях вводят химически идентичное радиофармацевтическое средство, и, следовательно, не ожидают никаких различий в поведении *in vivo*. При том, что в настоящее время вследствие химических различий, клинические данные по соединению, меченному ^{18}F , предоставленные на группе пациентов в одном месте, нельзя напрямую сравнивать с клиническими данными аналога ^{68}Ga , предоставленными на другой группе в другом месте, радиофармацевтическое и/или радиодиагностическое средство по настоящему изобретению можно сравнивать напрямую и, таким образом, можно связывать такие данные (например, данные из европейского центра, работающего с F-18, и другого центра в Индии, работающего с Ga-68).

Кроме того, при подходящем выборе хелат можно также применять для мечения терапевтическим изотопом, таким как бета-излучающие изотопы Lu-177, Y-90 или альфа-излучающий изотоп Ac-225, что позволяет расширить концепцию "спаренных" радиофармацевтических средств для соединения диагностических ([^{18}F] $^{\text{nat}}$ Lu]меток) и терапевтических радиофармацевтических средств ([$^{\text{nat}}\text{F}$] ^{177}Lu).

Еще одним преимуществом соединений, особенно соединений, обеспечивающих целенаправленное воздействие на PSMA, по настоящему изобретению является их удивительно низкое накопление в почках

мышей по сравнению с другими радиофармацевтическими средствами, обеспечивающими целенаправленное воздействие на PSMA, такими как PSMA I&T. Не ограничиваясь какой-либо конкретной теорией, подразумевают, что причина в комбинации структурного элемента SIFA с хелатором, который обеспечивает неожиданное уменьшение накопления в почках.

С точки зрения липофильности/гидрофильности значение $\log P$ (иногда также называемое значением $\log D$) является общепринятой величиной в уровне техники.

Термин "липофильность" относится к силе растворения или поглощения в липидных растворах или адсорбции на липидоподобной поверхности или матриксе. Он обозначает предпочтение для липидов (буквальное значение) или для органических или неполярных жидкостей, или для жидкостей, растворов или поверхностей с небольшим дипольным моментом по сравнению с водой. Термин "гидрофобность" применяют здесь с эквивалентным значением. Прилагательные липофильные и гидрофобные применяют в значении, соответствующем существительным, описанным выше.

Массовая скорость молекулы на границе раздела двух несмешивающихся или практически несмешивающихся растворителей определяется ее липофильностью. Чем более липофильна молекула, тем более она растворима в липофильной органической фазе. Коэффициент распределения молекулы, который наблюдается между водой и *n*-октанолом, был принят в качестве стандартной меры липофильности. Коэффициент распределения *P* вида *A* определяли, как отношение $P = [A]_{\text{n-октанол}}/[A]_{\text{вода}}$. Типичное значение представляет собой значение $\log P$, которое является логарифмом коэффициента распределения. В случае, если молекула является ионизируемой, в обеих фазах, в принципе, будет присутствовать множество различных микровидов (ионизированных и неионизированных форм молекулы). Величина, характеризующая общую липофильность ионизируемого вида, представляет собой коэффициент разделения *D*, определяемый как отношение $D = [\text{сумма концентраций всех микровидов}]_{\text{n-октанол}}/[\text{сумма концентраций всех микровидов}]_{\text{вода}}$. Аналогично $\log P$, часто употребляют $\log D$, логарифм коэффициента разделения. Часто буферную систему, такую как фосфатно-солевой буфер, применяют в качестве альтернативы воде в вышеописанном определении $\log P$.

Если липофильный характер заместителя в первой молекуле должен быть оценен и/или определен количественно, можно оценить вторую молекулу, соответствующую этому заместителю, где указанная вторая молекула получена, например, путем разрыва связи, соединяющей указанный заместитель с остальной частью первой молекулы и присоединение полученной таким образом свободной валентности(ей) к водороду(ам).

В качестве альтернативы, может быть определен вклад заместителя в $\log P$ молекулы. Вклад π_{Xx} заместителя *X* в $\log P$ молекулы *R-X* определяют как $\pi_{Xx} = \log P_{R-X} - \log P_{R-H}$, где *R-H* представляет собой незамещенное исходное соединение.

Значения *P* и *D* больше единицы, а также значения $\log P$, $\log D$ и π_{Xx} больше нуля указывают на липофильный/гидрофобный характер, тогда как значения *P* и *D* меньше единицы, а значения $\log P$, $\log D$ и π_{Xx} меньше нуля указывают гидрофильный характер соответствующих молекул или заместителей.

Вышеописанные параметры, характеризующие липофильность липофильной группы или всей молекулы по настоящему изобретению, могут быть определены экспериментальными способами и/или предсказаны с помощью вычислительных способов, известных в данной области техники (см., например, Sangster, Octanol-water Partition Coefficients: fundamentals and physical chemistry, John Wiley & Sons, Chichester. (1997)).

В предпочтительном варианте осуществления, значение $\log P$ для соединений по настоящему изобретению составляет от минус 5 до минус 1,5. Особенно предпочтительно, чтобы значение $\log P$ составляло от минус 3,5 до минус 2,0.

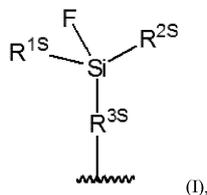
В предпочтительном варианте осуществления лиганд по настоящему изобретению содержит или состоит из пептида, пептидомиметика или замещенной мочевины, заместителей, включая аминокислоты. Понятно, что лиганд, который содержит пептид или пептидомиметик, также содержит непептидную и непептидомиметическую часть. С точки зрения молекулярной массы предпочтение отдают молекулярным массам ниже 15 кДа, ниже 10 кДа или ниже 5 кДа. Соответственно, небольшие белки входят в определение термина "лиганд". Молекулы-мишени конкретно не ограничены и включают ферменты, рецепторы, эпитопы, транспортеры, молекулы клеточной поверхности и белки внеклеточного матрикса. Предпочтительными являются мишени, которые имеют отношение к заболеванию. Особенно предпочтительными являются мишени, которые причинно связаны с данным заболеванием или которые высоко сверхэкспрессируются при данном заболевании и/или ингибирование которых может вызывать положительный эффект у пациента, страдающего данным заболеванием. Лиганды предпочтительно представляют собой лиганды с высокой аффинностью, с предпочтительной аффинностью, выраженной как IC_{50} , составляющей менее 50 нМ, менее 20 нМ или менее 5 нМ.

Особенно предпочтительными являются те лиганды, которые связываются с высокой аффинностью с молекулами-мишенями, относящимися к заболеванию, или биомолекулами, относящимися к заболеванию, включая, но не ограничиваясь ими, рецепторы соматостатина, рецепторы бомбезина, хемокиновые рецепторы, рецепторы интегрин, рецепторы холецистокинина, рецепторы меланокортина, рецепторы

вазоактивного интестинального пептида, рецепторы нейротензина, рецепторы нейропептида Y, рецепторы нейрокинина, рецепторы глюкагоноподобного пептида 1, рецепторы Her2, PD-L1, PD-1, рецепторы гонадотропин-рилизинг-гормона и простатспецифический мембранный антиген (PSMA).

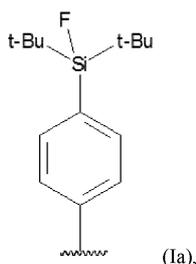
Термин "относящийся к заболеванию" относится предпочтительно к причинно-следственной вовлеченности в заболевание.

Предпочтительно фрагмент кремнефторидного акцептора (SIFA) имеет структуру, представленную формулой (I)



где R^{1S} и R^{2S} независимо представляют собой линейную или разветвленную C_3 - C_{10} -алкильную группу, предпочтительно R^{1S} и R^{2S} выбраны из изопропила и трет-бутила и более предпочтительно R^{1S} и R^{2S} представляют собой трет-бутил, R^{3S} представляет собой C_1 - C_{20} -углеводородную группу, которая может содержать одну или более ароматических и одну или более алифатических звеньев и/или до 3 гетероатомов, выбранных из O и S, предпочтительно R^{3S} представляет собой C_6 - C_{10} -углеводородную группу, которая содержит ароматическое кольцо, и которая может содержать одну или более алифатических звеньев, более предпочтительно R^{3S} представляет собой фенильное кольцо, и наиболее предпочтительно R^{3S} представляет собой фенильное кольцо, где Si-содержащий заместитель и связь, обозначенную как , находятся в пара-положении, и где фрагмент SIFA присоединен к остальной части конъюгата через связь, обозначенную как .

Более предпочтительно фрагмент кремнефторидного акцептора (SIFA) имеет структуру, представленную формулой (Ia)



где t-Bu обозначает трет-бутильную группу.

Предпочтительная хелатирующая группа содержит по меньшей мере одно из следующего (i), (ii) или (iii).

(i) Макроциклическая кольцевая структура с кольцевыми атомами в количестве от 8 до 20, из которых 2 или более, более предпочтительно 3 или более, выбраны из атомов кислорода или атомов азота. Предпочтительно 6 или менее кольцевых атомов выбраны из атомов кислорода или атомов азота. Особенно предпочтительным является то, что 3 или 4 атома кольца представляют собой атомы азота или атомы кислорода. Среди атомов кислорода и азота предпочтение отдают атомам азота. В сочетании с макроциклической кольцевой структурой предпочтительная хелатирующая группа может содержать 2 или более, например от 2 до 6, предпочтительно от 2 до 4, карбоксильных групп и/или гидроксильных групп. Среди карбоксильных групп и гидроксильных групп предпочтение отдают карбоксильным группам.

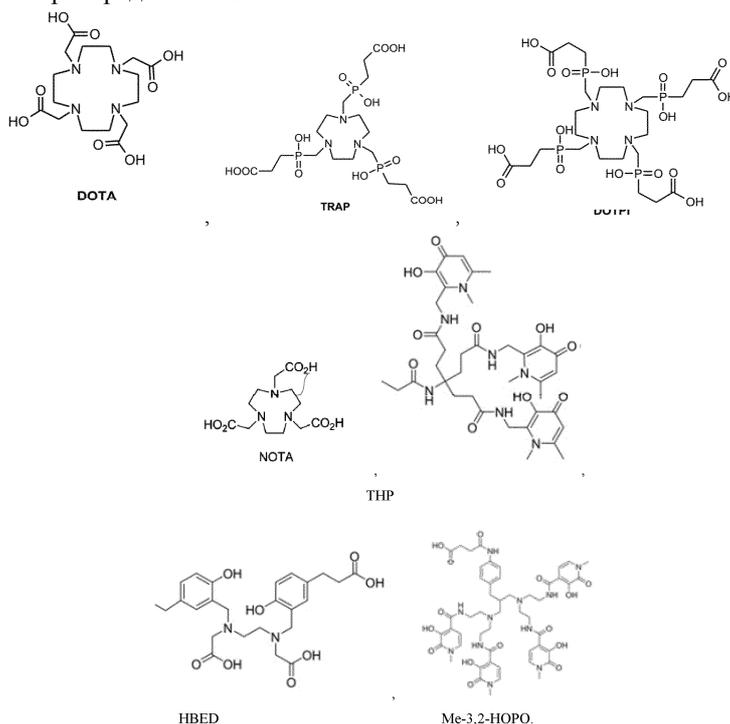
(ii) Ациклическая хелатирующая структура с открытой цепью с атомами главной цепи (остов) в количестве от 8 до 20, из которых 2 или более, более предпочтительно 3 или более представляют собой гетероатомы, выбранные из атомов кислорода, или атомов азота. Предпочтительно 6 или менее атомов остова выбраны из атомов кислорода или атомов азота. Среди атомов кислорода и азота предпочтение отдают атомам азота. Более предпочтительно, хелатирующая структура с открытой цепью представляет собой структуру, которая содержит комбинацию из 2 или более, более предпочтительно 3 или более гетероатомов, выбранных из атомов кислорода или атомов азота, и 2 или более, например от 2 до 6, предпочтительно от 2 до 4 карбоксильных групп и/или гидроксильных групп. Среди карбоксильных групп и гидроксильных групп предпочтение отдают карбоксильным группам.

(iii) Разветвленная хелатирующая структура, содержащая четвертичный атом углерода. Предпочтительно четвертичный атом углерода замещен 3 одинаковыми хелатирующими группами в дополнение к фрагменту SIFA/лиганд. Замещенные хелатирующие группы могут содержать амид. Замещенные хелатирующие группы могут содержать ароматическую группу. Замещенные хелатирующие группы могут содержать гидроксипиридинон.

В предпочтительных конкретных примерах, хелатирующая группа представляет собой остаток хелатирующего агента, выбранного из бис(карбоксиметил)-1,4,8,11-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекана

(СВТЕ2а), циклогексил-1,2-диаминтетрауксусной кислоты (CDТА), 4-(1,4,8,11-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан-1-ил)-метилбензойной кислоты (СРТА), N'-[5-[ацетил(гидрокси)амино]пентил]-N-[5-[4-[5-аминопентил(гидрокси)амино]-4-оксобутаноил]амино]пентил]-N-гидроксибутандиамида (DFO), 4,11-бис(карбоксиметил)-1,4,8,11-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекана (DO2A), 1,4,7,10-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан-N,N',N'',N'''-тетрауксусной кислоты (DOTA), α-(2-карбоксиэтил)-1,4,7,10-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан-1,4,7,10-тетрауксусной кислоты (DOTAGA), 1,4,7,10-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан-N,N',N'',N'''-1,4,7,10-тетра(метилен)фосфоновой кислоты (DOTMP), N,N'-дипиридоксилэтилендиамин-N,N'-диацетат-5,5'-бис(фосфат) (DPDP), диэтилентриамин-N,N',N''-пента(метилен)фосфоновой кислоты (DTMP), диэтилентриаминпентауксусной кислоты (DTPA), этилендиамин-N,N'-тетрауксусной кислоты (EDТА), этиленгликоль-О,О-бис(2-аминоэтил)-N,N',N''-тетрауксусной кислоты (EGТА), N,N'-бис(гидроксибензил)-этилендиамин-N,N'-диуксусной кислоты (HBED), гидроксиэтилендиаминтриуксусной кислоты (HEDТА), 1-(п-нитробензил)-1,4,7,10-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан-4,7,10-триацетата (HP-DOA3), 6-гидразинил-N-метилпиридин-3-карбоксамид (HYNIC), тетра-3-гидрокси-N-метил-2-пиридинона хелаторов (4-((4-(3-(бис(2-(3-гидрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-4-карбоксамидо)этил)амино)-2-((бис(2-(3-гидрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-4-карбоксамидо)этил)амино)метил)пропил)фенил)амино)-4-оксобутановой кислоты), сокращенно Me-3,2-НОРО, 1,4,7-триазабициклононан-1-янтарная кислота-4,7-диуксусной кислоты (NODASA), 1-(1-карбокси-3-карбоксипропил)-4,7-(карбокси)-1,4,7-триазабициклононан (NODAGA), 1,4,7-триазабициклононантриуксусной кислоты (NOTA), 4,11-бис(карбоксиметил)-1,4,8,11-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекана (TE2A), 1,4,8,11-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан-1,4,8,11-тетрауксусной кислоты (TETA), трис(гидроксипиридинон) (THP), терпиридин-бис(метиленаминтетрауксусной кислоты (TMT), 1,4,7-триазабициклононан-1,4,7-трис[метилен(2-карбоксиэтил)фосфиновая кислота] (TRAP), 1,4,7,10-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан-N,N',N'',N'''-тетрауксусной кислоты (TRITA), 3-[[4,7-бис[[2-карбоксиэтил(гидрокси)фосфорил]метил]-1,4,7-триазонан-1-ил]метил-гидрокси-фосфорил]пропановой кислоты и триэтилентетраамин-гексауксусной кислоты (ТТНА), где остаток получают путем ковалентного связывания карбоксильной группы, содержащейся в хелатообразующем агенте, с остальной частью конъюгата посредством сложноэфирной или амидной связи.

Конкретные хелаторы представлены ниже:



Среди приведенных выше примеров хелатирующих агентов, особое предпочтение отдается хелатирующему агенту, выбранному из TRAP, DOTA и DOTAGA.

Макроциклические и ациклические соединения, хелатирующие металлы или катионы хорошо известны в данной области техники и доступны от ряда производителей. Хотя хелатирующий фрагмент по настоящему изобретению конкретно не ограничен, понятно, что многочисленные фрагменты могут быть применены специалистом в данной области техники без изменений.

Хелатирующая группа может содержать хелатированный катион, который может быть радиоактивным или нерадиоактивным, предпочтительно, хелатированный катион металла, который может быть радиоактивным или нерадиоактивным. Более предпочтительным является хелатированный изотоп радиоактивного металла.

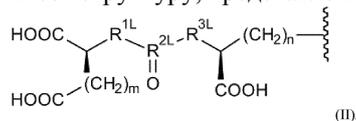
Предпочтительными примерами катионов, которые могут быть хелатированы хелатирующей груп-

пой, являются катионы ^{43}Sc , ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{51}Cr , ^{52}Mn , ^{58}Co , ^{52}Fe , ^{56}Ni , ^{57}Ni , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{89}Y , ^{99}Tc , ^{99}Tc , ^{97}Ru , ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}Ag , ^{110}mIn , ^{111}In , ^{113}mIn , ^{114}mIn , ^{117}mSn , ^{121}Sn , ^{127}Te , ^{142}Pr , ^{143}Pr , ^{149}Pm , ^{151}Pm , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{161}Tb , ^{153}Sm , ^{157}Gd , ^{161}Tb , ^{166}Ho , ^{165}Dy , ^{169}Er , ^{169}Yb , ^{175}Yb , ^{172}Tm , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{191}Pt , ^{197}Hg , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{212}Pb , ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Th , катионная молекула, содержащая ^{18}F или катион, такой как $^{18}\text{F}-[\text{AlF}]^{2+}$, более предпочтительно катионы ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{68}Ga , ^{90}Y , ^{111}In , ^{161}Tb , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{188}Re , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{225}Ac и ^{227}Th .

Применяя агенты, связывающие PSMA, в качестве примера, авторы настоящего изобретения применили раскрытое выше изобретение на практике. Это является предметом предпочтительных аспектов и вариантов осуществления, раскрытых ниже. Тем не менее, авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что компенсация липофильности фрагмента SIFA в неожиданной степени не ограничивается молекулами, содержащими агенты, связывающие PSMA.

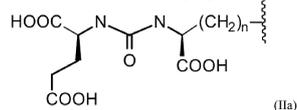
Соответственно, лиганд предпочтительно способен связываться с простатспецифическим мембранным антигеном (PSMA).

Более предпочтительно, лиганд имеет структуру, представленную формулой (II)



где m представляет собой целое число от 2 до 6, предпочтительно от 2 до 4, более предпочтительно 2, n представляет собой целое число от 2 до 6, предпочтительно от 2 до 4, более предпочтительно от 2 до 3, $\text{R}^{1\text{L}}$ представляет собой CH_2 , NH или O , предпочтительно NH , $\text{R}^{3\text{L}}$ представляет собой CH_2 , NH или O , предпочтительно NH , $\text{R}^{2\text{L}}$ представляет собой C или $\text{P}(\text{OH})$, предпочтительно C , и где лиганд присоединен к остальной части конъюгата через связь, обозначенную как wavy line .

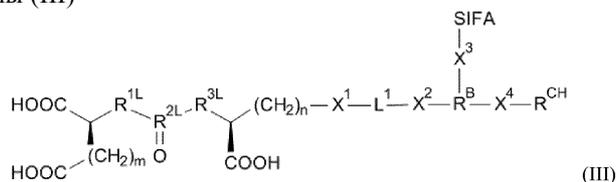
Лиганд может иметь структуру, представленную формулой (IIa)



где n представляет собой целое число от 2 до 6, и где лиганд присоединен к остальной части конъюгата через связь, обозначенную как wavy line .

В данной области техники известно несколько агентов, связывающих PSMA, которые все подходят в соответствии с настоящим изобретением. Вышеупомянутый предпочтительный вариант осуществления является структурным определением предпочтительной группы агентов, связывающих PSMA.

Особенно предпочтительно конъюгат по первому аспекту настоящего изобретения представляет собой соединение формулы (III)



или его фармацевтически приемлемую соль, где

SIFA представляет собой фрагмент кремнефторидного акцептора (SIFA), содержащего ковалентную связь между кремнием и атомом фтора и который может быть мечен ^{18}F путем изотопного обмена ^{19}F на ^{18}F или который мечен ^{18}F , предпочтительно SIFA представляет собой фрагмент SIFA формулы (I) и более предпочтительно формулы (Ia), определенной выше;

m представляет собой целое число от 2 до 6, предпочтительно 2 или 3, более предпочтительно 2;

n представляет собой целое число от 2 до 6, предпочтительно 2 или 3, более предпочтительно 2 или 4;

$\text{R}^{1\text{L}}$ представляет собой CH_2 , NH или O , предпочтительно NH ;

$\text{R}^{3\text{L}}$ представляет собой CH_2 , NH или O , предпочтительно NH ;

$\text{R}^{2\text{L}}$ представляет собой C или $\text{P}(\text{OH})$, предпочтительно C ;

X^1 выбран из амидной связи, простоэфирной связи, простой тиоэфирной связи, сложноэфирной связи, сложной тиоэфирной связи, мочевинового мостика и аминной связи, предпочтительно амидной связи;

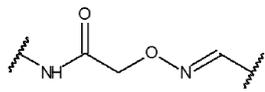
X^2 выбран из амидной связи, простоэфирной связи, простой тиоэфирной связи, сложноэфирной связи, сложной тиоэфирной связи, мочевинового мостика и аминной связи, предпочтительно амидной связи;

L^1 представляет собой двухвалентную связующую группу, структура которой выбрана из олигоамида, простого олигоэфира, простого олиготиоэфира, сложного олигоэфира, сложного олиготиоэфира, олигомочевины, олиго(простой эфир-амида), олиго(простой тиоэфир-амида), олиго(сложный эфир-амида), олиго(сложный тиоэфир-амида), олиго(мочевина-амида), олиго(простой эфир-простого тиоэфира), олиго(простой эфир-сложного эфира), олиго(простой эфир-сложного тиоэфира), олиго(простой эфир-мочевины), олиго(простой тиоэфир-сложного эфира), олиго(простой тиоэфир-сложного тиоэфира),

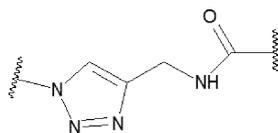
олиго(простой тиоэфир-мочевины), олиго(сложный эфир-простого тиоэфира), олиго(сложный эфир-мочевины) и олиго(сложный тиоэфир-мочевины), предпочтительно структура выбрана из олигоамида и олиго(сложный эфир-амида).

L^1 может быть необязательно замещен одним или более заместителями, независимо выбранными из $-OH$, $-OCH_3$, $-COOH$, $-COOCH_3$, $-NH_2$ и $-NHC(NH)NH_2$.

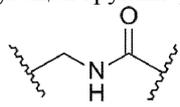
X^3 выбран из амидной связи и сложноэфирной связи, простого эфира, амина и связующей группы формулы



где связь, обозначенная как , в группе NH, связана с R^B , а другая связь, обозначенная как , связана с SIFA, предпочтительно X^3 представляет собой амидную связь, R^B представляет собой трехвалентную связующую группу, X^4 выбран из амидной связи, простоэфирной связи, простой тиоэфирной связи и сложноэфирной связи, сложной тиоэфирной связи, мочевинового мостика, аминной связи, связующей группы формулы:



где амидная связь, обозначенная как , образована с хелатирующей группой, а другая связь, обозначенная как , связана с R^B , и связующей группы формулы



где связь, обозначенная как , на карбонильном конце, образована с хелатирующей группой, а другая связь, обозначенная как , связана с R^B , предпочтительно X^4 представляет собой амидную связь,

R^{CH} представляет собой хелатирующую группу, необязательно содержащую хелатированный радиоактивный или нерадиоактивный катион, предпочтительно радиоактивный или нерадиоактивный катион металла, где предпочтительные варианты осуществления указанной хелатирующей группы и необязательного хелатированного катиона являются такими, как определено выше.

Термин "олиго", в таких выражениях как, олигоамид, простой олигоэфир, простой олиготиоэфир, сложный олигоэфир, сложный олиготиоэфир, олигомочевина, олиго(простой эфир-амида), олиго(простой тиоэфир-амида), олиго(сложный эфир-амида), олиго(сложный тиоэфир-амида), олиго(мочевина-амида), олиго(простой эфир-простого тиоэфира), олиго(простой эфир-сложного эфира), олиго(простой эфир-сложного тиоэфира), олиго(простой эфир-мочевины), олиго(простой тиоэфир-сложного эфира), олиго(простой тиоэфир-сложного тиоэфира), олиго(сложный эфир-мочевины) и олиго(сложный тиоэфир-мочевины) предпочтительно следует понимать как относящиеся к группе, в которой от 2 до 20, более предпочтительно от 2 до 10 субъединиц связаны типами связей, указанных в тех же условиях. Как будет понятно специалисту в данной области техники, когда в скобках указаны два различных типа связей, оба типа связей содержатся в соответствующей группе (например, в "олиго(сложный эфир-амид)" содержатся сложноэфирные и амидные связи).

Предпочтительно, чтобы L^1 содержал в общей сложности от 1 до 5, более предпочтительно от 1 до 3, и наиболее предпочтительно всего 1 или 2 амидные и/или сложноэфирные связи, предпочтительно амидные связи, в своем остове.

Таким образом, термин олигоамид описывает группу, имеющую цепь из групп CH_2 или CHR , чередующихся с группами, выбранными из $NHCO$ или $CONH$. В каждом случае фрагмент R представляет собой необязательный заместитель, выбранный из $-OH$, $-OCH_3$, $-COOH$, $-COOCH_3$, $-NH_2$ и $-NHC(NH)NH_2$.

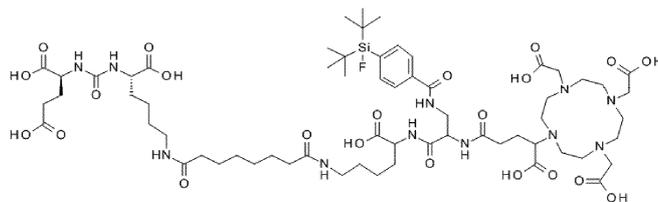
Также предпочтительно, чтобы $-X^1-L^1-X^2-$ представлял собой одну из следующих структур (L-1) и (L-2):



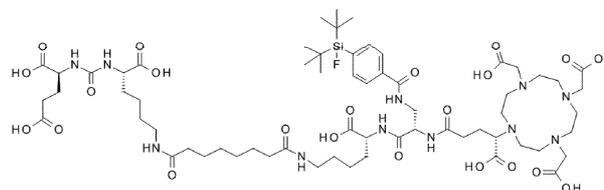
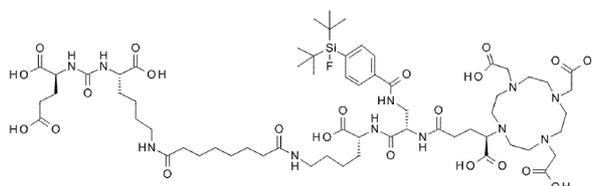
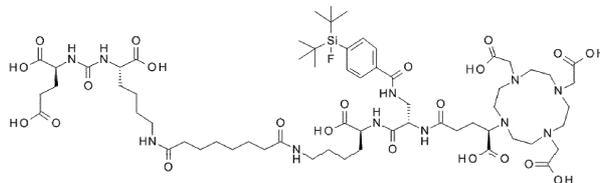
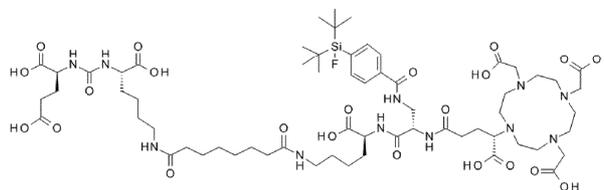
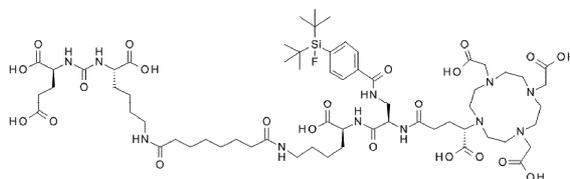
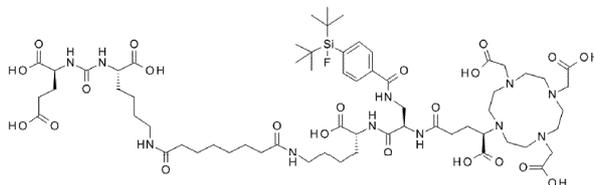
где R^6-R^{10} независимо выбраны из C_2-C_{10} -алкилена, предпочтительно линейного C_2-C_{10} -алкилена, каждая алкиленовая группа которого может быть замещена одним или более заместителями, независимо выбранными из $-OH$, $-OCH_3$, $-COOH$, $-COOCH_3$, $-NH_2$ и $-NHC(NH)NH_2$.

Особенно предпочтительным является то, что общее число атомов углерода в R^6 и R^7 составляет от 4 до 20, более предпочтительно от 4 до 16, без атомов углерода в необязательных заместителях. Особенно предпочтительным является то, что общее число атомов углерода в R^8-R^{10} составляет от 6 до 20, более

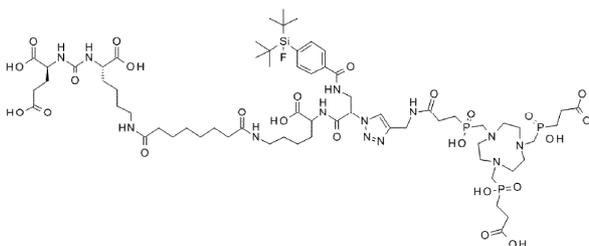
PSMA-SIFA1 (5)



и его изомеры

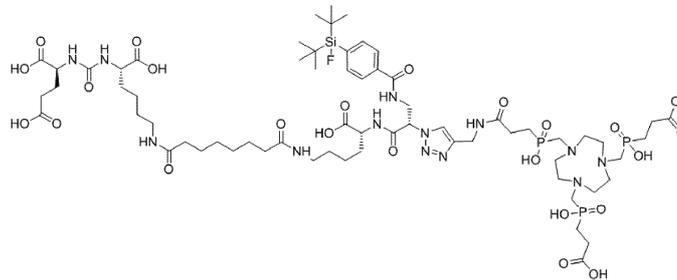
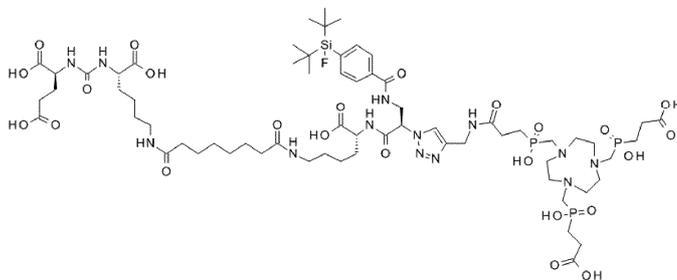
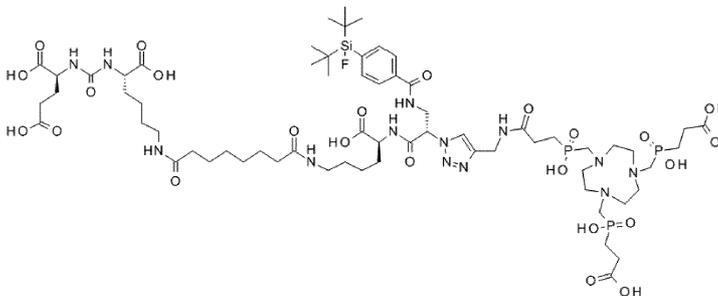
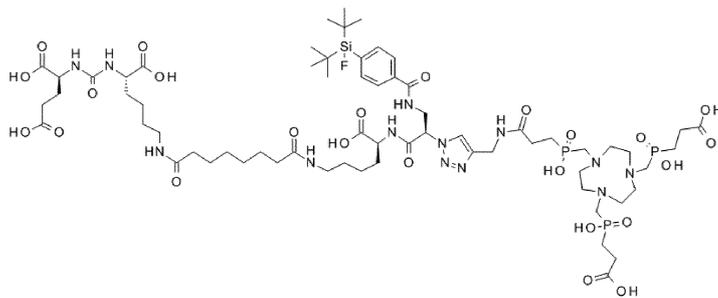


PSMA-SIFA2 (6)

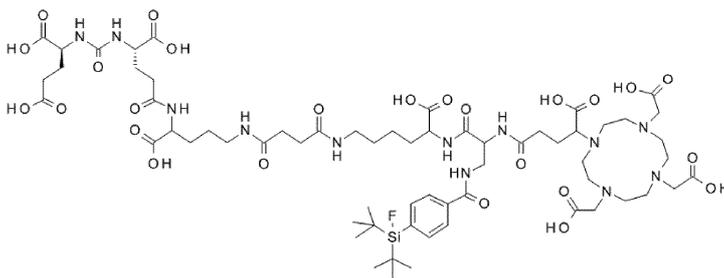


и его изомеры

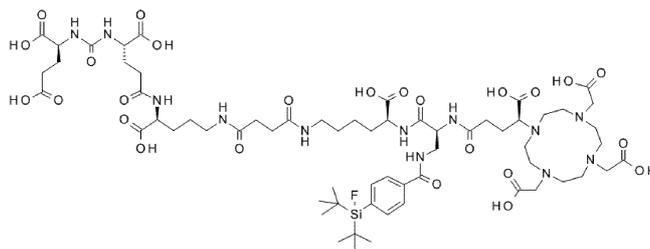
046402



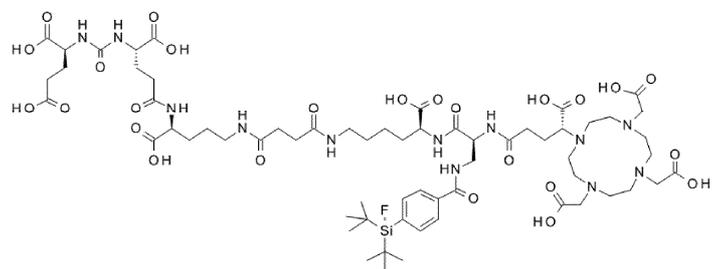
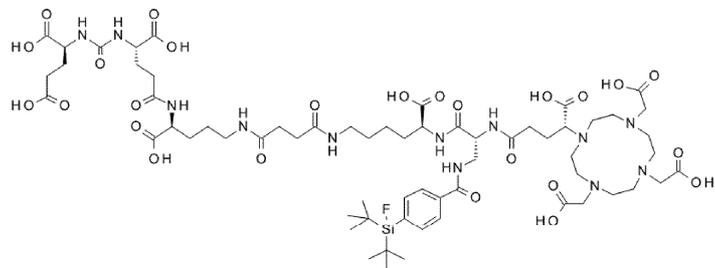
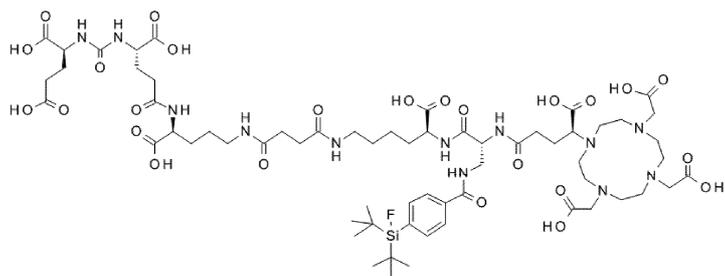
PSMA-SIFA3 (7)

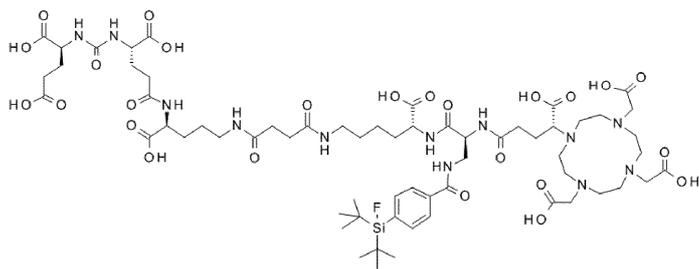
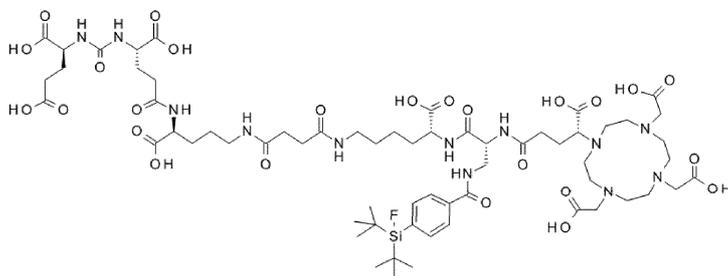
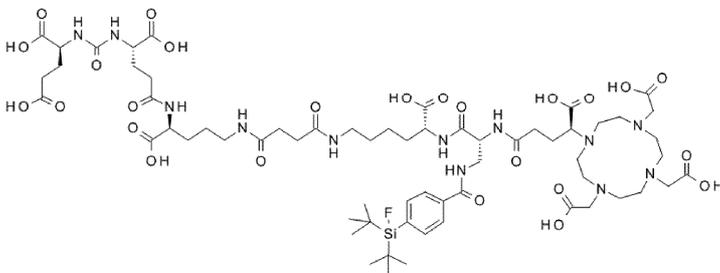
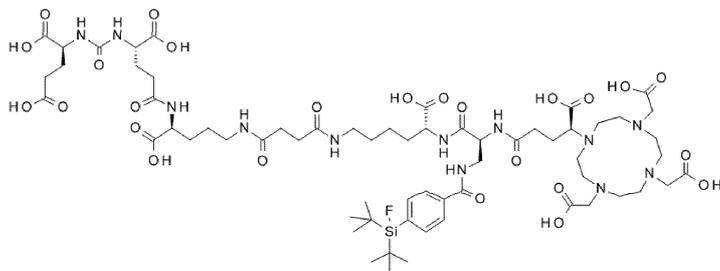


и его изомеры

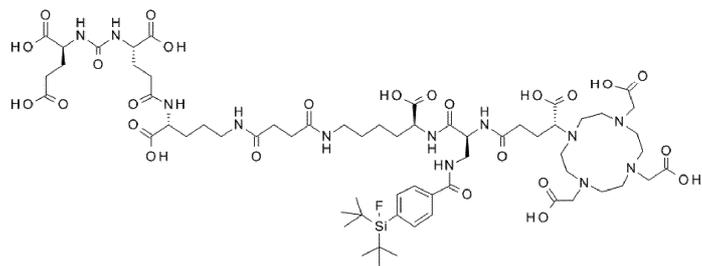
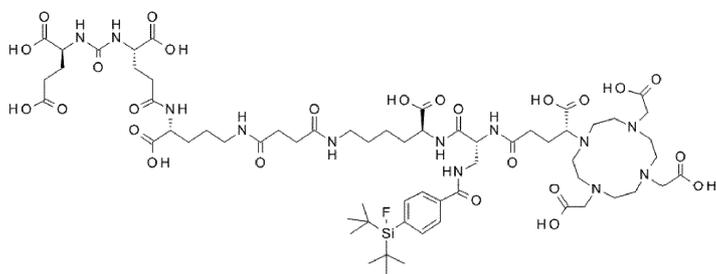
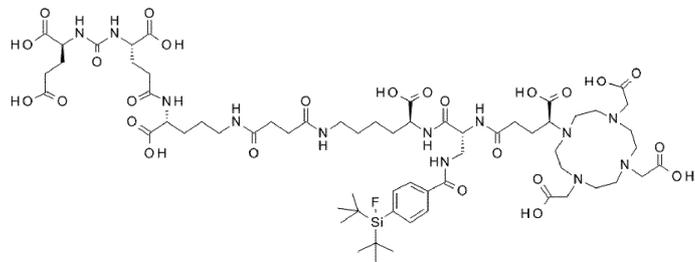
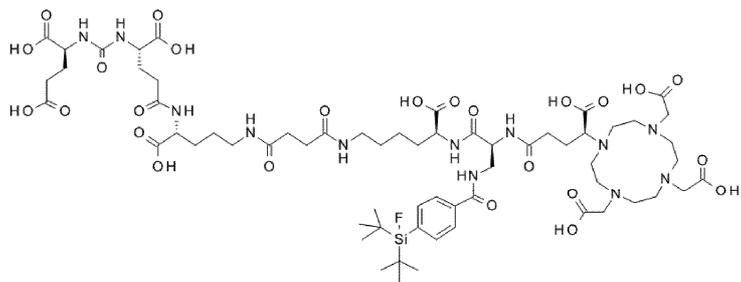


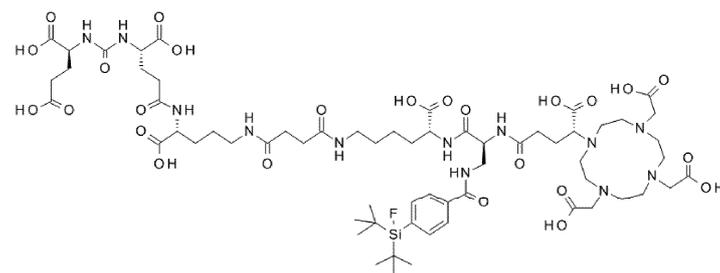
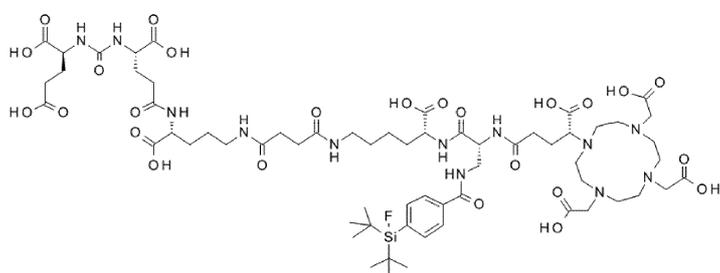
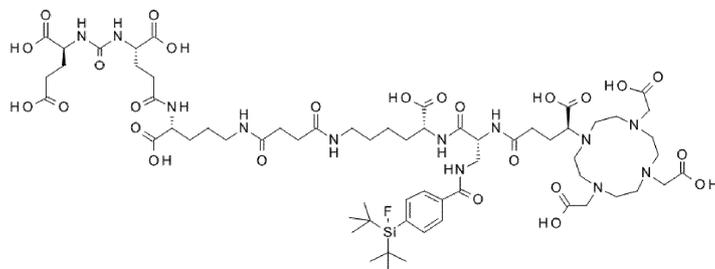
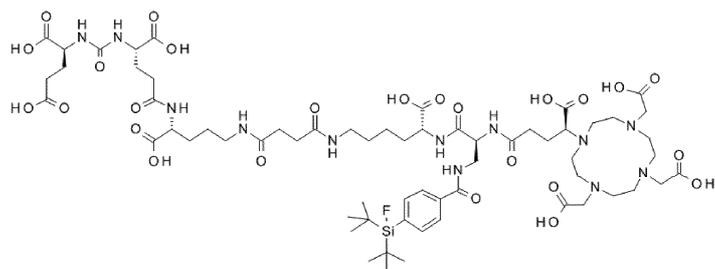
046402



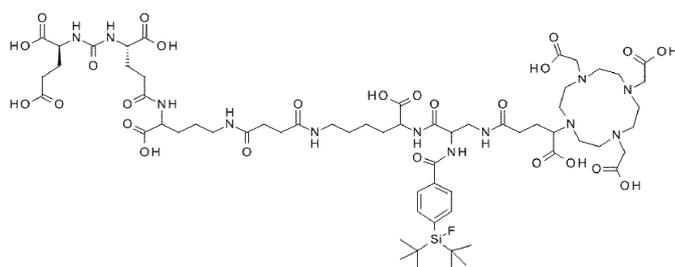


046402

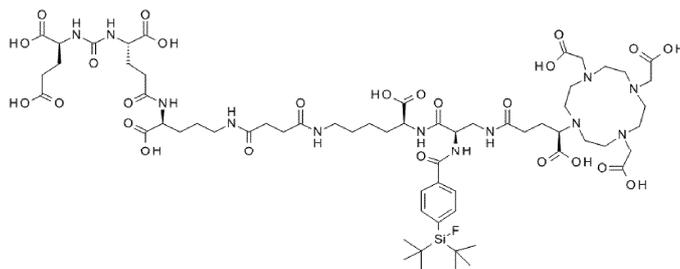




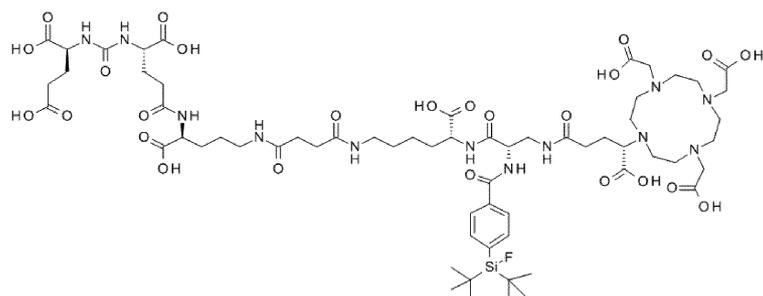
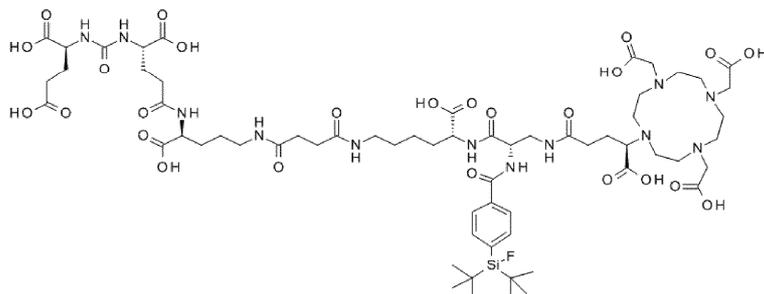
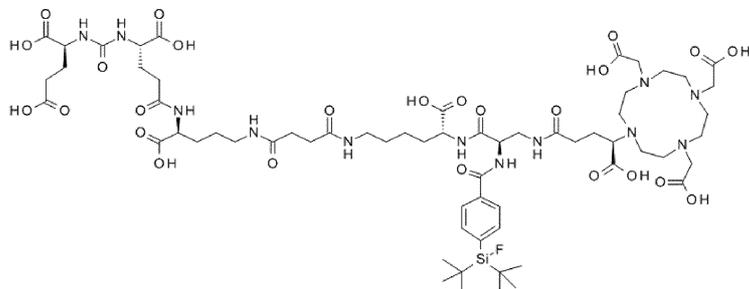
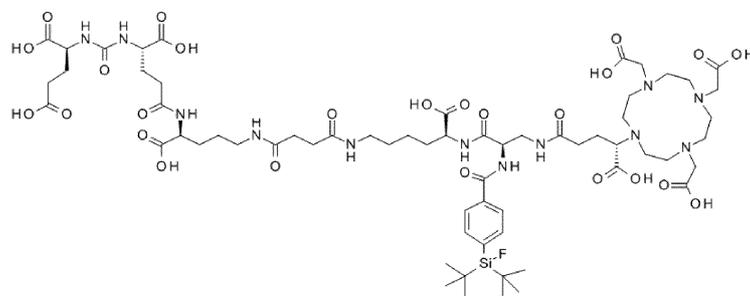
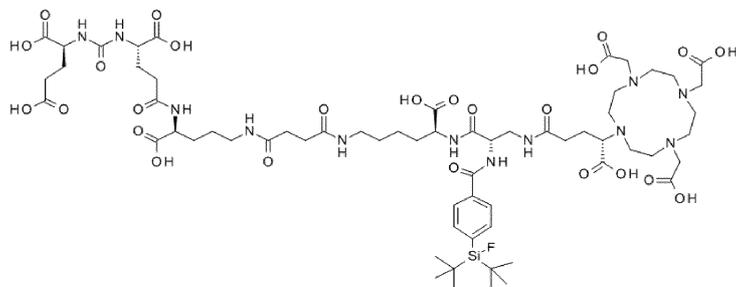
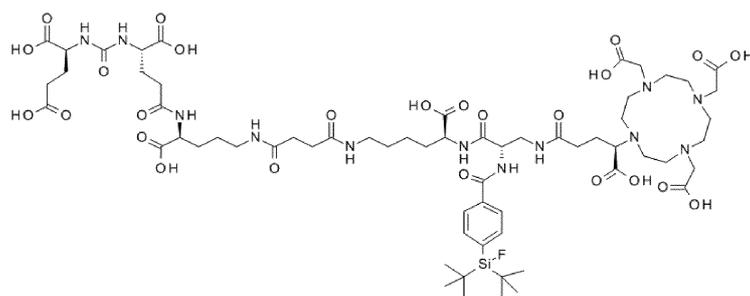
PSMA-SIFA4 (8)

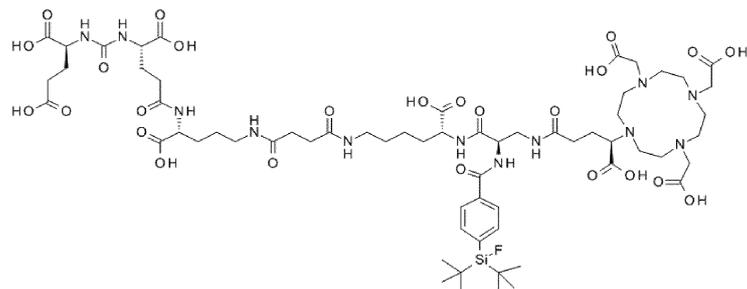
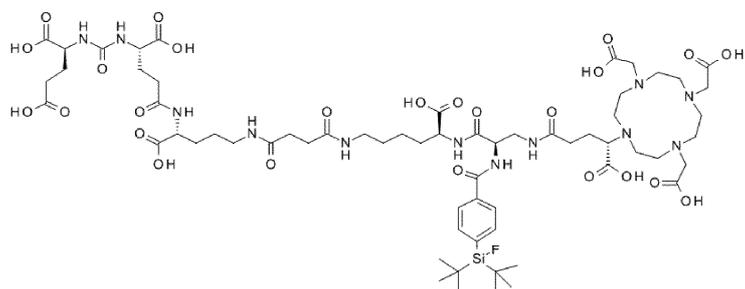
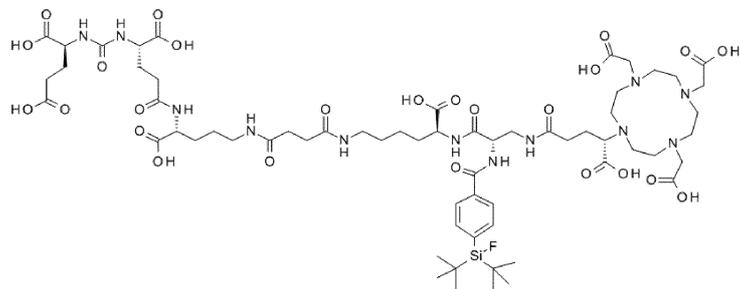
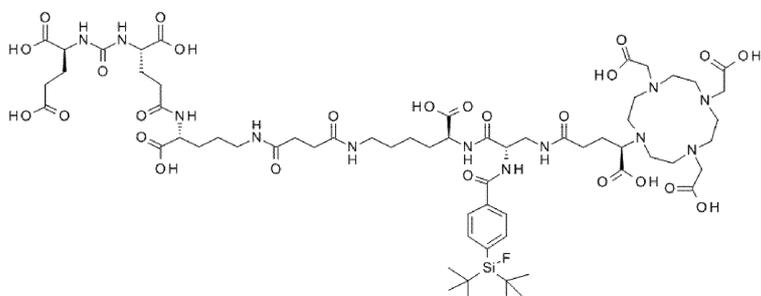
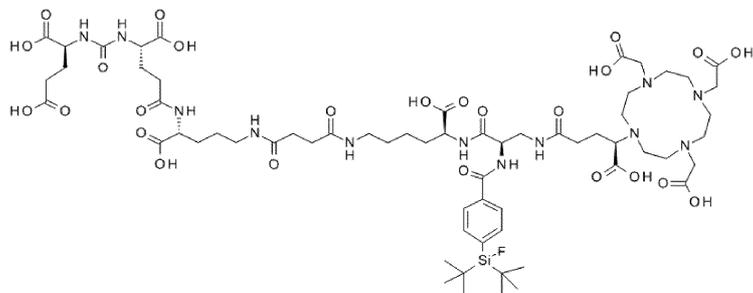
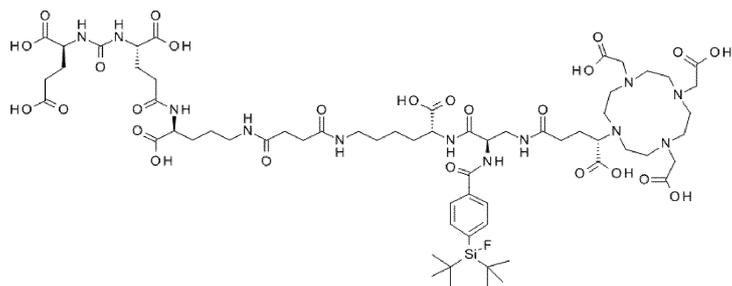


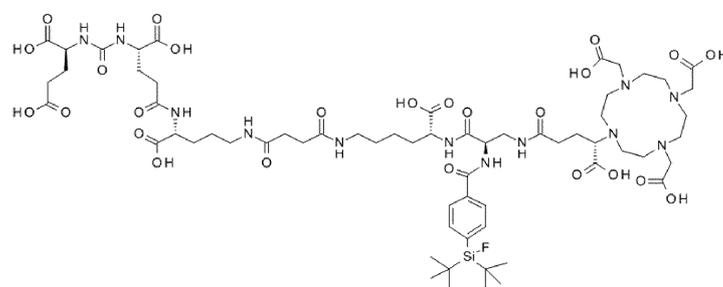
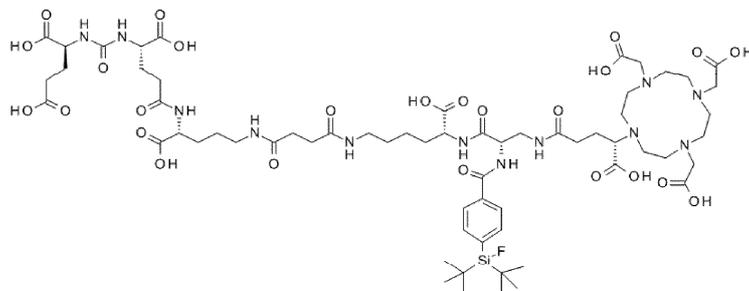
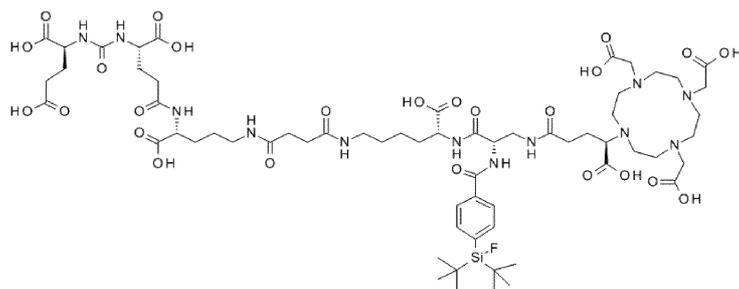
и его изомеры



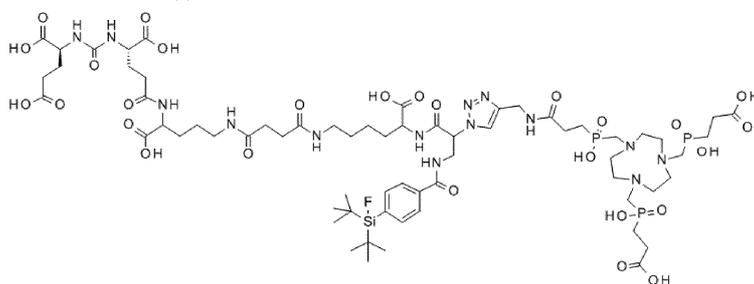
046402



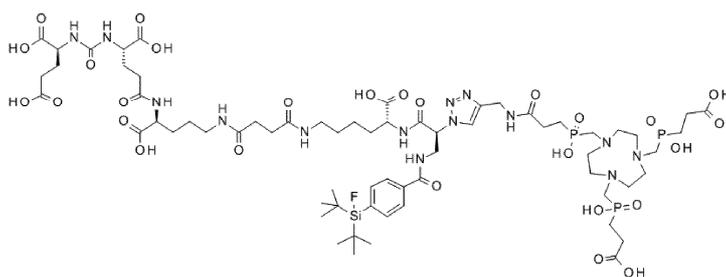
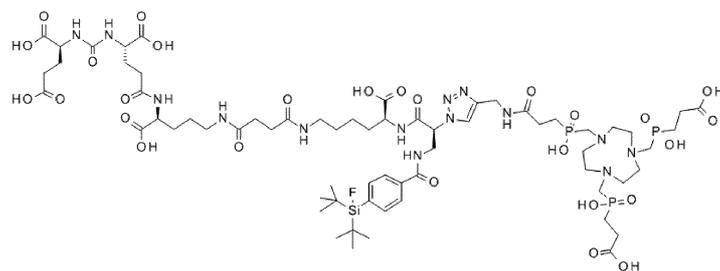




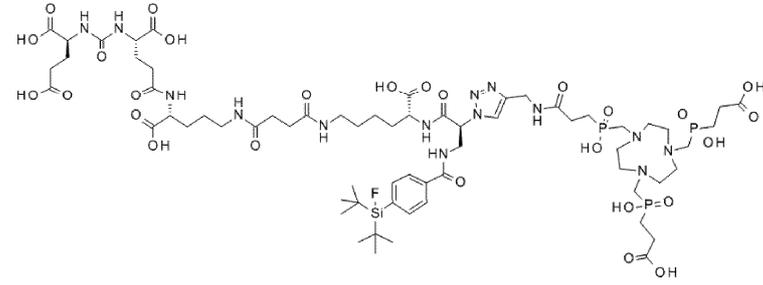
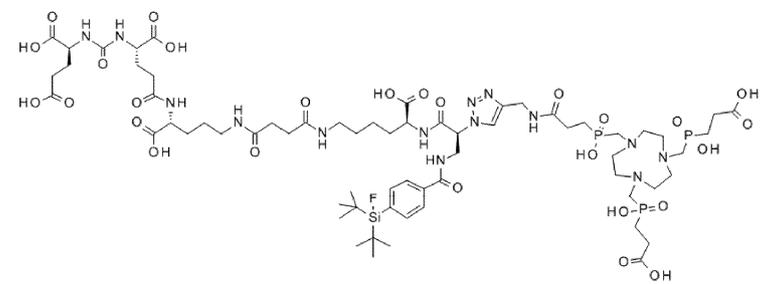
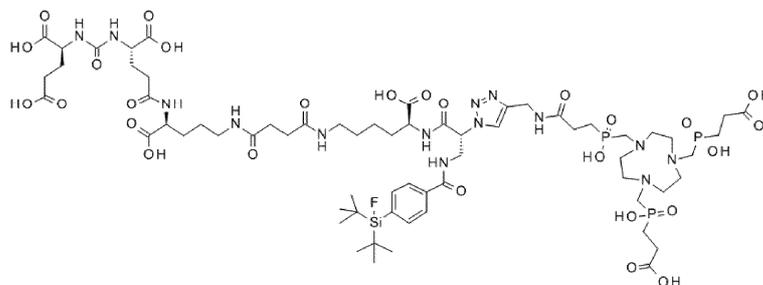
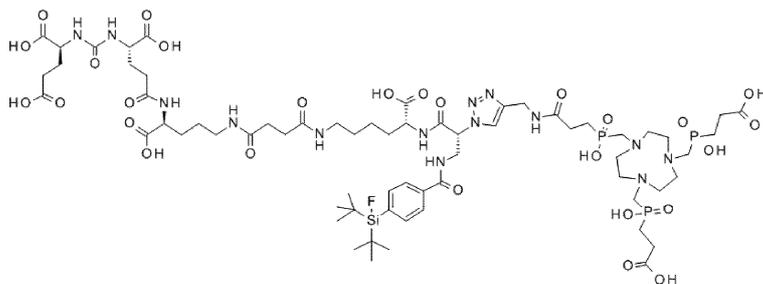
PSMA-SIFA5 (9)



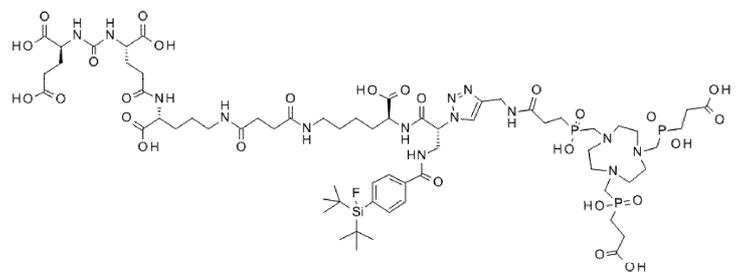
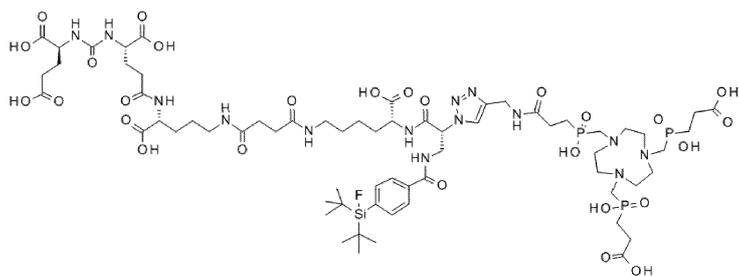
и его изомеры



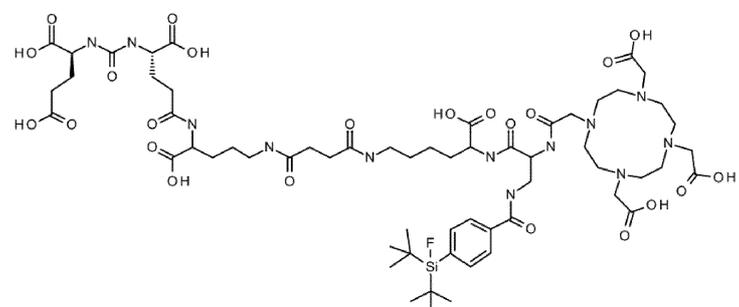
046402



046402

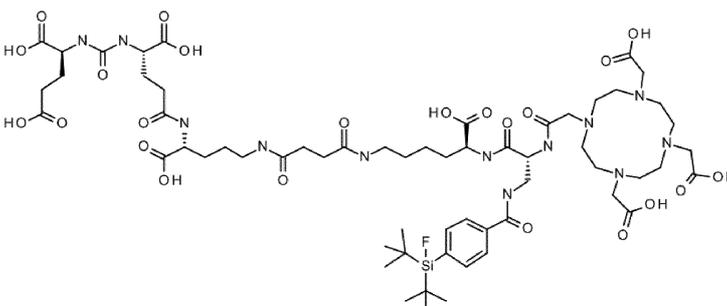
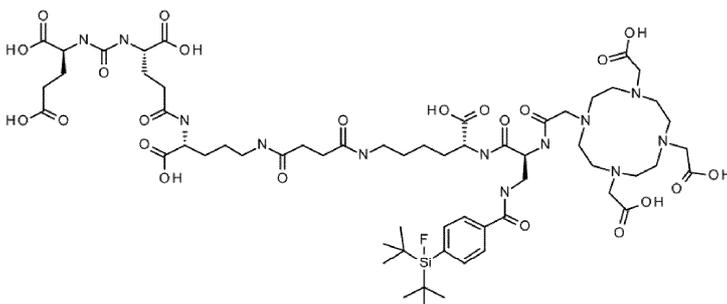
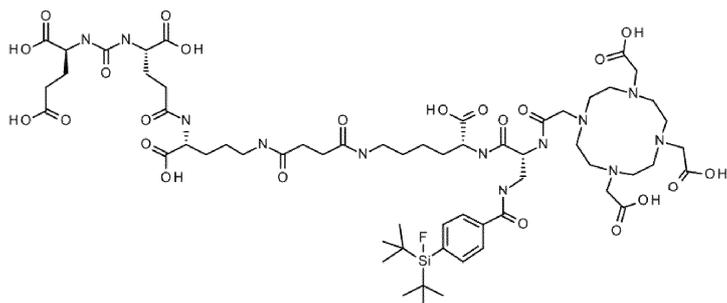


PSMA-SIFA 10

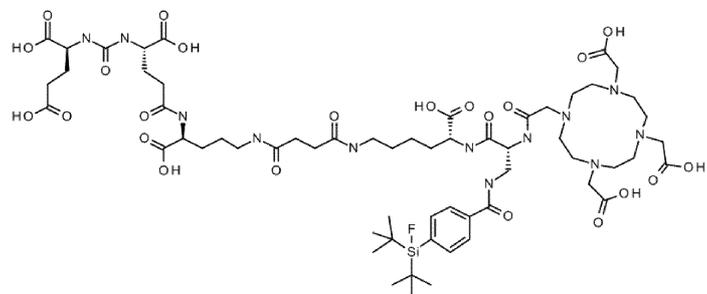
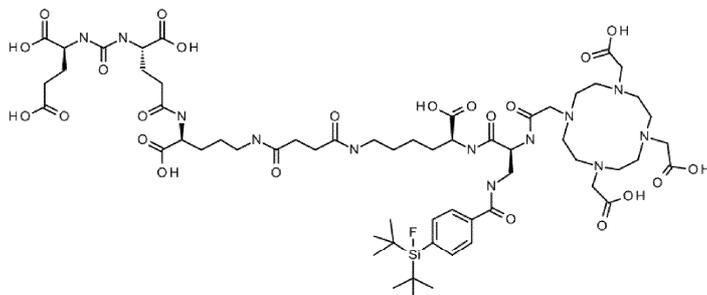
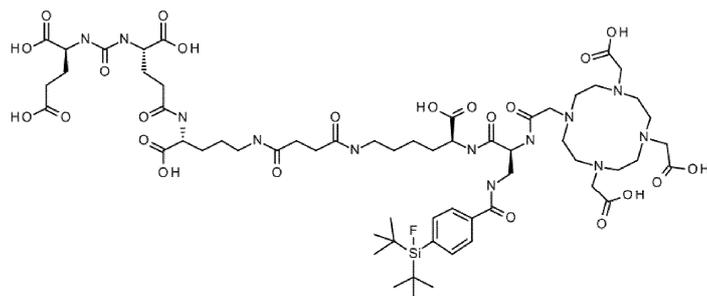


и его изомеры

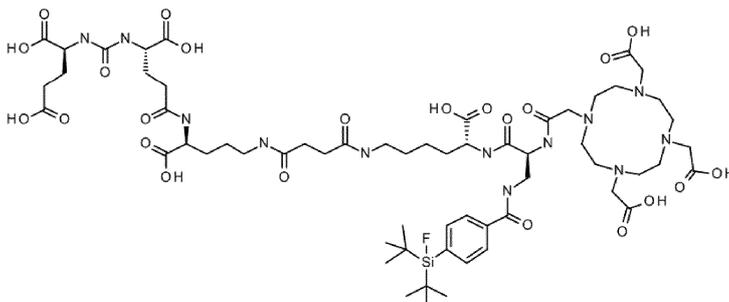
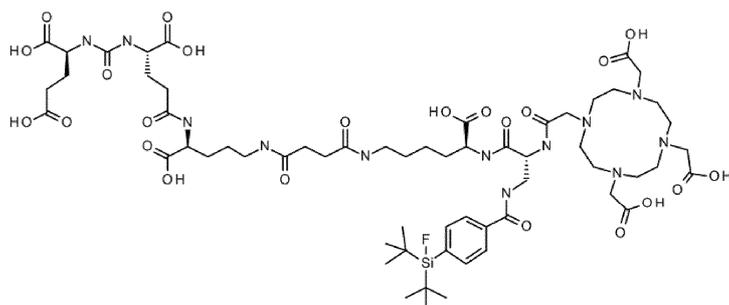
046402



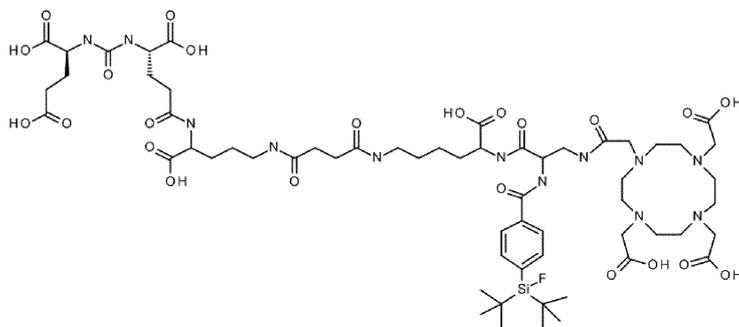
046402



046402

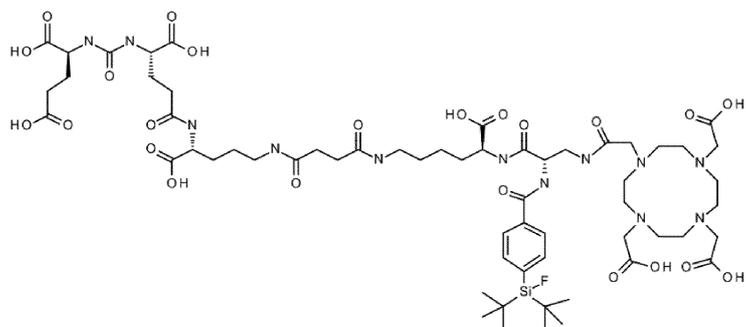
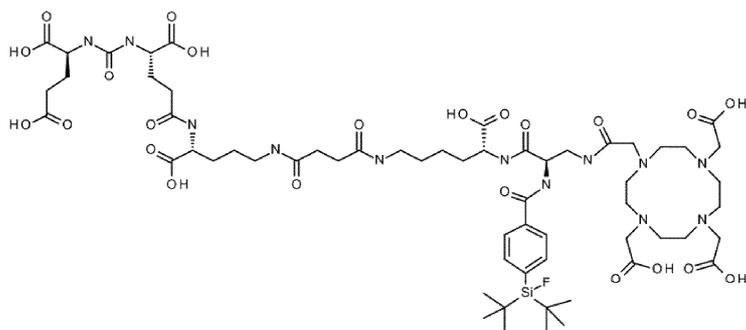
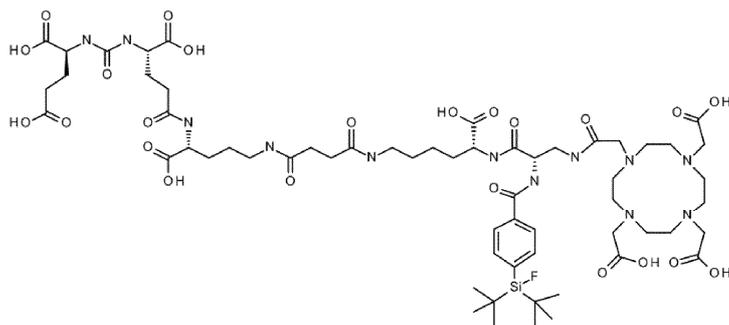


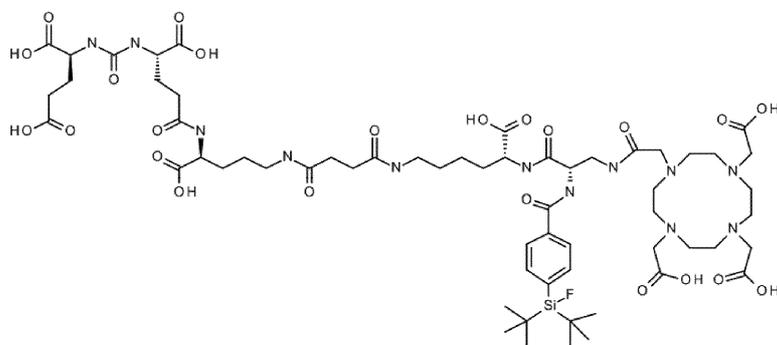
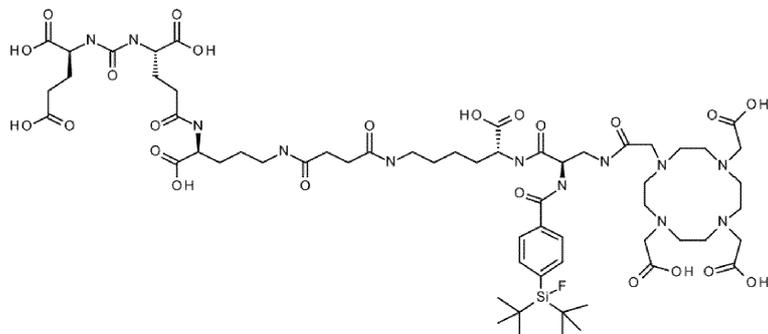
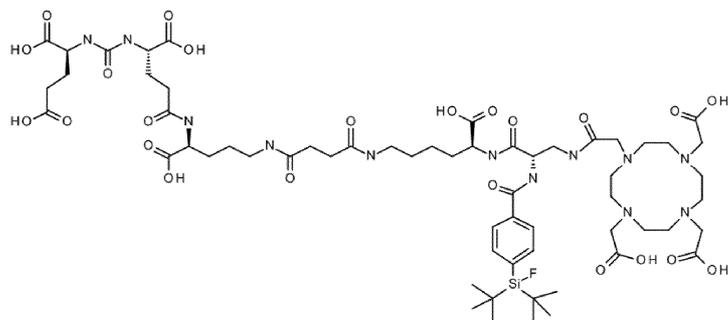
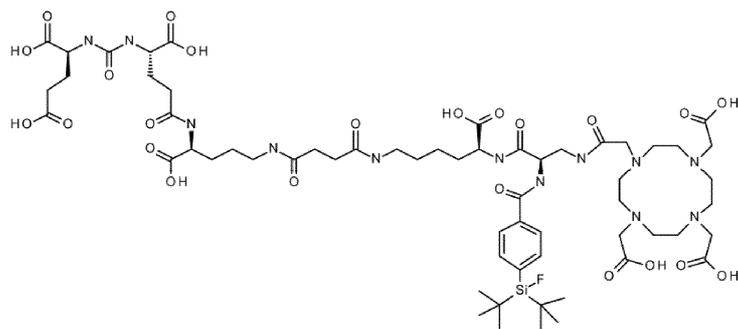
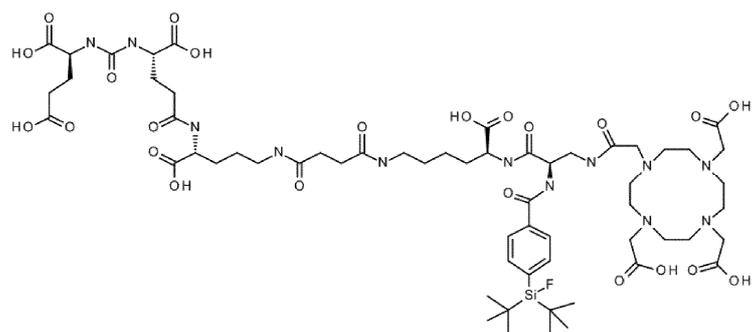
PSMA-SIFA 11



и его изомеры

046402





Предпочтительные схемы мечения для этих наиболее предпочтительных соединений являются такими, как определено в настоящем документе выше.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей или состоящей из одного или более конъюгатов или соединений по настоящему изобретению, как раскрыто в данном документе выше.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к диагностической композиции, содержащей или состоящей из одного или более конъюгатов или соединений по настоящему изобретению, как раскрыто в данном документе выше.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к терапевтической композиции, содержащей или состоящей из одного или более конъюгатов или соединений по настоящему изобретению, как раскрыто в данном документе выше.

Фармацевтическая композиция может дополнительно содержать фармацевтически приемлемые носители, эксципиенты и/или разбавители. Примеры подходящих фармацевтических носителей, эксципиентов и/или разбавителей хорошо известны в данной области техники и включают растворы фосфатно-солевого буфера, воду, эмульсии, такие как масляно-водные эмульсии, различные типы смачивающих агентов, стерильные растворы и т.д. Композиции, содержащие такие носители, могут быть получены хорошо известными общепринятыми способами. Такие фармацевтические композиции можно вводить субъекту в подходящей дозе. Введение подходящих композиций может осуществляться различными способами, например, внутривенным, внутривенным, внутривенным, подкожным, внутримышечным, местным, интраназальным или интробронхиальным введением. Особенно предпочтительно, чтобы указанное введение осуществляли путем инъекции и/или доставки, например, в участок в поджелудочной железе или в мозговую артерию или непосредственно в ткань головного мозга. Композиции также можно вводить непосредственно в целевой сайт, например, путем биолиственной доставки к внешнему или внутреннему целевому сайту, такому как поджелудочная железа или мозг. Режим дозирования будет определен лечащим врачом и клиническими факторами. Как хорошо известно в области медицины, дозировки для любого одного пациента зависят от многих факторов, включая размер пациента, площадь поверхности тела, возраст, конкретное соединение, подлежащее введению, пол, время и способ введения, общее состояние здоровья и другие препараты, которые вводят в то же время. Фармацевтически активное вещество может присутствовать в количествах от 0,1 нг до 10 мг/кг массы тела на дозу, однако предусмотрены дозы ниже или выше этого примерного диапазона, особенно с учетом вышеупомянутых факторов.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к одному или более соединениям по изобретению, как описано в данном документе выше, для применения в медицине.

Предпочтительными применениями в медицине являются ядерная медицина, такая как ядерно-диагностическая визуализация, также называемая ядерной молекулярной визуализацией, и/или направленная радиотерапия заболеваний, связанных со сверхэкспрессией, предпочтительно PSMA на пораженной ткани.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к соединению по настоящему изобретению, как определено в данном описании выше, для применения в способе диагностики и/или определения стадии рака, предпочтительно рака предстательной железы. Рак предстательной железы не единственный рак, характеризующийся экспрессией PSMA. Рак, не относящийся к предстательной железе, демонстрирующий экспрессию PSMA, включает рак молочной железы, легких, колоректальный и почечно-клеточный рак. Таким образом, любое соединение, описанное в настоящем документе, имеющее PSMA-связывающий фрагмент, может быть применено для диагностики, визуализации или лечения рака, характеризующегося экспрессией PSMA.

Предпочтительными показаниями являются обнаружение или определение стадии рака, такого как, но не ограничиваясь ими, глиомы высокой степени тяжести, рак легких и особенно рак предстательной железы и метастазирующий рак предстательной железы, обнаружение метастатического заболевания у пациентов с первичным раком предстательной железы от промежуточного до высокого риска и обнаружение метастатических участков, даже при низких значениях PSA в сыворотке у пациентов с биохимически рецидивирующим раком предстательной железы. Другим предпочтительным показанием является визуализация и получение изображения неангиогенеза.

С точки зрения медицинских показаний к терапии, особенно радиотерапии, рак является предпочтительным показанием. Рак предстательной железы является особенно предпочтительным показанием.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к конъюгату или соединению по настоящему изобретению, как определено в данном документе выше, для применения в способе диагностики и/или определения стадии рака, предпочтительно рака предстательной железы.

Настоящее изобретение, кроме того, относится к следующим пунктам.

1. Конъюгат лиганд-SIFA-хелатор, содержащий в одной молекуле:

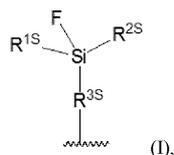
(а) один или более лигандов, которые способны связываться с молекулой-мишенью, соответствующей заболеванию,

(б) фрагмент кремнефторидного акцептора (SIFA), который содержит ковалентную связь между кремнием и атомом фтора и который может быть помечен ^{18}F путем изотопного обмена ^{19}F на ^{18}F или который мечен ^{18}F и

(с) одну или более хелатирующую группу, необязательно содержащую хелатированный нерадиоактивный или радиоактивный катион.

2. Конъюгат по п.1, где фрагмент кремнефторидного акцептора (SIFA) имеет структуру, представ-

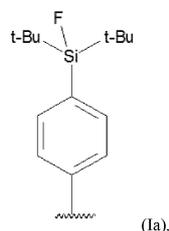
ленную формулой (I)



где R^{1S} и R^{2S} независимо представляют собой линейную или разветвленную C_3 - C_{10} -алкильную группу, предпочтительно R^{1S} и R^{2S} выбраны из изопропила и трет-бутила и более предпочтительно R^{1S} и R^{2S} представляют собой трет-бутил;

R^{3S} представляет собой C_1 - C_{20} -углеводородную группу, которая может содержать одну или более ароматических и одну или более алифатических звеньев и/или до 3 гетероатомов, выбранных из O и S, предпочтительно R^{3S} представляет собой C_6 - C_{10} -углеводородную группу, которая содержит ароматическое кольцо, и которая может содержать одну или более алифатических звеньев, более предпочтительно R^{3S} представляет собой фенильное кольцо, и наиболее предпочтительно, R^{3S} представляет собой фенильное кольцо, где Si-содержащий заместитель и связь, обозначенная как , находятся в пара-положении и где фрагмент SIFA присоединен к остальной части конъюгата через связь, обозначенную как .

3. Конъюгат по п.2, где фрагмент кремнефторидного акцептора (SIFA) имеет структуру, представленную формулой (Ia)



где t-Bu обозначает трет-бутильную группу.

4. Конъюгат по любому из пп.1-3, где хелатирующая группа содержит по меньшей мере одну из:

- (i) макроциклической кольцевой структуры с кольцевыми атомами в количестве от 8 до 20, из которых 2 или более, более предпочтительно 3 или более, выбраны из атомов кислорода или атомов азота и
- (ii) ациклической хелатирующей структуры с открытой цепью с атомами главной цепи в количестве от 8 до 20, из которых 2 или более, более предпочтительно 3 или более представляют собой гетероатомы, выбранные из атомов кислорода или атомов азота.

5. Конъюгат по любому из пп.1-3, где хелатирующая группа представляет собой остаток хелатирующего агента, выбранного из бис(карбоксиметил)-1,4,8,11-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекана (CBTE2a), циклогексил-1,2-диаминтетрауксусной кислоты (CDTA), 4-(1,4,8,11-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан-1-ил)-метилбензойной кислоты (CPA), N^1 -[5-[ацетил(гидрокси)амино]пентил]- N -[5-[4-[5-аминопентил(гидрокси)амино]-4-оксобутаноил]амино]пентил]- N -гидроксипиперазиндиамида (DFO), 4,11-бис(карбоксиметил)-1,4,8,11-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекана (DO2A), 1,4,7,10-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан- N,N',N'',N''' -тетрауксусной кислоты (DOTA), N,N' -дипиридоксилэтилендиамин- N,N' -диацетат-5,5'-бис(фосфат) (DPDP), диэтилентриаминпентауксусной кислоты (DTPA), этилендиамин- N,N' -тетрауксусной кислоты (EDTA), этиленгликоль- O,O -бис(2-аминоэтил)- N,N,N',N' -тетрауксусной кислоты (EGTA), N,N -бис(гидроксибензил)-этилендиамин- N,N' -диуксусной кислоты (HBED), гидроксиэтилендиаминтриуксусной кислоты (HEDTA), 1-(*p*-нитробензил)-1,4,7,10-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан-4,7,10-триацетата (HP-DOA3), 6-гидразинил- N -метилпиперидин-3-карбоксимида (HYNIC), 1,4,7-триазабициклононан-1-янтарная кислота-4,7-диуксусной кислоты (NODASA), 1-(1-карбокси-3-карбоксипропил)-4,7-(карбокси)-1,4,7-триазабициклононан (NODAGA), 1,4,7-триазабициклононантриуксусной кислоты (NOTA), 4,11-бис(карбоксиметил)-1,4,8,11-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекана (TE2A), 1,4,8,11-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан-1,4,8,11-тетрауксусной кислоты (TETA), терпиперидин-бис(метиленаминтетрауксусной кислоты) (TMT), 1,4,7,10-тетраазабицикло[6.6.2]гексадекан- N,N',N'',N''' -тетрауксусной кислоты (TRITA) и триэтилентетраамингексауксусной кислоты (TTNA), где остаток получают путем ковалентного связывания карбоксильной группы, содержащейся в хелатирующем агенте, с остальной частью конъюгата посредством сложноэфирной или амидной связи, предпочтительно через амидную связь.

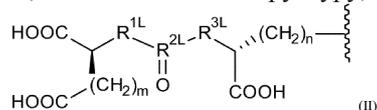
6. Конъюгат по п.5, где хелатирующий агент выбран из DOTA и DOTAGA.

7. Конъюгат по любому из пп.1-6, где хелатирующая группа содержит хелатированный катион, предпочтительно хелатированный радиоактивный катион, выбранный из ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{51}Cr , $^{52\text{m}}\text{Mn}$, ^{58}Co , ^{52}Fe , ^{56}Ni , ^{57}Ni , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{66}Ga , ^{68}Ga , ^{67}Ga , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{89}Y , $^{\text{<}}\text{Tc}$, $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{97}Ru , ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}Ag , $^{110\text{m}}\text{In}$, ^{111}In , $^{113\text{m}}\text{In}$, $^{114\text{m}}\text{In}$, $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{121}Sn , ^{127}Te , ^{142}Pr , ^{143}Pr , ^{149}Pm , ^{151}Pm , ^{149}Tb , ^{153}Sm , ^{157}Gd , ^{161}Tb , ^{166}Ho , ^{165}Dy , ^{169}Er , ^{169}Yb , ^{175}Yb , ^{172}Tm , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{191}Pt , ^{197}Hg , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{212}Pb , ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Th , катионной молекулы, содержащей ^{18}F или катиона, такого как ^{18}F - $[\text{AlF}]^{2+}$, более предпочтительно катионов ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{68}Ga , ^{90}Y , ^{111}In , ^{161}Tb , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{188}Re , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{225}Ac и ^{227}Th или кати-

онной молекулы, содержащей ^{18}F .

8. Конъюгат по любому из пп.1-8, где лиганд может связываться с PSMA.

9. Конъюгат по любому из пп.1-8, где лиганд имеет структуру, представленную формулой (II)



где

m представляет собой целое число от 2 до 6, предпочтительно от 2 до 4, более предпочтительно 2;

n представляет собой целое число от 2 до 6, предпочтительно от 2 до 4, более предпочтительно 2 или 3;

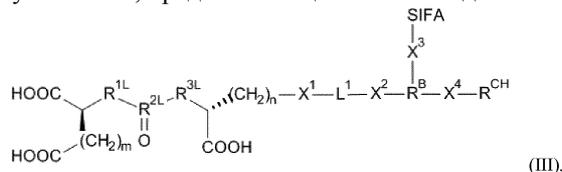
R^{1L} представляет собой CH_2 , NH или O , предпочтительно NH ;

R^{3L} представляет собой CH_2 , NH или O , предпочтительно NH ;

R^{2L} представляет собой C или $\text{P}(\text{OH})$, предпочтительно C и

где лиганд присоединен к остальной части конъюгата через связь, обозначенную как .

10. Конъюгат по любому из пп.1-9, представляющий собой соединение формулы (III)



или его фармацевтически приемлемую соль,

где SIFA представляет собой фрагмент кремнефторидного акцептора (SIFA), который содержит ковалентную связь между кремнием и атомом фтора и который может быть мечен ^{18}F путем изотопного обмена ^{19}F на ^{18}F или который мечен ^{18}F , предпочтительно SIFA представляет собой фрагмент SIFA по п.2;

m представляет собой целое число от 2 до 6, предпочтительно от 2 до 4, более предпочтительно 2;

n представляет собой целое число от 2 до 6, предпочтительно от 2 до 4, более предпочтительно 2 или 3;

R^{1L} представляет собой CH_2 , NH или O , предпочтительно NH ;

R^{3L} представляет собой CH_2 , NH или O , предпочтительно NH ;

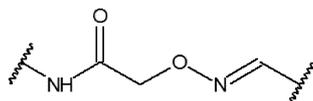
R^{2L} представляет собой C или $\text{P}(\text{OH})$, предпочтительно C ;

X^1 выбран из амидной связи, простоэфирной связи, простой тиоэфирной связи, сложноэфирной связи, сложной тиоэфирной связи, мочевинового мостика и аминной связи, предпочтительно амидной связи;

X^2 выбран из амидной связи, простоэфирной связи, простой тиоэфирной связи, сложноэфирной связи, сложной тиоэфирной связи, мочевинового мостика и аминной связи, предпочтительно амидной связи;

L^1 представляет собой двухвалентную связующую группу, структура которой выбрана из олигоамида, простого олигоэфира, простого олиготиоэфира, сложного олигоэфира, сложного олиготиоэфира, олигомочевина, олиго(простой эфир-амид), олиго(простой тиоэфир-амид), олиго(сложный эфир-амид), олиго(сложный тиоэфир-амид), олиго(мочевина-амид), олиго(простой эфир-простой тиоэфир), олиго(простой эфир-сложный эфир), олиго(простой эфир-сложный тиоэфир), олиго(простой эфир-мочевина), олиго(простой тиоэфир-сложный эфир), олиго(простой тиоэфир-сложный тиоэфир), олиго(простой тиоэфир-мочевина), олиго(сложный эфир-простой тиоэфир), олиго(сложный эфир-мочевина) и олиго(сложный тиоэфир-мочевина), предпочтительно структура выбрана из олигоамида и олиго(сложный эфир-амид);

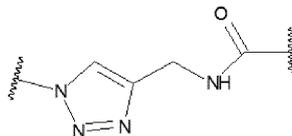
X^3 выбран из амидной связи, сложноэфирной связи, простого эфира, амина и связующей группы формулы



где связь, обозначенная как , в группе NH , связана с R^B , а другая связь, обозначенная как , связана с SIFA, предпочтительно X представляет собой амидную связь;

R^B представляет собой трехвалентную связующую группу;

X^4 выбран из амидной связи, простоэфирной связи, простой тиоэфирной связи, сложноэфирной связи, сложной тиоэфирной связи, мочевинового мостика, аминной связи и связующей группы формулы



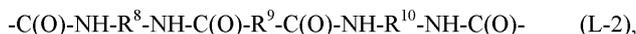
где амидная связь, обозначенная как , образована с хелатирующей группой, а другая связь,

обозначенная как ~~~~~ , связана с R^B , предпочтительно X^4 представляет собой амидную связь;

R^{CH} представляет собой хелатирующую группу, необязательно содержащую хелатированный радиоактивный или нерадиоактивный катион, предпочтительно радиоактивный или нерадиоактивный катион металла, предпочтительно хелатирующую группу по п.4, более предпочтительно хелатирующую группу по п.5 и наиболее предпочтительно хелатирующую группу по п.6.

11. Конъюгат по п.10, где L^1 содержит всего от 1 до 5, более предпочтительно всего от 1 до 3 и наиболее предпочтительно всего 1 или 2 амидных и/или сложноэфирных связей, предпочтительно амидных связей, в остове.

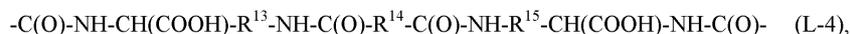
12. Конъюгат по п.10, где $-X^1-L^1-X^2-$ представляет собой одну из следующих структур (L-1) и (L-2):



где R^6-R^{10} независимо выбраны из C_2-C_{10} -алкилена, предпочтительно линейного C_2-C_{10} -алкилена, причем каждая алкиленовая группа может быть замещена одним или более заместителями, независимо выбранными из $-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{COOH}$, $-\text{COOCH}_3$, $-\text{NH}_2$ и $-\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$.

13. Конъюгат по п.12, где общее число атомов углерода в R^6 и R^7 или в R^8-R^{10} соответственно составляет от 8 до 20, более предпочтительно от 8 до 14, без атомов углерода в необязательных заместителях.

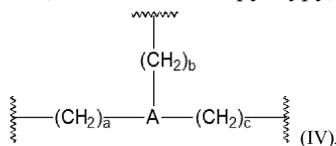
14. Конъюгат по п.10, где $-X^1-L^1-X^2-$ представляет собой одну из следующих структур (L-3) и (L-4):



где $R^{11}-R^{15}$ независимо выбраны из C_2-C_8 -алкилена, предпочтительно линейного C_2-C_8 -алкилена.

15. Конъюгат по п.14, где общее число атомов углерода в R^{11} и R^{12} или в $R^{13}-R^{15}$, соответственно, составляет от 8 до 18, более предпочтительно от 8 до 12, еще более предпочтительно от 9 до 10.

16. Конъюгат по любому из пп.10-15, где R^B имеет структуру, представленную формулой (IV)



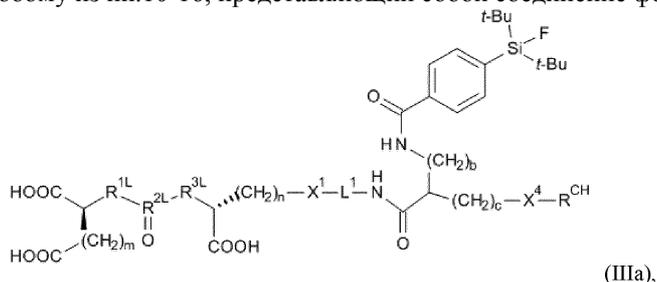
где A выбран из N, CR^{16} , где R^{16} представляет собой H или C_1-C_6 -алкил и 5-7-членную карбоциклическую или гетероциклическую группу, предпочтительно A выбран из N и CH и более предпочтительно A представляет собой CH;

связь, обозначенная как ~~~~~ при $(\text{CH}_2)_a$, образована с помощью X^2 , и a представляет собой целое число от 0 до 4, предпочтительно 0 или 1 и наиболее предпочтительно 0;

связь, обозначенная как ~~~~~ при $(\text{CH}_2)_b$, образована с помощью X^3 , и b представляет собой целое число от 0 до 4, предпочтительно от 0 до 2 и более предпочтительно 0 или 1, и

связь, обозначенная как ~~~~~ при $(\text{CH}_2)_c$, образована с помощью X^4 , и c представляет собой целое число от 0 до 4, предпочтительно от 0 до 2 и более предпочтительно 0 или 1.

17. Конъюгат по любому из пп.10-16, представляющий собой соединение формулы (IIIa)



или его фармацевтически приемлемая соль,

где m, n, R^{1L} , R^{2L} , R^{3L} , X^1 , L^1 , b, c, X^4 и RCH являются такими, как определено в пп.10-16.

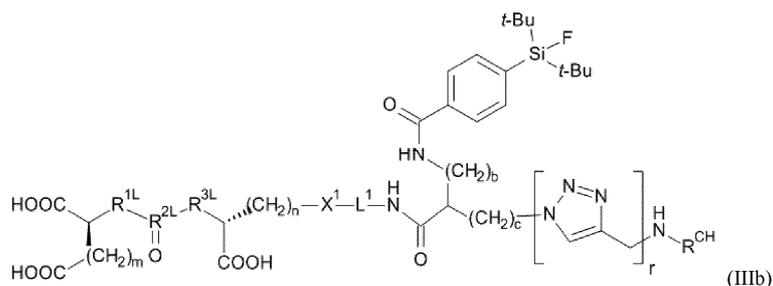
18. Конъюгат по п.17, где b + c более или равно 1.

19. Конъюгат по п.17 или п.18, где b + c менее или равно 3.

20. Конъюгат по любому из пп.17-19, где b равно 1, а c равно 0.

21. Конъюгат по любому из пп.10-20, где $-X^4-R^{\text{CH}}$ представляет собой остаток хелатирующего агента, выбранного из DOTA и DOTAGA, связанный с одной из его карбоксильных групп через амидную связь с остальной частью конъюгата.

22. Конъюгат по любому из пп.10-20, представляющий собой соединение формулы (IIIb)



или его фармацевтически приемлемую соль, где m , n , R^{1L} , R^{2L} , R^{3L} , X^1 , L^1 , b , c , X^4 и R^{CH} являются такими, как определено в пп.10-20, и g равно 0 или 1.

23. Конъюгат по п.22, где $-N(H)-R^{CH}$ представляет собой остаток хелатирующего агента, выбранного из DOTA и DOTAGA, связанный с одной из его карбоксильных групп через амидную связь с остальной частью конъюгата.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1. Иллюстративная корреляция определения связывания девяти эталонных веществ с человеческим сывороточным альбумином (OriginPro 2016G).

Фиг. 2. Иллюстративное ПЭТ-изображение (проекция максимальной интенсивности, дорсальная рамка) $^{68}\text{Ga-natF-5}$ у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP (1 ч после введения, время экспозиции 15 мин) и количественная оценка ROI выбранных органов. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 4). % ВД/мл представляет собой % введенной дозы на мл. Положение опухоли указано стрелкой.

Фиг. 3. Иллюстративное ПЭТ-изображение (проекция максимальной интенсивности, дорсальная рамка) $^{68}\text{Ga-natF-6}$ у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP (1 ч после введения, время экспозиции 15 мин) и количественное определение ROI выбранных органов. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 4). % ВД/мл представляет собой % введенной дозы на мл. Положение опухоли указано стрелкой.

Фиг. 4. Иллюстративные ПЭТ-изображения (проекция максимальной интенсивности, дорсальная рамка) $^{68}\text{Ga-natF-7}$ и $^{68}\text{Ga-natF-7}$, совместно инъецированного с PMPA (8 мг/кг) у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP (1 ч после введения, время экспозиции 15 мин) и количественное определение ROI выбранных органов при сканировании ПЭТ без блокирования. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 2). % ВД/мл представляет собой % введенной дозы на мл. Положения опухоли указаны стрелками.

Фиг. 5. Кривые зависимости активности от времени (логарифмический график) в % ВД/мл, полученные из динамических данных ПЭТ (время экспозиции 90 мин, пространственная реконструкция OSEM) в пуле крови (сердце), мышцах, почках, печени и ксенотрансплантатной опухоли LNCaP $^{68}\text{Ga-natF-7}$ у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP.

Фиг. 6. Иллюстративные ПЭТ-изображения (проекция максимальной интенсивности, дорсальная рамка) $^{18}\text{F-7}$ (со свободным хелатом) у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP (1 ч. после введения, время экспозиции 15 мин) и количественное определение ROI выбранных органов при сканировании ПЭТ без блокирования. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 3). % ВД/мл представляет собой % введенной дозы на мл. Положения опухоли указаны стрелками.

Фиг. 7. Кривые зависимости активности от времени (логарифмический график) в % ВД/мл, полученные из динамических данных ПЭТ (время экспозиции 90 мин, пространственная реконструкция OSEM) в пуле крови (сердце), мышцах, почках, печени и ксенотрансплантатной опухоли LNCaP $^{18}\text{F-7}$ (со свободным хелатом) у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP.

Фиг. 8. Биораспределение (в % ВД/г) $^{68}\text{Ga-natF-7}$ (серые столбцы) и $^{18}\text{F-7}$ (со свободным хелатом) (белые столбцы) через 1 ч после введения у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 3).

Фиг. 9. Иллюстративные ПЭТ-изображения (проекция максимальной интенсивности, дорсальная рамка) $^{68}\text{Ga-natF-8}$ и $^{68}\text{Ga-natF-8}$, совместно инъецированного с PMPA (8 мг/кг) у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP (1 ч после введения, время экспозиции 15 мин) и количественное определение ROI выбранных органов при сканировании ПЭТ без блокирования. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 2). % ВД/мл представляет собой % введенной дозы на мл. Положения опухоли указаны стрелками.

Фиг. 10. Кривые зависимости активности от времени (логарифмический график) в % ВД/мл, полученные из динамических данных ПЭТ (время экспозиции 90 мин, пространственная реконструкция OSEM) в пуле крови (сердце), мышцах, почках, печени и ксенотрансплантатной опухоли LNCaP $^{68}\text{Ga-natF-8}$ у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP.

Фиг. 11. Иллюстративные ПЭТ-изображения (проекция максимальной интенсивности, дорсальная

рамка) ^{18}F -8 (свободный хелат) и ^{18}F -8 (свободный хелат), совместно инъецированного с РМРА (8 мг/кг) у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP (1 ч после введения, время экспозиции 15 мин) и количественная оценка ROI выбранных органов при сканировании ПЭТ без блокирования. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 3). % ВД/мл представляет собой % введенной дозы на мл. Положения опухоли указаны стрелками. Обратите внимание на различное масштабирование (0-10 слева, 0-20 справа)

Фиг. 12. Кривые зависимости активности от времени (логарифмический график) в % ВД/мл, полученные из динамических данных ПЭТ (время экспозиции 90 мин, пространственная реконструкция OSEM) в пуле крови (сердце), мышцах, почках, печени и ксенотрансплантатной опухоли LNCaP ^{18}F -8 у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP.

Фиг. 13. Биораспределение (в % ВД/г) ^{68}Ga - ^{18}F -8 (свободный хелат), (серые столбцы) и ^{18}F -8 (белые столбцы) через 1 ч после введения у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 3).

Фиг. 14. Иллюстративные ПЭТ-изображения (проекция максимальной интенсивности, дорсальная рамка) ^{68}Ga - ^{18}F -9 (свободный хелат) и ^{68}Ga - ^{18}F -9 (свободный хелат), совместно инъецированного с РМРА (8 мг/кг) мышам линии SCID, несущим опухоль LNCaP (1 ч после введения, время экспозиции 15 мин), и количественное определение ROI выбранных органов при сканировании ПЭТ без блокирования. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 3). % ВД/мл представляет собой % введенной дозы на мл. Положения опухоли указаны стрелками.

Фиг. 15. Кривые зависимости активности от времени (логарифмический график) в % ID/мл, полученные из динамических данных ПЭТ (время экспозиции 90 мин, пространственная реконструкция OSEM) в пуле крови (сердце), мышцах, почках, печени и ксенотрансплантате опухоли LNCaP ^{68}Ga - ^{18}F -9 у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP.

Фиг. 16. Иллюстративные ПЭТ-изображения (проекция максимальной интенсивности, дорсальная рамка) ^{18}F -9 (свободный хелат) и ^{18}F -9 (свободный хелат), совместно инъецированного с РМРА (8 мг/кг) у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP (1 ч после введения, время экспозиции 15 мин) и количественная оценка ROI выбранных органов при сканировании ПЭТ без блокирования. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 4). % ВД/мл представляет собой % введенной дозы на мл. Положения опухоли указаны стрелками.

Фиг. 17. Кривые зависимости активности от времени (логарифмический график) в % ВД/мл, полученные из динамических данных ПЭТ (время экспозиции 90 мин, пространственная реконструкция OSEM) в пуле крови (сердце), мышцах, почках, печени и ксенотрансплантатной опухоли LNCaP ^{18}F -9 (свободный хелат) у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP.

Фиг. 18. Биораспределение (в % ВД/г) ^{68}Ga - ^{18}F -9 (серые столбцы) и ^{18}F -9 (свободный хелат) (белые столбцы) через 1 ч после введения у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 3).

Фиг. 19. Иллюстративные ПЭТ-изображения (проекция максимальной интенсивности, дорсальная рамка) ^{18}F - ^{nat}Ga -7 (свободный хелат) и ^{18}F - ^{nat}Ga -7 (свободный хелат), совместно инъецированного с РМРА (8 мг/кг) у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP (1 ч после введения, время экспозиции 15 мин) и количественное определение ROI выбранных органов при сканировании ПЭТ без блокирования. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 3). % ВД/мл представляет собой % введенной дозы на мл. Положения опухоли указаны стрелками.

Фиг. 20. Биораспределение (в % ВД/г) ^{18}F - ^{nat}Ga -7 (свободный хелат) (белые столбцы) по сравнению со структурно идентичным соединением ^{68}Ga - ^{nat}F -7 (свободный хелат) (серые столбцы) через 1 ч после введения у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 3).

Фиг. 21. Изображение слева демонстрирует проекцию максимальной интенсивности (MIR) от ПЭТ субъекта с нормальным биораспределением (опухолевые поражения не обнаружены). Изображения были получены через 76 мин после введения 272 МБк PSMA-SIFA3 (7), меченного ^{18}F . На фиг. 21 справа изображена проекция максимальной интенсивности (MIP) от ПЭТ субъекта с умеренно распространенным заболеванием, демонстрирующим множественные опухолевые поражения с высоким отношением поражения к фону. Изображения получены через 102 мин после введения 312 МБк PSMA-SIFA3 (7), меченного ^{18}F .

Фиг. 22. Графическое представление табл. 6.

Фиг. 23. Графическое представление табл. 7.

Фиг. 24. Графическое представление табл. 8.

Фиг. 25. Графическое представление табл. 9.

Фиг. 26. Показывает: MIR (A) и трансаксиальные изображения (B-D) пациента 70 лет с биохимическим рецидивом через 1,5 года после радикального удаления предстательной железы (Gleason 8, pT2c, pN1). Присутствует единичное типичное поражение рака предстательной железы диаметром 5 мм с правой стороны таза с высоким поглощением PSMA-SIFA3 (7), меченного F. Злокачественная природа по-

ражения была подтверждена гистопатологией.

Фиг. 27. Набор изображений пациента 80 лет с прогрессирующим кастрационно-резистентным раком предстательной железы (PSA 66,4 нг/мл). Изображения показывают высокое поглощение PSMA-SiFA3 (7), меченного ^{18}F в различных классах поражений рака предстательной железы (локальная опухоль, метастазы в лимфатических узлах, метастазы в кости, метастазы в печени). Показанные поражения находятся в пределах 2 мм (стрелки указывают на характерные, а не на все опухолевые очаги).

Фиг. 28. Показано доказательство экспериментальной проверки концепции действия ПЭТ метки, меченной ^{68}Ga , SiFA замещенной, на основе хелатора.

Фиг. 29. Иллюстративные ПЭТ-изображения (проекция максимальной интенсивности, дорсальная рамка) ^{18}F - $^{\text{nat}}\text{Lu}$ -rh-7 у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP (1 ч после введения, время экспозиции 15 мин) и количественная оценка ROI выбранных органов при сканировании ПЭТ без блокирования. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 3). % ВД/мл представляет собой % введенной дозы на мл. Положения опухоли указаны стрелками.

Фиг. 30. Кривые зависимости активности от времени (логарифмический график) в % ВД/мл, полученные из динамических данных ПЭТ (время экспозиции 90 мин, пространственная реконструкция OSEM) в пуле крови (сердце), мышцах, почках, печени и ксенотрансплантатной опухоли LNCaP ^{18}F - $^{\text{nat}}\text{Lu}$ -rh-7 у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP.

Фиг. 31. Биораспределение (в % ВД/г) ^{177}Lu - $^{\text{nat}}\text{F}$ -7, ^{177}Lu - $^{\text{nat}}\text{F}$ -8 и ^{177}Lu - $^{\text{nat}}\text{F}$ -10 через 24 ч после введения у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 4).

Фиг. 32. Биораспределение (в % ВД/г) ^{177}Lu - $^{\text{nat}}\text{F}$ -10 через 1 и 24 ч после введения у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 4).

Фиг. 33. Сравнительное биораспределение (в % ВД/г) установленных и новых rhPSMA-лигандов через 24 ч после введения у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 4-5).

Фиг. 34. Биораспределение (в % ВД/г) ^{177}Lu - $^{\text{nat}}\text{F}$ -10 и ^{68}Ga - $^{\text{nat}}\text{F}$ -10 через 1 ч после введения у мышей линии SCID, несущих опухоль LNCaP. Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n равно 4).

Далее изобретение проиллюстрировано примерами.

Пример 1. Материалы и способы

Общее.

Gmoc-(9-флуоренилметоксикарбонил-) и все другие защищенные аналоги аминокислот были приобретены у Bachem (Бубендорф, Швейцария) или Iris Biotech (Марктредвиц, Германия). Тритилхлорид полистирольная смола (TCP) была получена от PerChem (Тюбинген, Германия). От Chematech (Дижон, Франция) получены хелаторы DOTAGA-ангидрид и NOTA. Хелатор TRAP (1,4,7-триазаацетонан-1,4,7-трис[метил(2-карбоксиил)фосфиновая кислота]) получали, как описано ранее (Notni et al., Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany) 16, 7174-85 (2010)). Получение кремнефторидного акцептора SIFA-бензойной кислоты проводят в соответствии с ранее опубликованным способом (Iovkova et al., Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany) 15, 2140-7 (2009)). Все необходимые растворители и другие органические реагенты были приобретены у Alfa Aesar (Карлсруэ, Германия), Sigma-Aldrich (Мюнхен, Германия) или VWR (Дармштадт, Германия). Твердофазный синтез пептидов осуществляли вручную, с применением шприц-шейкера Intelli-Mixer (Neolab, Гейдельберг, Германия). Аналитическую и препаративную обращенно-фазовую высокоэффективную жидкостную хроматографию (ОФ-ВЭЖХ) выполняют с применением градиентных систем Shimadzu (Shimadzu Deutschland GmbH, Нойфарн, Германия), каждая из которых оборудована детектором SPD-20A UV/Vis (220 нм, 254 нм). Колонку Nucleosil 100 C18 (125×4,6 мм, размер частиц 5 мкм) (CS GmbH, Лангервез, Германия) применяют для аналитических измерений при скорости потока 1 мл/мин. В тексте приводятся как конкретные градиенты, так и соответствующее время удержания t_R . Очистку препаративной ВЭЖХ проводят на колонке Multospher 100 RP 18 (250×10 мм, размер частиц 5 мкм) (CS GmbH, Лангервез, Германия) при постоянной скорости потока 5 мл/мин. Аналитическую и препаративную ОФ-ВЭЖХ с радиометрическим детектированием проводят с применением колонки Nucleosil 100 C18 (5 мкм, 125×4,0 мм) (CS GmbH, Лангервез, Германия). Элюентами для всех операций ВЭЖХ были вода (растворитель А) и ацетонитрил (растворитель В), оба из которых содержали 0,1% трифторуксусной кислоты. Масс-спектры при электрораспылительной ионизации для характеристики веществ получают на масс-спектрометре Expression^L CMS (Advion Ltd., Харлоу, Великобритания). Радиоактивность детектируют через соединение выхода УФ-фотометра с сцинтилляционным детектором типа NaI(Tl) от EG&G Ortec (Мюнхен, Германия). Гель-проникающую хроматографию (ГПХ) проводили на Sephadex GP-10 (100 г, размер слоя приблизительно 30×3 см) с водой в качестве элюента, разделяя элюат на фракции по 20 мл. Спектры ЯМР регистрируют на спектрометрах Bruker AVHD-300 или AVHD-400 при 300 К. Значения pH измеряют с помощью pH-метра SevenEasy (Mettler Toledo, Гисен, Germany).

Протоколы получения

1) Твердофазный синтез пептидов по Fmoc-стратегии.

Загрузка смолы TSP.

Загрузку тритилхлорид полистирольной смолы (TSP) с Fmoc-защищенной аминокислотой (AA) осуществляют путем перемешивания раствора смолы TSP (1,95 ммоль/г) и Fmoc-AA-OH (1,5 экв.) в безводном ДХМ (Дихлорметан) с DIPEA (Диизопропилэтиламин) (4,5 экв.) При комнатной температуре в течение 2 часов. Оставшийся тритилхлорид закрывают добавлением метанола (2 мл/г смолы) в течение 15 мин. Затем смолу отфильтровывали и отмывают ДХМ (2×5 мл/г смолы), ДФМА (Диметилформамид) (2×5 мл/г смолы), метанолом (5 мл/г смолы) и сушат в вакууме. Конечную загрузку 1 Fmoc-AA-OH определяют по следующему уравнению:

$$l \left[\frac{mmol}{g} \right] = \frac{(m_2 - m_1) \times 1000}{(M_W - M_{HCl}) m_2}$$

m_2 представляет собой массу загруженной смолы [г];

m_1 представляет собой массу незагруженной смолы [г];

M_W представляет собой молекулярную массу AA [г/моль];

M_{HCl} представляет собой молекулярную массу HCl [г/моль].

Формирование пептида на смоле

Соответствующий защищенный боковой цепью Fmoc-AA-OH (1,5 экв.) растворяют в ДМФА (8 мл/г смолы) и предварительно активируют путем добавления TBTU (2-(1H-Бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметиламиний тетрафторборат 2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylammonium tetrafluoroborate) (1,5 экв.), HOBT (Гидроксibenзотриазол) (1,5 экв.) и DIPEA (4,5 экв.). Предварительную активацию для SIFA-BA проводят аналогично. Для азидозамещенных аминокислот (2,0 экв.) применяют NATU (1-[бис(диметиламино)метил]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиний 3-оксид гексафторфосфата) (3,0 экв.), HOAt (1-гидрокси-7-азабензотриазол) (3,0 экв.) и DIPEA (6,0 экв.). После активации в течение 15 мин раствор добавляют к связанному со смолой свободному аминокептиду TSP-AA-NH₂ и встряхивают в течение 2 ч при комнатной температуре. Затем смолу промывают ДМФА (смола 6×5 мл/г) и после снятия защиты с Fmoc следующую аминокислоту связывают аналогичным образом.

Удаление защиты Fmoc на смоле

Связанный со смолой Fmoc-пептид обрабатывают 20% пиперидином в ДМФА (об./об., 8 мл/г смолы) в течение 5 мин и затем в течение 15 мин. Затем смолу тщательно отмывают ДМФА (8×5 мл/г смолы).

Удаление защиты Dde (2-ацетилмедон) на смоле

Dde-защищенный пептид (1,0 экв.) растворяют в растворе 2% моногидрата гидразина в ДМФА (об./об., 5 мл/г смолы) и встряхивают в течение 15 мин. В случае присутствия Fmoc-групп, удаление защиты с Dde проводят путем добавления раствора имидазола (0,46 г), гидрохлорида гидроксиламина (0,63 г) в н-метил-2-пирролидоне (2,5 мл) и ДМФА (0,5 мл) в течение 3 ч при комнатной температуре. После снятия защиты смолу отмывали ДМФА (6×5 мл/г смолы).

Удаление защиты Alloc (аллилоксикарбонил) на смоле

Аллилокси-защитную группу удаляют добавлением триизопропилсилана (TIPS) (50,0 экв.) и тетракис(трифенилфосфин)палладия(0) (Pd(PPh₃)₄) (0,3 экв.), растворенного в ДХМ (6 мл). Через 1,5 ч при комнатной температуре смолу отмывают ДХМ (6×5 мл/г смолы).

Снятие защиты tBu/Voc

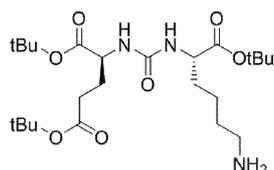
Удаление защитных групп tBu/tVoc осуществляют путем растворения неочищенного продукта в ТФУ и перемешивания в течение 40 мин при комнатной температуре. После удаления ТФУ в потоке азота остаток растворяют в смеси трет-бутанола и воды. После лиофилизации получают неочищенный пептид.

Отщепление пептида от смолы

а) Сохранение лабильных кислотных защитных групп: связанный со смолой пептид растворяют в смеси ДХМ/ТФЭ/АсОН (ТФЭ - тетрафторэтилен, АсОН - уксусная кислота) (об./об., 6/3/1, 8 мл/г смолы) и встряхивают в течение 30 мин. Раствор, содержащий полностью защищенный пептид, отфильтровывают и смолу обрабатывают другой порцией раствора для расщепления в течение 30 мин. Обе фракции объединяют и уксусную кислоту удаляют при пониженном давлении путем последовательного добавления толуола и воды. После лиофилизации оставшейся воды получают неочищенный полностью защищенный пептид.

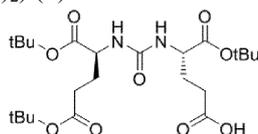
б) Снятие защиты со всех лабильных кислотных защитных групп: полностью защищенный связанный со смолой пептид растворяют в смеси ТФУ/TIPS/вода (ТФУ - трифторукусная кислота, TIPS - триизопропилсилан) (об./об./об. 95/2,5/2,5) и встряхивают в течение 30 мин. Раствор отфильтровывают и смолу обрабатывают таким же образом в течение еще 30 мин. Оба фильтрата объединяют и концентрируют в потоке азота. После растворения остатка в смеси трет-бутанола и воды, и последующей лиофилизации получают неочищенный пептид.

2) Синтез связующих мотивов Lys-мочевина-Glu ((tBuO)KuE(OtBu)₂) (1)



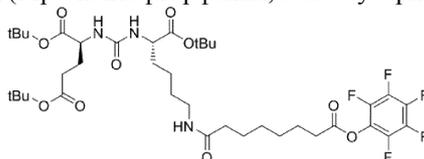
Синтез tBu-защищенного связующего мотива Lys-мочевина-Glu (EuK) проводят, как описано ранее, с помощью синтеза в фазе раствора (Weineisen et al., EJNMMI исследование 4, 63 (2014)). Продукт получают в виде воскообразного твердого вещества (91,5%). ВЭЖХ (от 10 до 90% В через 15 мин): t_R составляет 12,6 мин. Расчетная моноизотопная масса ($C_{24}H_{45}N_3O_7$): 487,6, найдено: m/z составляет 488,3 $[M+H]^+$, 510,3 $[M+Na]^+$.

Glu-мочевина-Glu ((tBuO)EuE(OtBu)₂) (2)



tBu-защищенный связующий мотив Glu-мочевина-Glu (EuE) получают в соответствии с ранее опубликованным способом (Weineisen et al., EJNMMI исследование 4, 63 (2014)). Продукт получают в виде гигроскопичного твердого вещества (84%). ВЭЖХ (от 10 до 90% В через 15 мин): t_R составляет 11,3 мин. Расчетная моноизотопная масса ($C_{23}H_{49}N_2O_9$): 488,3, найдено: m/z составляет 489,4 $[M+H]^+$, 516,4 $[M+Na]^+$.

PfpO-Sub-(tBuO)KuE(OtBu)₂ (Pfp - пентафторфенил, Sub - субериновая кислота) (3)

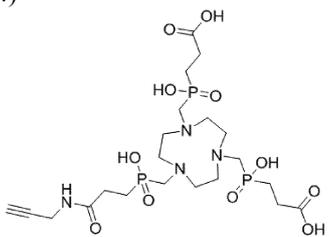


Конъюгирование EuK со спейсером субериновой кислоты проводят, как описано ранее (Weineisen et al., EJNMMI исследование 4, 63 (2014)). Продукт получают в виде бесцветного масла (72%). ВЭЖХ (от 10 до 90% В через 15 мин): t_R составляет 15,5 мин. Расчетная моноизотопная масса ($C_{38}H_{56}F_5N_3O_{10}$): 809,4, найдено: m/z составляет 810,6 $[M+H]^+$, 832,4 $[M+Na]^+$.

Конъюгирование EuK-субъединицы мотива (3) с пептидом

Пептид с N-концевой защитой (1,0 экв.) добавляют к раствору 3 (1,2 экв.) в ДМФА и добавляли ТЭА (8 экв.). После перемешивания раствора в течение 2 ч при комнатной температуре, ДМФА удаляют в вакууме. Для расщепления сложных эфиров tBu добавляют ТФУ и раствор перемешивают в течение 45 мин при комнатной температуре. После удаления ТФУ в потоке азота неочищенный продукт очищают с помощью ОФ-вэжх.

3) Получение пропаргил-TRAP (4)



Получение пропаргил-TRAP осуществляют, как описано ранее (Reich et al., Chemical Communications (Cambridge, England) 53, 2586-2589 (2017)). Окончательную очистку осуществляют препаративной ВЭЖХ, получая 60,2 мг (82,4 мкмоль, 46%) пропаргил-TRAP в виде бесцветного твердого вещества. ВЭЖХ (от 2 до 40% В через 20 мин): t_R составляет 6,0 мин. Расчетная моноизотопная масса ($C_{21}H_{39}N_4O_{11}P_3$): 616,5, найдено: m/z составляет 617,5 $[M+H]^+$.

¹H-ЯМР (300 МГц, D₂O, 300 К) δ = 1,96-2,08 (m, 6H, C(O)-CH₂), 2,46-2,55 (m, 2H, P^B-CH₂-C), 2,59-2,70 (m, 4H, P^A-CH₂-C), 3,36 (d, 2H, ²J_{PH}=6 Гц, P^B-CH₂-N), 3,41 (d, 4H, ²J_{PH}=6 Гц, P^A-CH₂-N), 3,47-3,48 (m, 12H, кольцо-CH₂), 3,95 (d, 2H, CH₂-C≡CH, ⁴J_{HH}= 3 Гц) м.д.*. ¹³C{¹H}-ЯМР (101 МГц, D₂O, 300 К) δ = 24,61 (d, ¹J_{PP}=95 Гц, P^B-C-C), 25,07 (d, ¹J_{PP}=94 Гц, P^A-C-C), 26,71 (d, ²J_{PP}=4 Гц, P^B-C-C), 27,82 (d, ²J_{PP}=3 Гц, P^A-C-C), 28,89 (C-C≡C), 51,29/51,41/51,50 (три разных кольца-C), 53,66 (d, ¹J_{PP}=91 Гц, N-C-P^A), 53,66 (d, ¹J_{PP}=90 Гц, N-C-P^B), 71,79 (C-C≡C), 79,65 (C-C≡C), 174,46 (d, ³J_{PP}=14 Гц, N(H)-C=O^B), 177,24 (d, ³J_{PP}=13 Гц, C=O^A) м.д.*. ³¹P{¹H}-ЯМР (162 МГц, D₂O, 300 К) δ = 37,99 (P^A), 38,68 (P^B) м.д.*. *: индексы А и В указывают на атомы Р и О, принадлежащие неокрашенному боковому плечу А и окрашенному В соответственно.

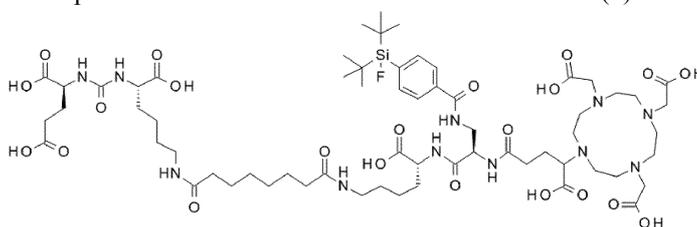
Связывание пропаргил-TRAP (4) с пептидом

Для конъюгирования функционализированных азидом пептидов с пропаргил-TRAP через катализируемое медью (I) алкиназное циклоприсоединение был применен ранее разработанный способ (Reich et al., Chemical communications (Cambridge, England) 53, 2586-2589 (2017)). Кратко, пропаргил-TRAP (1,0 экв.) растворяют в воде (40 мМ раствор) и объединяют с раствором пептида (1,1 экв.) в смеси 1:1 (об./об.) tBuOH (2-метилпропанол-2) и воды. Затем добавляют раствор аскорбата натрия (0,5 М, 50 экв.) в воде. Чтобы начать реакцию, добавляют водный раствор $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (ацетат меди)- H_2O (0,05 М, 1,2 экв.), что приводило к получению коричневого осадка, который растворялся после перемешивания в прозрачном зеленом растворе. Для демееталлирования TRAP добавляют водный раствор 1,4,7-триазаацетонан-1,4,7-триуксусной кислоты (NOTA, 8 мМ, 12 экв.) и значение pH регулируют до 2,2 с помощью 1 М водн. HCl. Через либо 1 ч при 60°C, либо 48 ч при комнатной температуре смесь непосредственно подвергают очистке с помощью препаративной ВЭЖХ.

4) Конъюгирование DOTAGA.

Конденсация пептидов и соответствующего хелатора DOTAGA-ангидрида описана в нескольких публикациях и суммирована следующим образом: пептид с незащищенным N-концом (1,0 экв.) растворяют вместе с DOTAGA-ангидридом (1,5 экв.) и DIPEA (10,0 экв.) в сухом ДМФА. После перемешивания реакционной смеси в течение ночи, ДМФА удаляли в вакууме, получая неочищенный продукт.

5) Получение ингибиторов PSMA-SIFA на основе EuK PSMA-SIFA1 (5)



PSMA-SIFA1 получают в соответствии со стандартным Fmoc-твердофазным пептидным синтезом (SPPS) на тритилхлоридной полистирольной смоле (TSP), применяя вышеупомянутые способы. Кратко, связанный со смолой Fmoc-D-Lys(Boc) ((R)-6-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-2-[[1-(9H-флуорен-9-ил)метокси]карбонил]амино]гексановая кислота) подвергают снятию защиты с Fmoc с помощью 20% пиперидина в ДФМА и Fmoc-D-Dap(Dde)-OH ((2R)-3-[[1-(4,4-диметил-2,6-диоксоциклогексидил)этил]амино]-2-[[1-(9H-флуорен-9-ил)метокси]карбонил]амино]пропановая кислота) (2,0 экв.) конъюгируют с применением HOBt (2,0 экв.), TBVTU (2,0 экв.) и DIPEA (6,0 экв.) в ДМФА. После ортогонального снятия защиты с Dde (2-Ацетилдимедон) имидазолом и гидрохлоридом гидроксиламина в смеси n-метил-2-пирролидона и ДФМА, SIFA-BA (1,5 экв.) конъюгируют аналогичным образом. Последующее снятие защиты с Fmoc и мягкое отщепление от смолы с помощью ТФЭ и АсОН в ДХМ приводило к образованию Boc-защищенного пептидного остова. Конденсацию DOTAGA-ангидрида (1,5 экв.) проводят путем добавления DIPEA (10 экв.) в ДМФА. После снятия защиты с Boc в ТФУ, добавляют фрагмент PfpO-Sub-(tBuO)KuE(OtBu)₂ (1,2 экв.) в смеси ТЭА (8 экв.) и ДМФА. Конечное расщепление сложных эфиров tBu при очистке ТФУ и ОФ-ВЭЖХ давало PSMA-SIFA1 (70%) в виде бесцветного твердого вещества. ВЭЖХ (от 10 до 90% В через 15 мин): t_R составляет 9,1 мин. Расчетная мономерная масса (C₆₃H₁₀₂FN₁₁O₂₂Si): 1411,7, найдено: m/z составляет 1412,3 [M+H]⁺, 706,8 [M+2H]²⁺.

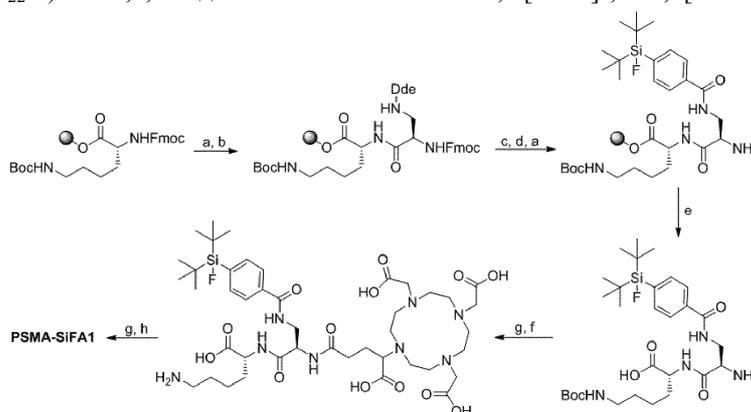
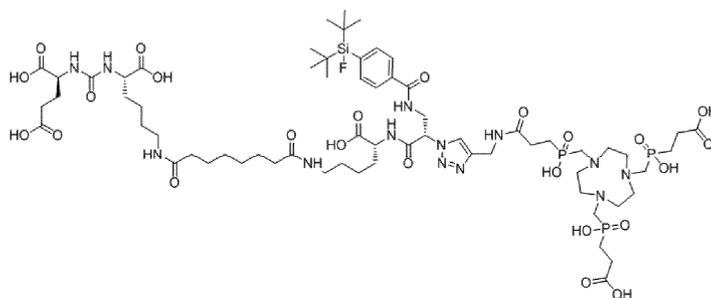


Схема 1. Получение PSMA-SIFA1: а) 20% пиперидин (ДФМА), б) Fmoc-D-Dap(Dde)-OH, HOBt, TBVTU, DIPEA (ДФМА), в) имидазол, гидрохлорид гидроксиламина, (n-метил-2-пирролидон, ДФМА), г) SIFA-BA, HOBt, TBVTU, DIPEA (ДФМА), д) ТФЭ, АсОН (ДХМ), е) DOTAGA-ангидрид, DIPEA (ДФМА), ж) ТФУ, з) PfpO-Sub-(tBuO)KuE(OtBu)₂, ТЭА (ДФМА).

PSMA-SIFA2 (6)



Получение PSMA-SIFA2 осуществляют, применяя общие способы и процедуры, упомянутые выше. Кратко, связанный со смолой Fmoc-D-Lys(Boc)-OH подвергают снятию защиты с Fmoc с помощью 20% пиперидина в ДМФА и конъюгируют с N³-L-Dap(Fmoc)-OH ((S)-2-азидо-3-[(9-флуоренилметилоксикарбонил)амино]пропановая кислота) (2,0 экв.) с HATU (3,0 экв.), HOAt (3,0 экв.) и DIPEA (6,0 экв.) в ДМФА. После расщепления Fmoc-группы добавляли SIFA-BA (1,5 экв.) с HOBT (1,5 экв.), TBVTU (1,5 экв.) и DIPEA (4,5 экв.) в ДМФА. Последующее отщепление от смолы с помощью ТФУ давало пептидный остов с полностью снятой защитой. Для конъюгирования EuK-фрагмента, PfpO-Sub-(tBuO)KuE(OtBu)₂ (1,2 экв.) добавляли в смесь ТЭА (8 экв.) и ДФМА. Расщепление tBu-сложных эфиров проводят путем добавления ТФУ. На последней стадии очищенный пептид (1,1 экв.) подвергают взаимодействию с пропаргил-TRAP (1,0 экв.) в циклоприсоединении алкиназида, катализируемого медью (I), как указано выше. После очистки с помощью ОФ-ВЭЖХ PSMA-SIFA2 (4%) получают в виде бесцветного твердого вещества. ВЭЖХ (от 10 до 90% В через 15 мин): t_R составляет 8,5 мин. Расчетная молекулярная масса (C₆₅H₁₀₉FN₁₃O₂₄P₃Si): 1595,7, найдено: m/z составляет 1596,5 [M+H]⁺, 799,1[M+2H]²⁺.

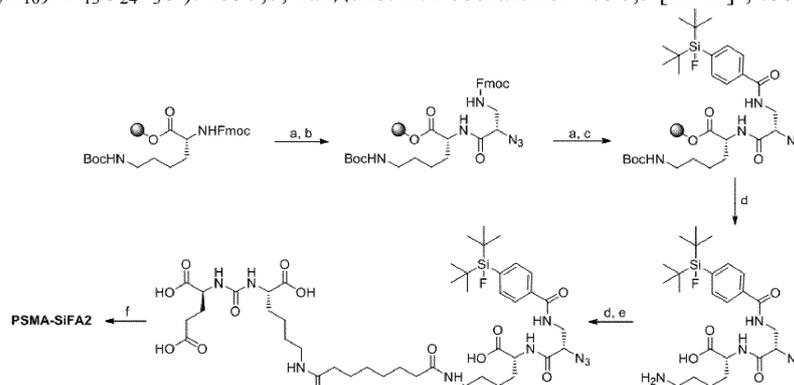
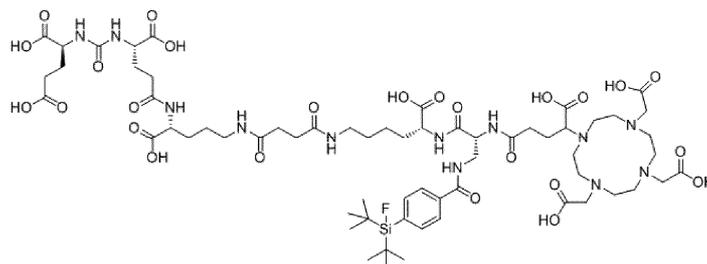


Схема 2. Получение PSMA-SIFA2: а) 20% пиперидин (ДФМА), б) N³-L-Dap(Fmoc)-OH, HATU, HOAt, DIPEA (ДФМА), в) SIFA-BA, HOBT, TBVTU, DIPEA (ДФМА), д) ТФУ, е) PfpO-Sub-(tBuO)-KuE(OtBu)₂, ТЭА (ДФМА), ф) пропаргил-TRAP, Cu(OAc)₂·H₂O, аскорбат натрия (tBuOH, H₂O).

б) Получение ингибиторов PSMA-SIFA на основе EuE.

PSMA-SIFA3 (7):



PSMA-SIFA3 получают с применением стандартного протокола Fmoc-SPPS, описанного выше. Кратко, связанный со смолой Fmoc-D-Orn(Dde)-OH (D-Orn Д-орнитин) подвергают снятию защиты Fmoc с помощью 20% пиперидина в ДФМА и (tBuO)EuE(OtBu)₂ (2,0 экв.) конъюгируют с HOBT (2,0 экв.), TBVTU (2,0 экв.) и DIPEA (6,0 экв.) в ДФМА. После расщепления Dde-группы смесь 2% гидразина в ДМФА, добавляют раствор янтарного ангидрида (7,0 экв.) и DIPEA (7,0 экв.) в ДМФА. Конъюгирования Fmoc-D-Lys-OAll·HCl (1,5 экв.) достигают путем добавления смеси HOBT (1,5 экв.), TBVTU (1,5 экв.) и DIPEA (4,5 экв.) в ДМФА. После расщепления Fmoc-группы 20% пиперидином в ДМФА, свободный амин конъюгируют с Fmoc-D-Dap(Dde)-OH (2,0 экв.) после предварительной активации аминокислоты в смеси HOBT (2,0 экв.), TBVTU (2,0 экв.) и DIPEA (6,0 экв.) в ДФМА. Последующее ортогональное снятие защиты с Dde проводят с применением имидазола и гидрохлорида гидроксилана, растворенных в смеси n-метил-2-пирролидона и ДФМА. SIFA-BA (1,5 экв.) реагировал со свободным амином боковой цепи с HOBT (1,5 экв.), TBVTU (1,5 экв.) и DIPEA (4,5 экв.) в качестве активирующих реагентов в ДМФА. Ал-

лилоксизащитную группу удаляют добавлением TIPS (50,0 экв.) и Pd(PPh₃)₄ (0,3 экв.), растворенных в ДХМ. После снятия защиты с Fmoc пиперидином, пептид отщепляют от смолы с сохранением лабильных кислотных защитных групп с применением смеси ТФЭ и АсОН в ДХМ. Конечная конденсация DOTAGA-ангидрида (1,5 экв.) была достигнута с помощью пиперидина (10 экв.) в ДМФА. После расщепления tBu-сложных эфиров EuE-фрагмента с помощью ТФУ, неочищенный пептид очищали с помощью ОФ-ВЭЖХ, получая PSMA-SIFA3 (24%) в виде бесцветного твердого вещества. ВЭЖХ (от 10 до 70% В через 15 мин): t_R составляет 10,4 мин. Расчетная моноизотопная масса (C₆₃H₉₉FN₁₂O₂₅Si): 1470,7, найдено: m/z составляет 1471,8 [M+H]⁺, 736,7 [M+2H]²⁺.

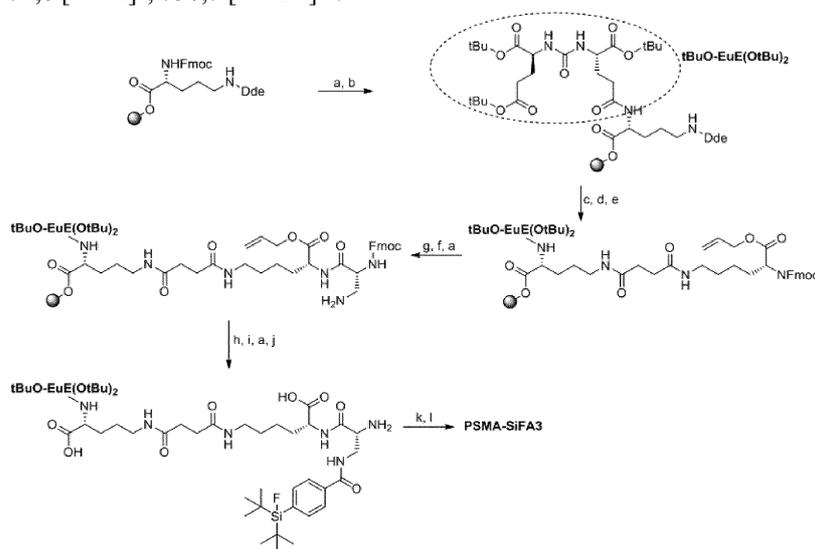
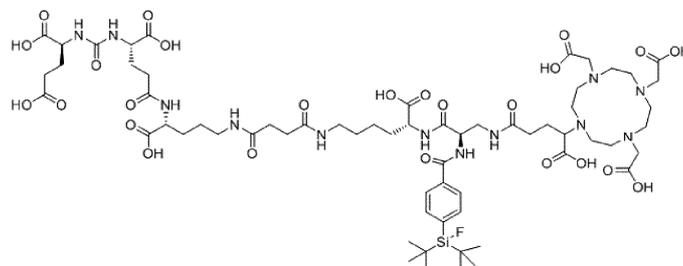


Схема 3. Получение PSMA-SIFA3: а) 20% пиперидин (ДМФА), б) (tBuO)EuE(OtBu)₂, HOBT, TBTU, DIPEA, (ДФМА), с) 2% гидразин (ДМФА), д) янтарный ангидрид, DIPEA (ДФМА), е) Fmoc-D-Lys-OAll-HCl (All - аллил), HOBT, TBTU, DIPEA (ДФМА), ф) Fmoc-D-Dap(Dde)-ОН, HOBT, TBTU, DIPEA (ДФМА), г) имидазол, гидроксиламин гидрохлорид, (н-метил-2-пирролидон, ДФМА), h) SIFA-BA, HOBT, TBTU, DIPEA (ДФМА), i) TIPS, Pd(PPh₃)₄ (ДХМ), j) ТФЭ, АсОН (ДХМ), k) DOTAGA-ангидрид, DIPEA (ДФМА), l) ТФУ.

PSMA-SIFA4 (8):



PSMA-SIFA4 получают посредством SPPS в виде соединения 7 с одним отступлением, после конъюгирования Fmoc-D-Dap(Dde)-ОН, защитную группу Fmoc сначала расщепляют 20% пиперидином в ДМФА, и SIFA-BA подвергают взаимодействию со свободным N-концом пептида. Оставшуюся группу Dde отщепляют после удаления аллилокси-защитной группы с применением имидазола и гидрохлорида гидроксиламина, растворенных в смеси н-метил-2-пирролидона и ДФМА. Последующие стадии реакции идентичны получению PSMA-SIFA3. После очистки с помощью ОФ-ВЭЖХ, PSMA-SIFA4 (11%) получают в виде бесцветного твердого вещества. ВЭЖХ (от 10 до 70% В через 15 мин): t_R составляет 10,4 мин. Расчетная моноизотопная масса (C₆₃H₉₉FN₁₂O₂₅Si): 1470,7, найдено: m/z составляет 1471,7 [M+H]⁺, 736,8 [M+2H]²⁺.

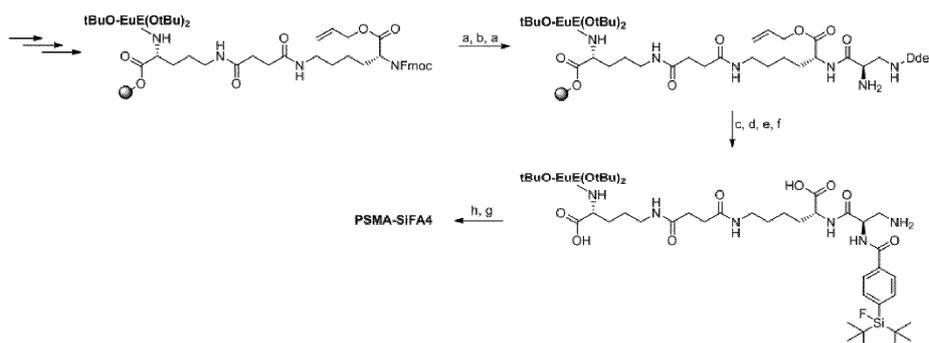
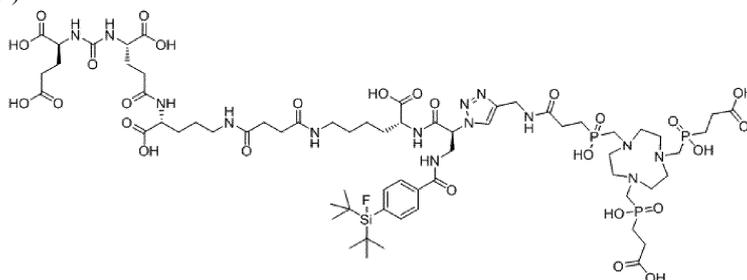


Схема 4: Получение PSMA-SIFA4: а) 20% пиперидин (ДМФА), б) Fmoc-D-Dap(Dde)-OH, HOBT, TBTU, DIPEA (ДФМА), с) SIFA-BA, HOBT, TBTU, DIPEA (ДФМА), d) TIPS, Pd(PPh₃)₄ (ДХМ), е) имидазол, гидроксилламин гидрохлорид (н-метил-2-пирролидон, ДФМА), f) ТФЭ, AcOH (ДХМ), g) DOTAGA-ангидрид, DIPEA (ДФМА), h) ТФУ.

PSMA-SIFA5 (9):



Пептидный остов PSMA-SIFA5 получают аналогично лиганду 7 и 8. Разница заключалась в применении N₃-L-Dap(Fmoc)-OH вместо Fmoc-D-Dap(Dde)-OH, что было необходимо для окончательной клик-реакции с пропаргил-TRAP. Азидозамещенную аминокислоту (2,0 экв.) конъюгируют с HATU (3,0 экв.), HOAt (3,0 экв.) и DIPEA (6,0 экв.) в ДМФА. После снятия защиты Fmoc с его боковой цепи 20% пиперидином, SIFA-BA (1,5 экв.) подвергают реакции, как указано выше. До конъюгирования хелаторного фрагмента, все оставшиеся стадии реакции идентичны пептидам 7 и 8. После отщепления от смолы с помощью ТФУ при одновременном снятии защиты всех лабильных кислотных защитных групп, очищенный EиE-азидоконъюгат (1,1 экв.) подвергали реакции с пропаргил-TRAP (1,0 экв.) в катализируемом медью (I) алкиназидном циклоприсоединении. Очистка с помощью ОФ-ВЭЖХ давала PSMA-SIFA5 (9%) в виде бесцветного твердого вещества. ВЭЖХ (от 10 до 90% В через 15 мин): t_R составляет 8,7 мин. Расчетная моноизотопная масса (C₆₅H₁₀₆FN₁₄O₂₇P₃Si): 1654,6, найдено: m/z составляет 1655,6 [M+H]⁺, 828,4 [M+2H]²⁺.

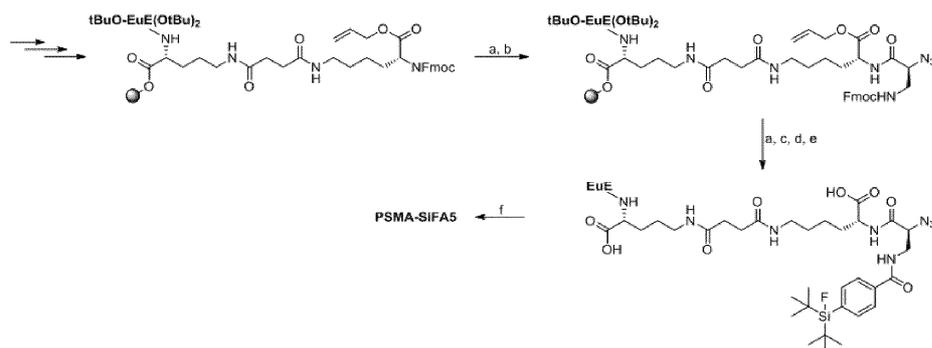


Схема 5. Получение PSMA-SIFA5: а) 20% пиперидин (ДМФА), б) N₃-L-Dap(Fmoc)-OH, HOBT, TBTU, DIPEA (ДФМА), с) SIFA-BA, HOBT, TBTU, DIPEA (ДФМА), d) TIPS, Pd(PPh₃)₄ (ДХМ), е) ТФУ, f) пропаргил-TRAP, Cu(OAc)₂·H₂O, аскорбат натрия (tBuOH, H₂O).

Эксперименты по комплексообразованию

Получение комплексов ^{nat}Ga-TRAP: 500 мкл 2 мМ стокового раствора предшественника PSMA в ДМСО объединяют с 750 мкл 2 мМ раствора Ga(NO₃)₃ в воде. Комплексообразование происходило мгновенно при комнатной температуре. Полноту реакции контролируют с помощью ОФ-ВЭЖХ и последующей масс-спектрометрии.

^{nat}Ga-PSMA-SIFA2: ВЭЖХ (от 10 до 90% В через 15 мин): t_R составляет 9,5 мин. Расчетная моноизотопная масса (C₆₅H₁₀₆FGaN₁₃O₂₄P₃Si): 1661,6 найдено: m/z составляет 1663,9 [M+H]⁺, 832,6 [M+2H]²⁺.

^{nat}Ga-PSMA-SIFA5: ВЭЖХ (от 10 до 90% В через 15 мин): t_R составляет 9,0 мин. Рассчитанная моноизотопная масса (C₆₅H₁₀₃FGaN₁₄O₂₇P₃Si): 1720,5 найдено: m/z составляет 1720,8 [M+H]⁺, 861,1

$[M+2H]^{2+}$.

Получение комплексов ^{nat}Ga -DOTAGA: 500 мкл 2 мМ стокового раствора предшественника PSMA в ДМСО объединяют с 1500 мкл 2 мМ раствора $Ga(NO_3)_3$ в воде. Реакционную смесь нагревают в течение 30 мин при 60°C. Результат реакции контролируют с помощью ОФ-ВЭЖХ и последующей масс-спектрометрии. Для радиоактивного ^{18}F -мечения лигандов $[^{nat}Ga]PSMA-SIFA$, комплексное соединение очищали с помощью ОФ-ВЭЖХ перед реакцией мечения.

^{nat}Ga -PSMA-SIFA1: ВЭЖХ (от 10 до 90% В через 15 мин): t_R составляет 9,1 мин. Рассчитанная моноизотопная масса ($C_{63}H_{99}FGaN_{11}O_{22}Si$): 1477,6 найдено: m/z составляет 1479,5 $[M+H]^+$, 740,2 $[M+2H]^{2+}$.

^{nat}Ga -PSMA-SIFA3: ВЭЖХ (от 10 до 70% В через 15 мин): t_R составляет 10,4 мин. Рассчитанная моноизотопная масса ($C_{63}H_{96}FGaN_{12}O_{25}Si$): 1536,6 найдено: m/z составляет 1539,4 $[M+H]^+$, 770,3 $[M+2H]^{2+}$.

^{nat}Ga -PSMA-SIFA4: ВЭЖХ (от 10 до 70% В через 15 мин): ВЭЖХ (от 10 до 70% В через 15 мин): t_R составляет 10,4 мин. Расчетная моноизотопная масса ($C_{63}H_{96}FGaN_{12}O_{25}Si$): 1536,6 найдено: m/z составляет 1539,1 $[M+H]^+$, 770,5 $[M+2H]^{2+}$.

Комплексообразование ^{nat}Lu : соответствующие комплексы $^{nat}Lu^{III}$ получают из 2 мМ водного раствора ингибитора PSMA с 2,5 молярным избытком $LuCl_3$ (20 мМ раствор), нагревают до 95°C в течение 30 мин. После охлаждения образование $^{nat}Lu^{III}$ -хелата подтверждают с помощью ВЭЖХ и МС. Полученные 1 мМ водные растворы соответствующих комплексов ^{nat}Lu затем разбавляют и применяют в исследованиях IC_{50} in vitro без дальнейшей обработки.

Радиомечение

^{68}Ga -мечение: ^{68}Ga -мечение проводят с применением автоматизированной системы (GallElut⁺ от Scintomics, Германия), как описано ранее (Notni et al., исследование EJNMMI, 28 (2012)). Кратко, генератор $^{68}Ge/^{68}Ga$ с матрицей SnO_2 (IThema LABS) элюируют 1,0 М водной HCl, из которой фракцию (1,25 мл), составляющую приблизительно 80% активности (500-700 МБк), переносят в реакционный флакон (ALLTECH, 5 мл). Перед элюцией реактор загружают 2-5 нмоль соответствующего хелаторного конъюгата в водном 2,7 М растворе HEPES (DOTAGA-конъюгаты: 900 мкл, TRAP-конъюгаты: 400 мкл). После элюирования флакон нагревают в течение 5 мин при 95°C. Очистку проводят путем пропускания реакционной смеси через твердофазный экстракционный картридж (C 8 light, SepPak), который продувают водой (10 мл) и продукт элюируют 50% водным этанолом (2 мл), фосфатно-солевым буфером (PBS, 1 мл) и снова водой (1 мл). После удаления этанола в вакууме, чистоту радиоактивно меченных соединений определяют с помощью радио-ТСХ (хроматографическая бумага ITLC-SG, подвижная фаза: 0,1 М тринатрийцитрат и смесь 1:1 (об./об.) 1 М ацетата аммония и метанола).

^{18}F -мечение: Для осуществления ^{18}F -мечения применяют ранее опубликованный способ (Wängler et al., Nat Protoc 7, 1946-55 (2012)), который немного изменили. Кратко, водный ^{18}F -пропускают через SAX-картридж (Sep-Pak Accell Plus QMA Carbonate light), который предварительно обрабатывают 10 мл воды. После сушки с помощью 10 мл воздуха воду удаляют, промывая картридж 10 мл безводного ацетонитрила, а затем 20 мл воздуха. ^{18}F элюируют 100 мкмоль $[K^+ + 2.2.2]OH^-$, растворенного в 500 мкл безводного ацетонитрила. Перед мечением добавляют 25 мкмоль щавелевой кислоты в безводном ацетонитриле (1 М, 25 мкл). Эту смесь применяют как целое или аликвоту для фторирования 10-25 мкмоль PSMA-SIFA (1 М в безводном ДМСО). Полученную реакционную смесь инкубируют в течение 5 мин при комнатной температуре. Для очистки меченого вещества применяют светлый картридж Sep-Pak C18, предварительно обработанный 10 мл EtOH (этиловый спирт), а затем 10 мл H_2O . Смесь для введения радиоактивной метки разбавляют 9 мл 0,1 М буфера HEPES (рН составляет 3) и пропускают через картридж, а затем 10 мл H_2O . Пептид элюируют 500 мкл смеси 4:1 (об./об.) EtOH в воде. Радиохимическую чистоту меченого соединения определяют ОФ-ВЭЖХ с радиометрическим детектированием и радио-ТСХ (силикагель 60 RP-18 F254s, подвижная фаза: смесь 3:2 (об./об.) MeCN в H_2O с добавлением 10% 2М NaOAc (ацетат натрия) раствора и 1% ТФУ).

^{125}I -мечение: эталонный лиганд для исследований in vitro ($[^{125}I]I$ -ВА)KuE получают в соответствии с ранее опубликованным способом (Weinisen et al., EJNMMI исследование, 4, 63 (2014)). Кратко, 0,1 мг станилированного предшественника ($SnBu_3$ -ВА)(OtBu)KuE(OtBu)₂ растворяют в растворе, содержащем 20 мкл перуксусной кислоты, 5,0 мкл (21 МБк) $[^{125}I]NaI$ (74 ТБк/ммоль, 3,1 ГБк/мл, 40 мМ NaOH, Hartmann Analytic, Брауншвейг, Германия), 20 мкл MeCN (Ацетонитрил) и 10 мкл уксусной кислоты. Реакционный раствор инкубируют в течение 10 мин при комнатной температуре, загружают в картридж и промывают 10 мл воды (картридж C18 Sep Pak Plus, предварительно обработанный 10 мл MeOH (Метанол) и 10 мл воды). После элюирования 2,0 мл смеси 1:1 (об./об.) EtOH/MeCN радиоактивный раствор упаривают досуха в слабом потоке азота и обрабатывают 200 мкл ТФУ в течение 30 мин с последующим выпариванием ТФУ. Неочищенный продукт ($[^{125}I]I$ -ВА)KuE очищают ОФ-ВЭЖХ (от 20 до 40% В в течение 20 мин): t_R составляет 13,0 мин.

^{177}Lu -мечение: к объему реакционной смеси 10 мкл 1,0 М буфера NH_4OAc (Ацетат аммония), рН составляет 5,9, добавляют меченое вещество от 0,75 до 1,0 нмоль (от 7,5 до 10 мкл), от 10 до 40 МБк $^{177}LuCl_3$ (удельная активность (A_S) > 3000 ГБк/мг, 740 МБк/мл, 0,04 М HCl, ITG, Гархинг, Германия) и, наконец, заполняют до 100 мкл водой без меченого вещества (Merck, Дармштадт, Германия). Реакцион-

ную смесь нагревают в течение 30 мин при 95°C и радиохимическую чистоту определяют с применением радио-ТСХ (силикагель 60 RP-18 F_{254S}, смесь 3:2 (об./об.) MeCN в H₂O с добавлением 10% 2 М раствора NaOAc и 1% ТФУ, R_f составляет 0,5).

Эксперименты in vitro

Определение IC₅₀

PSMA-позитивные клетки LNCaP выращивают в среде Игла, модифицированной по Дульбекко/питательной среде F-12 с Glutamax-I (1:1) (Invitrogen), дополненной 10% эмбриональной телячьей сывороткой, и выдерживают при 37°C в увлажненной атмосфере 5% CO₂. Для определения аффинности PSMA (IC₅₀) клетки собирают за 24 ± 2 ч до эксперимента и высевают в 24-луночные планшеты (1,5×10⁵ клеток в 1 мл/лунку). После удаления культуральной среды клетки обрабатывают один раз 500 мкл HBSS (сбалансированный солевой раствор Хэнка, Biochrom, Берлин, Германия, с добавлением 1% бычьего сывороточного альбумина (BSA)) и оставляют на 15 мин на льду для уравнивания в 200 мкл HBSS (1% BSA). Затем добавляют 25 мкл на лунку растворов, содержащих либо HBSS (1% BSA, контроль), либо соответствующий лиганд в возрастающей концентрации (от 10⁻¹⁰ до 10⁻⁴ М в HBSS, с последующим добавлением 25 мкл ([¹²⁵I]-BA)KuE (2,0 нМ) в HBSS (1% BSA)). Все эксперименты проводят по меньшей мере три раза для каждой концентрации. После 60-минутной инкубации на льду эксперимент прекращают путем удаления среды и последующего промывания 200 мкл HBSS. Среды обеих стадий объединяют в одну фракцию и представляли количество свободного радиолиганда. После этого клетки лизируют 250 мкл 1М NaOH и объединяют с 200 мкл HBSS на следующей стадии промывки. Количественную оценку связанного и свободного радиолиганда осуществляют в γ-счетчике.

Интернализация

Для исследований интернализации клетки LNCaP собирают за 24 ± 2 ч до эксперимента и высевают в 24-луночные планшеты (1,25×10⁵ клеток в 1 мл/лунку). После удаления культуральной среды клетки промывают один раз 500 мкл DMEM-F12 (5% BSA) и оставляют для уравнивания в течение по меньшей мере 15 мин при 37°C в 200 мкл DMEM-F12 (5% BSA). Каждую лунку обрабатывают либо 25 мкл либо DMEM-F12 (5% BSA), либо 100 мкМ раствора PMPA для блокады. Затем добавляют 25 мкл ингибитора PSMA, меченного ⁶⁸Ga/18F (5,0 нМ) и клетки инкубируют при 37°C в течение 60 мин. Эксперимент прекращают путем помещения 24-луночного планшета на лед на 3 мин и последующего удаления среды. Каждую лунку промывают 250 мкл HBSS и фракции с этих первых двух стадий объединяют, представляя количество свободного радиолиганда. Удаление поверхностно-связанной активности осуществляют инкубацией клеток с 250 мкл охлажденного льдом раствора PMPA (10 мкМ в PBS) в течение 5 мин и снова промывают еще 250 мкл охлажденного льдом PBS. Интернализованную активность определяют путем инкубации клеток в 250 мкл 1 М NaOH и комбинации с фракцией последующей стадии промывки 250 мкл 1,0 М NaOH. Каждый эксперимент (контроль и блокада) проводят в трех повторах. Свободную, поверхностную и интернализованную активность определяют количественно в γ-счетчике. Все исследования интернализации сопровождались контрольными исследованиями с применением ([¹²⁵I]-BA)KuE (с составляет 0,2 нМ), которые проводят аналогично. Данные были скорректированы с учетом неспецифической интернализации и нормализованы с учетом специфической интернализации, наблюдаемой для радиоактивного йодированного эталонного соединения.

Коэффициент распределения октанол-вода

Приблизительно 1 МБк метки растворяют в 1 мл смеси 1:1 (по объему) фосфатно-солевого буфера (PBS, pH 7,4) и n-октанола в пробирке Эппендорфа. После интенсивного перемешивания суспензии в течение 3 мин при комнатной температуре флакон центрифугируют при 15000 g в течение 3 мин (Biofuge 15, Heraeus Sepatech, Остероде, Германия) и аликвоты по 100 мкл обоих слоев измеряют в счетчике гамма-излучения. Эксперимент повторяют не менее шести раз.

HSA связывание

Для определения связывания HSA применяют колонку Chiralpak HSA (50×3 мм, 5 мкм, H13H-2433) при постоянной скорости потока 0,5 мл/мин. Подвижная фаза (А: NH₄OAc, 50 мМ в воде, pH 7 и В: изопропанол) была свежеприготовленной для каждого эксперимента и ее применяют только в течение одного дня. Колонку хранят при комнатной температуре, и каждый прогон останавливают после обнаружения сигнала, чтобы уменьшить время сбора данных. Все вещества растворяют в концентрации 0,5 мг/мл в 50% 2-пропанол и 50% 50 мМ ацетат-аммонийном буфере со значением pH 6,9. Выбранные эталонные вещества демонстрируют диапазон связывания HSA от 13 до 99%, так как предполагалось широкое разнообразие связывания альбумина с пептидами. Все девять эталонных веществ (см. табл. 1) вводят последовательно для установления нелинейной регрессии с OriginPro 2016G, см. фиг. 1.

Таблица 1. Эталонные вещества (Yamazaki et al., Journal of pharmaceutical sciences 93, 1480-94 (2004)), применяемые для калибровки колонки HSA

Эталон	t_R	Log t_R	Лит. HSA %	Log K HSA
п-бензиловый спирт	2,40	0,38	13,15	минус 0,82
Анилин	2,72	0,43	14,06	минус 0,79
Фенол	3,28	0,52	20,69	минус 0,59
Бензойная кислота	4,08	0,61	34,27	минус 0,29
Карбамазепин	4,15	0,62	75,00	0,46
п-нитрофенол	5,62	0,75	77,65	0,52
Эстрадиол	8,15	0,91	94,81	1,19
Пробенецид	8,84	0,95	95,00	1,20
Глибенкламид	29,18	1,47	99,00	1,69

Время удержания показано в качестве примера для проведенного эксперимента, t_R время удержания, Лит. HSA литературное значение связывания человеческого сывороточного альбумина в [%], Log K HSA логарифмический K связывания человеческого сывороточного альбумина.

Эксперименты in vivo

Все эксперименты на животных проводят в соответствии с общими правилами содержания животных в Германии и правилами, принятыми в учреждении по уходу и применению животных. Для установления опухолевых ксенотрансплантатов, клетки LNCaP (10^7 клеток/200 мкл) суспендируют в смеси 1:1 (об./об.) среды Игла, модифицированной по Дульбекко/питательной смеси F-12 с Glutamax-I (1:1) и Matrigel (BD Biosciences, Германия) и инокулируют подкожно в правое плечо мышам CB17-SCID в возрасте 6-8 недель (Charles River, Зульцфельд, Germany). Мышей применяют для случаев, когда опухоли выросли до диаметра 5-8 мм (через 3-4 недели после инокуляции).

Изображение μ ПЭТ

Визуальные исследования проводят на ПЭТ-системе для мелких животных Siemens Inveon. Данные были реконструированы как отдельные кадры с применением алгоритма трехмерно-упорядоченного максимума ожидаемого подмножества (OSEM3D) с последующим анализом данных (количественная оценка на основе ROI) с применением программного обеспечения Inveon Research Workplace. Для исследования ПЭТ, мышей анестезируют изофлураном и вводят от 0,15 до 0,25 нмоль (2-20 МБк) вещества, меченного ^{68}Ga или ^{18}F в хвостовую вену. Динамическое изображение было выполнено после инъекции на постели в течение 90 мин. Статические изображения были записаны через час после инъекции с временем получения 15 мин. Для блокады вводят 8 мг/кг РМРА непосредственно перед инъекцией метки.

Биораспределение

Приблизительно от 2 до 20 МБк (0,2 нмоль) ингибиторов PSMA, меченных ^{68}Ga или ^{18}F , инъецируют в хвостовую вену самцов мышей линии SCID CB-17, несущих опухоль LNCaP, и умерщвляют через 1 ч после инъекции (n составляет 3). Отобранные органы удаляют, взвешивают и измеряли в γ -счетчике.

В экспериментах на людях.

Экспериментальная проверка концепции действия у людей была проведена в рамках благотворительно-испытательного использования. Агент применяют в соответствии с Законодательством Германии о лекарственных средствах, AMG §13 2b, и в соответствии с ответственным регулирующим органом (правительство Обербайерна).

Все объекты исследуют на сканере Biograph mCT (Siemens Medical Solutions, Эрланген, Германия) или сканере Biograph mMR (Siemens Medical Solutions, Эрланген, Германия). Все ПЭТ-сканы были получены в пространственном режиме с временем получения 2-4 мин на положение. Данные о выбросах были скорректированы по случайностям, мертвому времени, разбросу и затуханию и итерационно восстановлены с помощью алгоритма максимизации ожидания упорядоченных подмножеств (четыре итерации, восемь подмножеств) с последующим сглаживающим фильтром Гаусса после реконструкции (полная ширина 5 мм на половине максимум). Изображения у 53 пациентов с раком предстательной железы были получены после введения в среднем 324 (диапазон от 236 до 424) МБк PSQ-SIFA3 (7), меченного ^{18}F , в среднем через 84 (диапазон от 42 до 166) мин после инъекции. 47 субъектов прошли визуализацию на ПЭТ/КТ (Позитронно-эмиссионная томография/компьютерная томография), 6 субъектов на ПЭТ/МР (Позитронно-эмиссионная томография/магнитно-резонансная томография) сканере. У 33 субъектов фуросемид применяют во время инъекции метки, 20 пациентам фуросемид не вводят.

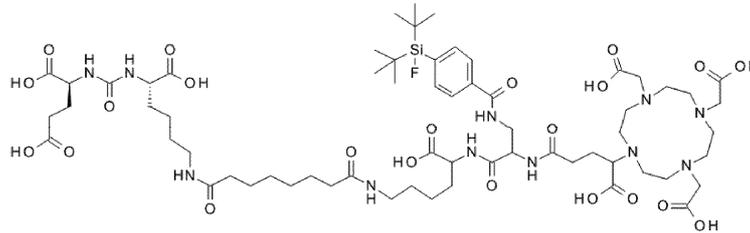
Анализируют среднее и максимальное стандартизированные значения накопления ($SUV_{\text{сред}}/SUV_{\text{макс}}$) околоушных желез, поднижнечелюстных желез, легких, медиастинального пула крови, печени, селезенки, головки поджелудочной железы, двенадцатиперстной кишки, почек, мочевого пузыря и не пораженной болезнью кости. Для расчета SUV циклические области интереса рисуют вокруг областей с очаговым повышенным поглощением в трансаксиальных срезах и автоматически адаптированы к пространственному исследуемому объему (VOI) при 50% изоконтур. Подсчитывают повреждения, которые визуально рассматриваются как свидетельство рецидивов или метастазов рака предстательной

железы. Одно или два поражения одного и того же типа (локальная опухоль, метастазы в лимфатических узлах, метастазы в кости, метастазы во внутренние органы) анализируют на пациенте с применением SUV_{макс} и SUV_{сред}, как описано выше. В качестве фона использовали ягодичную мышцу.

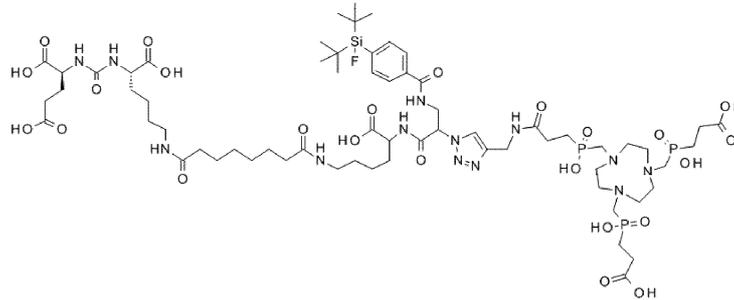
Пример 2. Результаты

Обзор полученных лигандов PSMA-SIFA

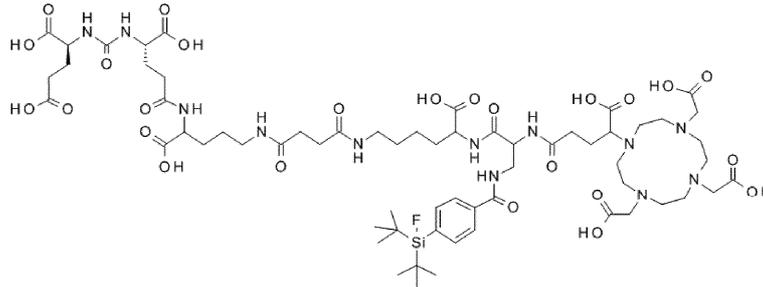
PSMA-SIFA1 (5)



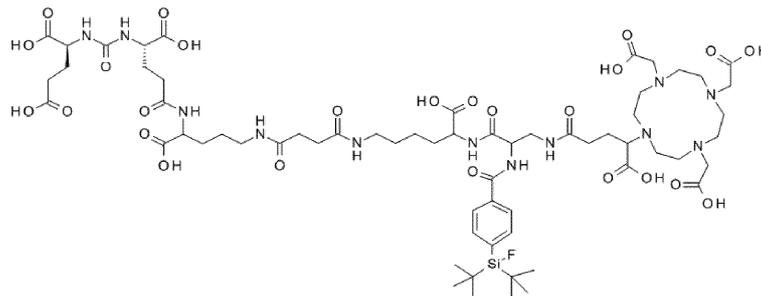
PSMA-SIFA2 (6)



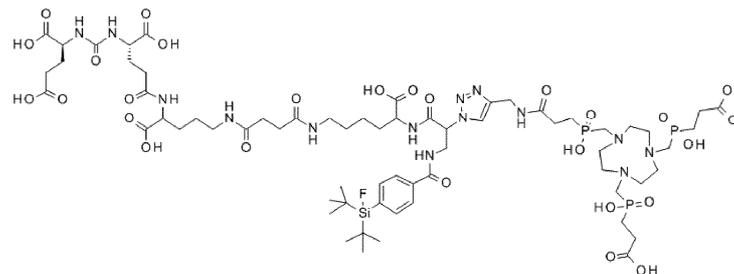
PSMA-SIFA3 (7)



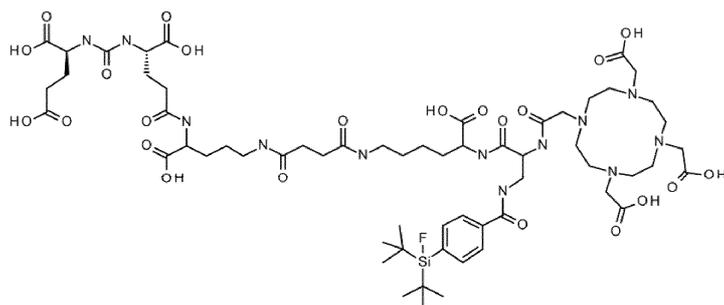
PSMA-SIFA4 (8)



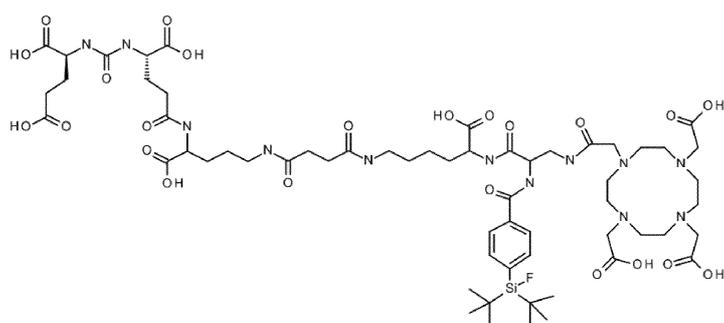
PSMA-SIFA5 (9)



PSMA-SIFA 10



PSMA-SIFA 11



Липофильность

Определенные коэффициенты распределения октанол/вода ($\log D$) для соединений, меченных ^{68}Ga или ^{18}F , представлены в табл. 2. В пределах ингибиторов на основе EuK, меченных ^{68}Ga , обнаружили, что TRAP-функционализированное соединение (5) является более гидрофильным, чем 6, где DOTAGA был использован в качестве хелатора. Этот результат был также показан для агентов на основе EuE, меченных ^{68}Ga , где TRAP-производное (9) показало наибольшую липофильность. Все соединения, меченые ^{18}F показали более низкую гидрофильность по сравнению с веществами, меченными ^{68}Ga .

Таблица 2. Значения $\log D$ полученных радиоактивно меченных лигандов PSMA-SIFA (n составляет 6)

Лиганд	$\log D$ ^{68}Ga - ^{nat}F -L	$\log D$ ^{18}F -L	$\log D$ ^{177}Lu - ^{nat}F -L
5	минус 2,75 ± 0,07	Не обнаружено	
6	минус 3,00 ± 0,09	Не обнаружено	
7	минус 3,18 ± 0,05	минус 1,98 ± 0,04	минус 4,20 ± 0,09
8	минус 2,59 ± 0,04	минус 2,25 ± 0,07	минус 3,75 ± 0,06
9	минус 3,26 ± 0,06	минус 2,23 ± 0,07	
10			минус 3,59 ± 0,05
11			минус 3,62 ± 0,06

Определение аффинности PSMA

Полученные соединения, несущие EuE-связующий мотив (7, 8, 9), показали более высокую аффинность к PSMA по сравнению с агентами на основе EuK (5, 6). Соединения с TRAP-хелатором (6 и 9) показали слегка сниженную аффинность по сравнению с их аналогами DOTAGA (5 и 7 соответственно). Между комплексообразующими агентами ^{nat}Ga , и соответствующим некомплексообразующим соединением не наблюдают существенных различий в отношении аффинности к PSMA (табл. 3).

Таблица 3.

Аффинность связывания (IC_{50} в нМ) лигандов PSMA-SIFA с PSMA. Аффинность определяют, с применением клеток LNCaP (150000 клеток/лунку) и ($[^{125}I]$ -BA)KuE (с составляет 0,2 нМ) в качестве радиолиганда (1 ч, 4°C, HBSS + 1% BSA). Данные выражены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение (n составляет 3 в 3 различных экспериментах).

Эталон:	(I-BA)KuE	$IC_{50} = 7,1 \pm 2,4$ нМ	
	DCFpYL	$IC_{50} = 12,3 \pm 1,2$ нМ	
	PSMA-1007	$IC_{50} = 4,2 \pm 0,5$ нМ	
Лиганд	IC_{50} [нМ] $^{nat}Ga-^{nat}F-L$	IC_{50} [нМ] $^{nat}F-L$	IC_{50} [нМ] $^{nat}Lu-^{nat}F-L$
5	$7,3 \pm 0,2$	$6,4 \pm 0,2$	
6	$10,8 \pm 2,5$	$8,5 \pm 1,7$	
7	$3,0 \pm 0,7$	$3,5 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,5$
8	$3,8 \pm 0,7$	$2,5 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,2$
9	$4,5 \pm 0,3$	$4,3 \pm 0,2$	
10			$2,8 \pm 0,7$
11			$4,8 \pm 0,7$

Интернализация

По аналогии с аффинностью связывания, соединения на основе EuE (7, 8, 9) показали значительно более высокие значения интернализации по сравнению с пептидами, несущими EuK-связывающий мотив (5, 6). Что касается влияния хелатора, TRAP показал положительный эффект на интернализацию (5 и 9 по сравнению с 6 и 7 соответственно), хотя аффинность связывания была более высокой для аналогов

DOTAGA (табл. 3). Все соединения, меченные ^{18}F показали более высокие значения интернализации по сравнению с соответствующими метками, меченными ^{68}Ga (табл. 4).

Таблица 4.

Суммарная интернализованная активность (с составляет 0,5 нМ) в течение 1 ч в виде % от эталонного лиганда ($[^{125}I]$ -BA)KuE (с составляет 0,2 нМ), определенная на клетках LNCaP (37°C, DMEM F12 + 5% BSA, 125000 клеток/лунку). Данные корректируют на неспецифическое связывание (10 мкмоль РМРА) и выражали как среднее значение \pm стандартное отклонение (n составляет 3).

Эталон:	DCFpYL	118 ± 5	
	PSMA-1007	118 ± 4	
[%]			
Лиганд	Интернализация [%] $^{68}Ga-^{nat}F-L$	Интернализация [%] $^{18}F-L$	Интернализация [%] $^{177}Lu-^{nat}F-L$
5	$33,0 \pm 2,1$	Не обнаружено	
6	$43,0 \pm 3,4$	Не обнаружено	
7	$126,0 \pm 13,1$	$164,8 \pm 4,5$	$185,8 \pm 4,5$
8	$98,2 \pm 12,4$	$130,3 \pm 5,5$	$165,9 \pm 8,5$
9	$176,9 \pm 11,7$	$211,6 \pm 5,3$	
10			$184,1 \pm 16$
11			$134,5 \pm 18,5$

Связывание человеческого сывороточного альбумина

Таблица 5. HSA связывание полученных лигандов PSMA-SIFA, определенное на колонке Chiralpak HSA (50×3 мм, 5 мкм, H13H-2433)

Лиганд	HSA связывание [%]	
	$^{nat}\text{Ga-}^{nat}\text{F-L}$	$^{nat}\text{Lu-}^{nat}\text{F-L}$
7	95,7	97,7
8	96,5	97,7
9	95,1	
10		94,0
11		92,4

ПЭТ-визуализация и биораспределение у мелких животных

1. [^{68}Ga][^{nat}F]PSMA-SIFA1 ($^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F-5}$)
см. фиг. 2.
2. [^{68}Ga][^{nat}F]PSMA-SIFA2 ($^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F-6}$)
см. фиг. 3.
3. PSMA-SIFA3 (7)
 - a) статическое изображение ^{68}Ga -ПЭТ
см. фиг. 4;
 - b) динамическое изображение ^{68}Ga -ПЭТ
см. фиг. 5;
 - c) статическое изображение ^{18}F -ПЭТ
см. фиг. 6;
 - d) динамическое изображение ^{18}F -ПЭТ
см. фиг. 7;
 - e) исследования биораспределения
см. фиг. 8.
4. PSMA-SIFA4 (8)
 - a) статическое изображение ^{68}Ga -ПЭТ
см. фиг. 9;
 - b) динамическое изображение ^{68}Ga -ПЭТ
см. фиг. 10;
 - c) статическое изображение ^{18}F -ПЭТ
см. фиг. 11;
 - d) динамическое изображение ^{18}F -ПЭТ см. фиг. 12;
 - e) исследования биораспределения
см. фиг. 13.
5. PSMA-SIFA5 (9)
 - a) статическое изображение ^{68}Ga -ПЭТ
см. фиг. 14;
 - b) динамическое изображение ^{68}Ga -ПЭТ
см. фиг. 15;
 - c) статическое изображение ^{18}F -ПЭТ
см. фиг. 16;
 - d) статическое изображение ^{18}F -ПЭТ
см. фиг. 17;
 - e) исследования биораспределения
см. фиг. 18.
6. Доказательство экспериментальной проверки концепции ^{nat}Ga -PSMA-SIFA3 ($^{nat}\text{Ga-7}$)
 - a) статическое изображение ^{18}F -ПЭТ
см. фиг. 19;
 - b) исследования биораспределения
см. фиг. 20.
7. Изображение ПЭТ мелких животных с применением лигандов лютения-rhPSMA
 - a) статическое ПЭТ изображение: $^{18}\text{F-}^{nat}\text{Lu-rh-7}$
см. фиг. 29;
 - b) динамическое ПЭТ изображение: $^{18}\text{F-}^{nat}\text{Lu-rh7}$
см. фиг. 30;
 - c) исследования биораспределения $^{177}\text{Lu-}^{nat}\text{F-7}$, $^{177}\text{Lu-}^{nat}\text{F-8}$ и $^{177}\text{Lu-}^{nat}\text{F-10}$ через 24 ч

см. фиг. 31;

d) биораспределение $^{177}\text{Lu-natF-10}$ через 1 и 24 ч

см. фиг. 32;

e) сравнительное биораспределение установленных и новых rhPSMA-лигандов через 24 ч

см. фиг. 33;

f) сравнительное биораспределение $^{177}\text{Lu-natF-rhPSMA-10}$ и $^{68}\text{Ga-natF-rhPSMA-10}$ в течение 1 ч

см. фиг. 34.

Биораспределение и поглощение PSMA-SIFA3 (7) при опухолевых поражениях человека

Никаких побочных эффектов или клинически обнаруживаемых фармакологических эффектов отмечено не было.

Фиг. 21 демонстрирует проекцию максимальной интенсивности (MIR) от ПЭТ субъекта с нормальным биораспределением (опухолевые поражения не обнаружены). Изображения получены через 76 мин после введения 272 МБк PSMA-SIFA3 (7), меченного ^{18}F . На фиг. 21 справа показана проекция максимальной интенсивности (MIP) от ПЭТ субъекта с умеренно распространенным заболеванием, демонстрирующим множественные опухолевые поражения с высоким отношением поражения к фону. Изображения были получены через 102 мин после введения 312 МБк PSMA-SIFA3 (7), меченного ^{18}F .

Параметры поглощения отражают фоновую экспрессию PSMA для разных типов тканей. Значительное поглощение радиоактивной метки выявлено только для слюнных желез, почек, печени, селезенки и двенадцатиперстной кишки. Поглощение в фоновой ткани было низким. Поглощение при опухолевом поражении было значительно выше, чем в ткани с низкой экспрессией PSMA.

Таблица 6.

Среднее SUV_{макс} (слева) и SUV_{сред} (справа) в разных тканях (ткани/органы: n составляет 53, опухолевые поражения: n составляет 72) со стандартной ошибкой. См. фиг. 22 для графического представления.

	Среднее SUV _{макс}	минимум	максимум	Среднее SUV _{сред}	минимум	максимум
Фон	1,0	0,6	1,9	0,6	0,4	1,2
Пул крови	2,4	1,6	3,9	2,0	1,1	17,0
Околоушная железа	23,5	8,2	42,3	16,8	5,5	32,7
Подчелюстная железа	26,7	10,1	43,8	19,6	7,0	29,7
Легкие	1,0	0,5	3,1	0,7	0,3	2,0
Печень	9,5	4,5	25,2	7,0	3,2	17,7
Селезенка	11,8	4,7	21	9,1	3,4	17,1
Поджелудочная железа	3,9	1,8	9,2	2,7	1,3	7,4
Двенадцатиперстная кишка	14,2	2,8	32,7	10,5	1,9	23,9
Кость	1,7	0,8	3,1	1,1	0,6	2,1
Почка	44,3	19,1	75,2	32,1	13,2	54,7
Мочевой пузырь	8,3	0,5	112,0	6,1	0,3	85,7
Опухолевые поражения	26,6	4,0	95,4	19,2	2,7	71,7

Из-за низкого отношения фоновой активности SUV к фону органов и опухолевых поражений, он благоприятен для клинической визуализации. Повреждения опухоли отображаются с высокой контрастностью по сравнению с фоном.

Таблица 7.

Среднее отношение SUV_{макс} (слева) и SUV_{сред} (справа) со стандартной ошибкой в различных тканях (ткани/органы: n составляет 53, опухолевые поражения: n составляет 72) со стандартной ошибкой. См. фиг. 23 для графического представления.

	Отношение SUV _{макс} к фону			Отношение SUV _{сред} к фону		
	Среднее	минимум	максимум	Среднее	минимум	максимум
Пул крови	2,5	1,3	4,8	3,1	1,5	21,3
Околоушная железа	24,3	8,2	45,3	27,5	9,2	54,5
Подчелюстная железа	27,8	10,1	54,7	32,5	11,7	61,8
Легкие	1,1	0,4	3,3	1,1	0,4	4,0
Печень	10,1	2,9	42,0	11,7	3,7	44,3
Селезенка	12,3	4,7	35,0	14,9	5,7	39,5
Поджелудочная железа	4,0	1,5	11,3	4,3	1,9	10,8
Двенадцатиперстная кишка	14,8	2,8	31,3	17,3	3,2	35,3
Кость	1,7	0,9	2,9	1,8	1,0	3,2
Почка	46,7	16,9	98,7	53,8	19,8	109,3
Мочевой пузырь	8,3	0,6	112,0	9,8	0,5	142,8
Опухолевые поражения	28,6	5,0	83,4	31,9	5,4	83,2

Поглощение опухолевых поражений и контрастность по отношению к фону были относительно одинаковыми между различными типами опухолей (локальная опухоль [n составляет 24], метастазы в лимфатических узлах [n составляет 23], метастазы в кости [n составляет 21], метастазы во внутренние органы [n составляет 4]).

Таблица 8.

Среднее SUV_{макс}, SUV_{сред}, отношение SUV_{макс} к фону и отношение SUV_{сред} к фону при различных типах опухолей со стандартной ошибкой. См. фиг. 24 для графического представления.

Локальная опухоль		SUV _{макс}	Отношение SUV _{макс}	SUV _{сред}	Отношение SUV _{сред}
	Среднее	26,9	29,6	19,3	32,4
	минимум	4	5	2,7	5,4
	максимум	75,1	83,4	19,3	83,2
Метастазы в лимфатических узлах		SUV _{макс}	Отношение SUV _{макс}	SUV _{сред}	Отношение SUV _{сред}
	Среднее	22,2	23,7	16,6	27,3
	минимум	8,1	5,8	6,4	7,1
	максимум	67,5	63,6	44,6	70,7
Метастазы в кости		SUV _{макс}	Отношение SUV _{макс}	SUV _{сред}	Отношение SUV _{сред}
	Среднее	31,2	32,8	22,2	36,6
	минимум	7,9	7,9	5,3	8,8
	максимум	95,4	73,4	71,7	80
Метастазы во внутренние органы		SUV _{макс}	Отношение SUV _{макс}	SUV _{сред}	Отношение SUV _{сред}
	Среднее	26,1	28,9	17,4	30,2
	минимум	20,4	18,5	15,5	22,1
	максимум	32,5	40,6	19,1	38,2

Задержка метки PSMA-SiFA3 (7) у человека в мочевом пузыре

Задержка метки в выделительной мочевой системе является общим недостатком визуализации лиганда PSMA. PSF-SiFA3 (7), меченного ¹⁸F, в качестве потенциального соединения-прототипа, ПЭТ агент, меченный ⁶⁸Ga, SiFA замещенный, на основе хелатора, выводится через выделительную мочевую систему, но в гораздо меньшей степени, чем большинство других агентов ПЭТ. Кроме того, на его за-

держку в мочевом пузыре может значительно влиять применение фуросемида во время инъекции метки. Т-тест 8 показал статистически значимо более низкую задержку метки при применении фуросемида (р составляет 0,018 как для SUV_{макс}, так и для SUV_{сред}).

Таблица 9.

Среднее SUV_{макс} (слева) и SUV_{сред} (справа) задержки метки в мочевом пузыре у субъектов с и без введения фуросемида со стандартной ошибкой. См. фиг. 25 для графического представления.

	SUV _{макс}			SUV _{сред}		
	Среднее	минимум	максимум	Среднее	минимум	максимум
С фуросемидом	4,8	1,6	32	3,4	1,1	26,6
Без фуросемида	13,9	0,5	112	10,5	0,3	85,7

Клинические результаты для выявления PSMA-SiFA3 (7) опухолевых очагов и гистопатологическое подтверждение

Субъекты визуализируют по первичной стадии (n составляет 6) и рецидивирующему заболеванию (n составляет 47). Поражения, характерные для рака предстательной железы, были обнаружены у 39 пациентов. Были проанализированы 72 поражения. 21 из 72 поражений не имели корреляции на морфологическом изображении. 14 из 72 измеренных поражений имели размер равный или менее 5 мм на морфологическом изображении. Оба демонстрируют высокую клиническую ценность PSMA-SiFA3 (7), меченого ¹⁸F для выявления повреждений, которые в противном случае скрыты при морфологической визуализации. Параметры поглощения 35 поражений без корреляции или малого размера при морфологической визуализации показали благоприятные параметры поглощения.

Таблица 10. Среднее SUV_{макс}, SUV_{сред}, отношение SUV_{макс} к фону и отношение SUV_{сред} к фону при опухолях рака предстательной железы со стандартной ошибкой

	SUV _{макс}	Отношение SUV _{макс}	SUV _{сред}	Отношение SUV _{сред}
Среднее	16,7	18,3	13,3	22,9
минимум	9,2	5,8	6,4	7,1
максимум	25	43,8	28,3	56,6

Примеры визуализации показывают благоприятные характеристики. Показаны как небольшие субсантиметровые поражения, так и диффузное метастатическое заболевание с участием различных типов тканей.

На фиг. 26 показаны: MIR (A) и трансаксиальные изображения (B-D) пациента 70 лет с биохимическим рецидивом через 1,5 года после радикального удаления предстательной железы (Gleason 8, pT2c, pN1). Присутствует единичное типичное поражение рака предстательной железы диаметром 5 мм с правой стороны таза с высоким поглощением PSMA-SiFA3 (7), меченого ¹⁸F. Злокачественная природа поражения была подтверждена гистопатологией.

На фиг. 27 показаны: набор изображений пациента 80 лет с прогрессирующим кастрационно-резистентным раком предстательной железы (PSA 66,4 нг/мл).

Изображения показывают высокое поглощение PSMA-SiFA3 (7), меченого ¹⁸F, в различных классах поражений рака предстательной железы (локальная опухоль, метастазы в лимфатических узлах, метастазы в кости, метастазы в печени). Показанные поражения находятся в пределах 2 мм (стрелки указывают на характерные, а не на все опухолевые очаги).

Клиническое применение PSMA-SiFA3 (7), меченого ⁶⁸Ga

В качестве экспериментальной проверки концепции действия ПЭТ метки, меченой ⁶⁸Ga, SiFA замещенной, на основе хелатора, одного субъекта с биохимическим рецидивом после радикального удаления предстательной железы (PSA 0,44 нг/мл, pT2c, pNO, Gleason 7b) подвергают ПЭТ/МР через 66 мин после введения 144 МБк PSMA-SiFA3 (7), меченого ⁶⁸Ga. Поглощение, типичное для рецидивирующего рака предстательной железы, продемонстрировано в лимфатическом узле 2 мм.

На фиг. 28 показано доказательство экспериментальной проверки концепции действия ПЭТ метки, меченой ⁶⁸Ga, SiFA замещенной, на основе хелатора, меченой ⁶⁸Ga.

Исследования PSMA-SiFA3 (7) человека

1. Распределение и поглощение при опухолевых поражениях.

(a) Максимальная интенсивность проекции ПЭТ субъекта с нормальным биораспределением.

См. фиг. 21.

(b) Средние стандартизированные значения поглощения в разных тканях.

См. фиг. 22.

(c) Среднее соотношение стандартизированных значений поглощения в разных тканях.

См. фиг. 23.

(d) Средние стандартизированные значения поглощения при различных типах опухолей.

См. фиг. 24.

2. Задержка метки в мочевом пузыре.

(a) Средние стандартизированные значения поглощения задержки метки в мочевом пузыре.

См. фиг. 25.

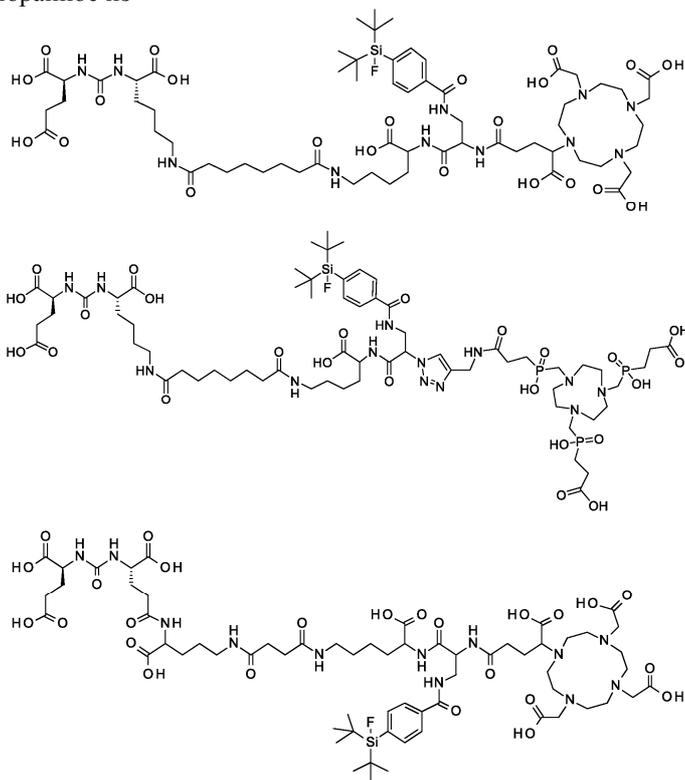
3. Клинические результаты для выявления опухолевых поражений и гистопатологического подтверждения.

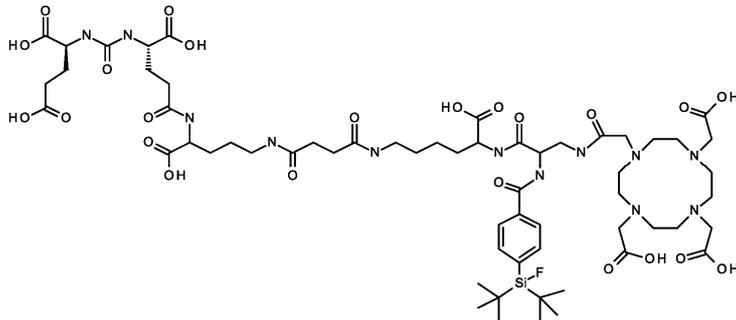
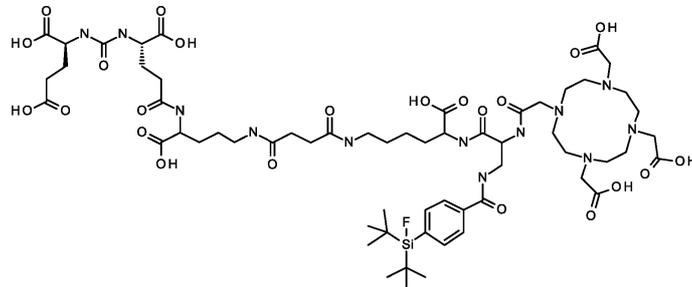
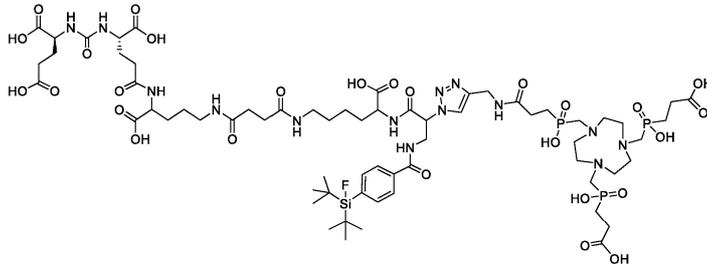
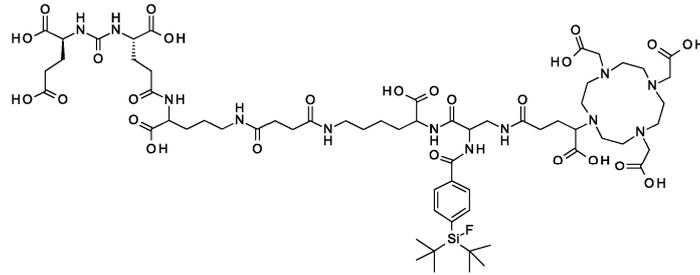
См. фиг. 26 и 27.

4. Клиническое применение меченного ^{68}Ga PSMA-SIFA3 (7). См. фиг. 28.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

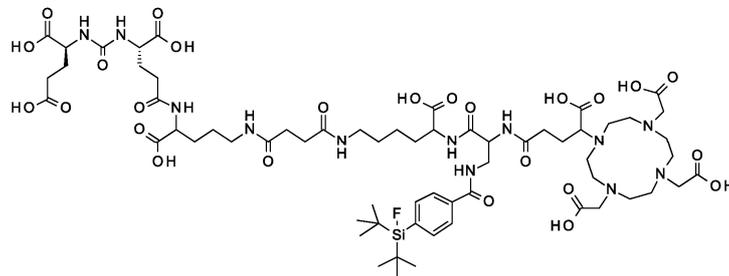
1. Соединение, выбранное из





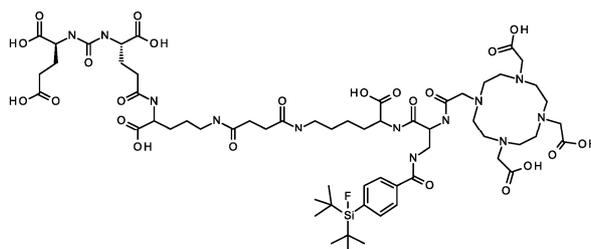
и их фармацевтически приемлемых солей и отдельных изомеров, необязательно содержащих хелатированный нерадиоактивный или радиоактивный катион, и где атом фтора необязательно представляет собой ^{18}F .

2. Соединение по п.1, представляющее собой



или его фармацевтически приемлемую соль или отдельный изомер, необязательно содержащие хелатированный нерадиоактивный или радиоактивный катион, и где атом фтора необязательно представляет собой ^{18}F .

3. Соединение по п.1, представляющее собой



или его фармацевтически приемлемую соль или отдельный изомер, необязательно содержащие хелатированный нерадиоактивный или радиоактивный катион, и где атом фтора необязательно представляет собой ^{18}F .

4. Соединение по любому из пп.1-3, где атом фтора представляет собой ^{18}F .

5. Соединение по любому из пп.1-4, содержащее хелатированный нерадиоактивный или радиоактивный катион.

6. Соединение по п.1, где хелатированный катион выбран из катионов ^{43}Sc , ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{90}Y , ^{111}In , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{161}Tb , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{225}Ac и ^{227}Th или катионной молекулы, содержащей ^{18}F .

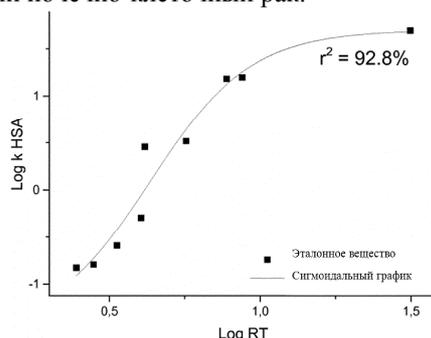
7. Фармацевтическая или диагностическая композиция, содержащая или состоящая из одного или более соединений по любому из пп.1-6.

8. Композиция по п.7 для диагностики или визуализации рака.

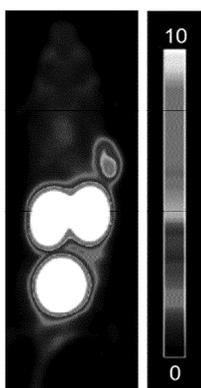
9. Композиция по п.7 для лечения рака.

10. Композиция по п.7 для диагностики, визуализации или предотвращения неоангиогенеза/ангиогенеза.

11. Композиция по п.8 или 9, где рак представляет собой рак предстательной железы, молочной железы, легкого, колоректальный или почечно-клеточный рак.

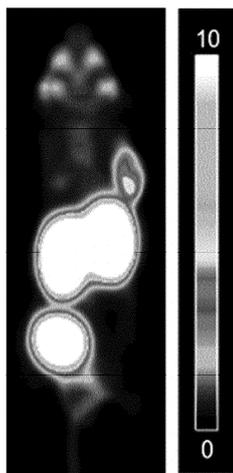


Фиг. 1



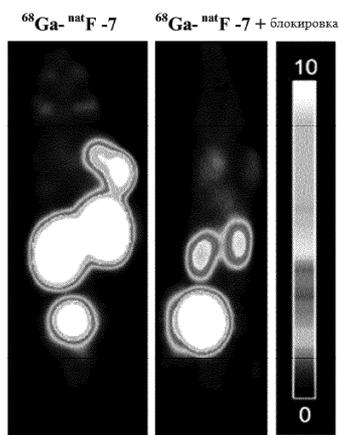
Орган	% В.Д.мл
Опухоль	4,8 ± 1,3
Спленные железы	1,4 ± 0,17
Мозги	0,58 ± 0,01
Почки	35,4 ± 7,9
Сердце	1,5 ± 0,11
Печень	1,4 ± 0,12

Фиг. 2



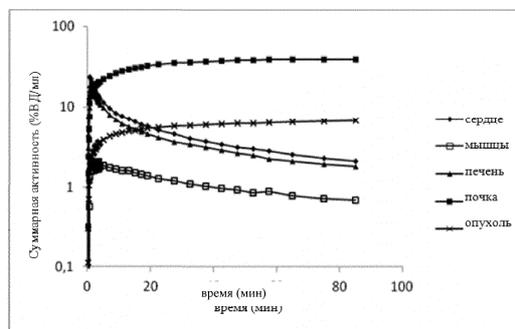
Орган	% ВДмл
Опухоль	4,0 ± 0,18
Слюнные железы	2,1 ± 0,25
Мышцы	0,57 ± 0,07
Почка	46,2 ± 6,1
Сердце	1,4 ± 0,29
Печень	1,3 ± 0,27

Фиг. 3

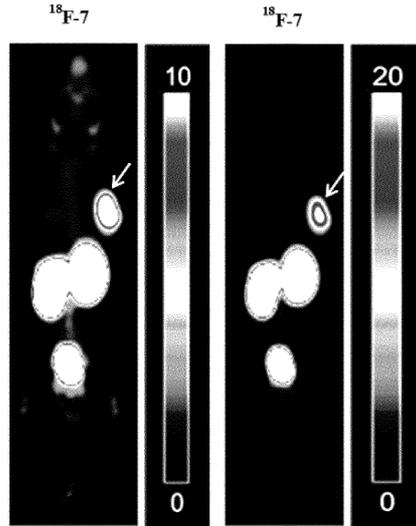


Орган	% ВДмл
Опухоль	8,3 ± 2,3
Слюнные железы	0,89 ± 0,12
Мышцы	0,29 ± 0,03
Почка	40,7 ± 2,3
Сердце	0,77 ± 0,05
Печень	0,64 ± 0,02

Фиг. 4

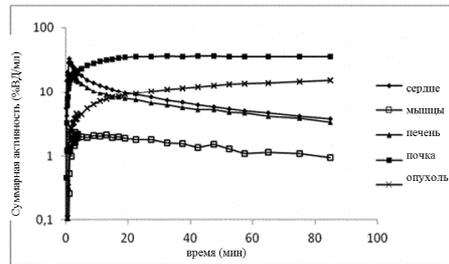


Фиг. 5

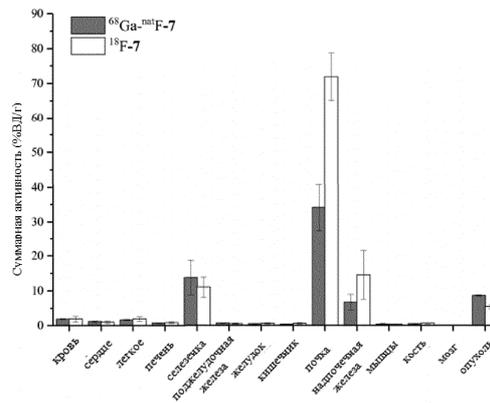


Орган	% ВД/мл
Опухоль	11,0 ± 4,1
Слюнные железы	2,0 ± 1,4
Мышцы	0,68 ± 0,05
Почка	46,3 ± 13,1
Сердце	1,6 ± 0,17
Печень	1,3 ± 0,17

Фиг. 6

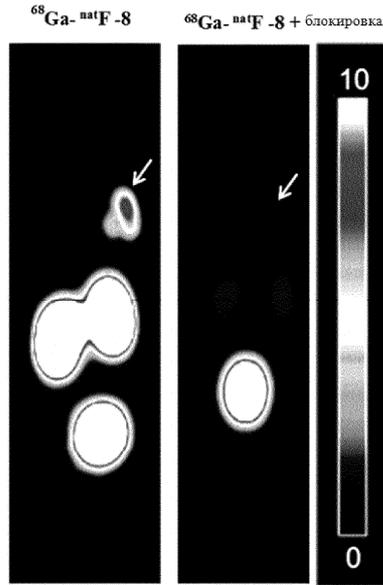


Фиг. 7



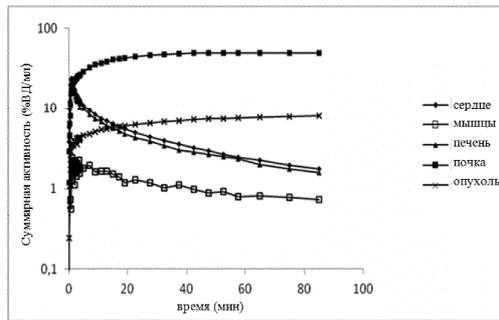
	⁶⁸ Ga- ²⁰¹ F-7	¹⁸ F-7
Кровь	1,9 ± 0,14	1,9 ± 0,81
Сердце	1,2 ± 0,27	1,0 ± 0,40
Легкое	1,7 ± 0,16	2,0 ± 0,68
Печень	0,77 ± 0,10	0,91 ± 0,21
Селезенка	13,8 ± 5,0	11,0 ± 2,9
Поджелудочная железа	0,71 ± 0,11	0,55 ± 0,18
Желудок	0,51 ± 0,07	0,66 ± 0,18
Кишечник	0,43 ± 0,07	0,67 ± 0,23
Почки	34,1 ± 6,6	71,9 ± 6,8
Надпочечная железа	6,7 ± 2,2	14,6 ± 7,0
Мышцы	0,42 ± 0,22	0,37 ± 0,14
Кость	0,52 ± 0,11	0,70 ± 0,14
Мозг	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,02
Опухоль	8,6 ± 0,20	5,5 ± 0,56

Фиг. 8

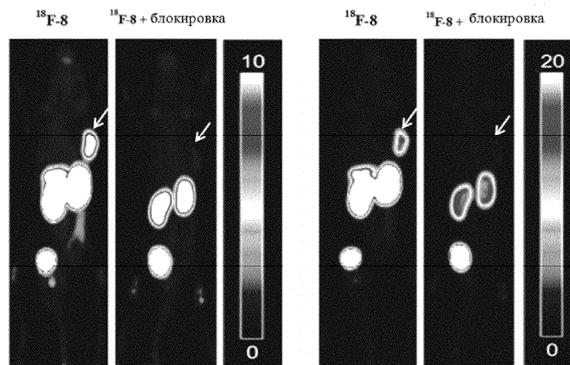


Орган	% ВД/мл
Опухоль	5,3 ± 0,45
Слюнные железы	0,96 ± 0,15
Мышцы	0,26 ± 0,02
Почка	23,5 ± 5,4
Сердце	0,82 ± 0,12
Печень	0,54 ± 0,05

Фиг. 9

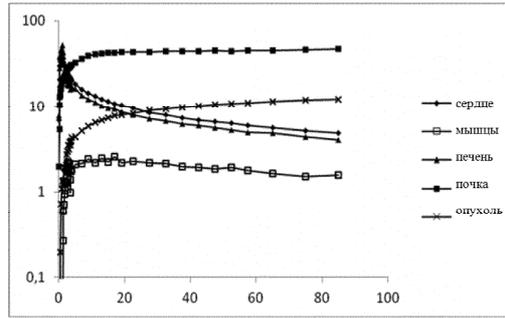


Фиг. 10

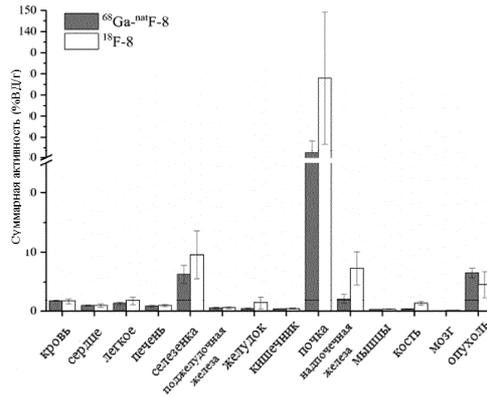


Орган	% ВД/мл
Опухоль	11,2 ± 3,3
Слюнные железы	2,0 ± 0,37
Мышцы	0,59 ± 0,06
Почка	46,2 ± 7,7
Сердце	1,7 ± 0,33
Печень	1,5 ± 0,24

Фиг. 11

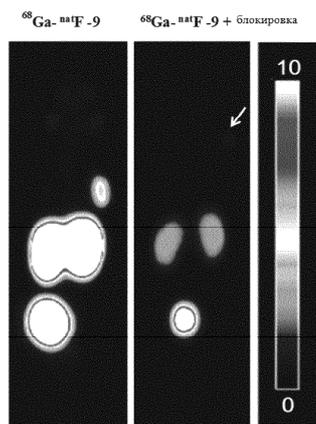


Фиг. 12



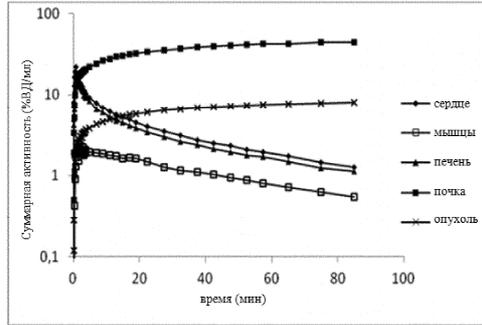
	$^{68}\text{Ga-natF-8}$	$^{18}\text{F-8}$
Кровь	1,7 ± 0,09	1,7 ± 0,48
Сердце	0,93 ± 0,08	0,92 ± 0,27
Легкое	1,3 ± 0,23	1,8 ± 0,70
Печень	0,79 ± 0,17	0,93 ± 0,17
Селезенка	6,3 ± 1,5	9,6 ± 4,0
Поджелудочная железа	0,48 ± 0,11	0,55 ± 0,14
Желудок	0,42 ± 0,11	1,4 ± 1,1
Кишечник	0,35 ± 0,01	0,42 ± 0,10
Почки	82,3 ± 5,9	118 ± 31,2
Надпочечная железа	2,2 ± 0,82	7,3 ± 2,8
Мышцы	0,24 ± 0,02	0,30 ± 0,06
Кость	0,32 ± 0,07	1,3 ± 0,31
Мозг	0,06 ± 0,003	0,07 ± 0,01
Опухоль	6,5 ± 0,84	4,6 ± 2,2

Фиг. 13

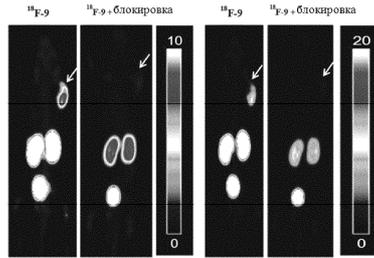


Орган	% ВДмл
Опухоль	4,1 ± 0,34
Слюнные железы	1,1 ± 0,11
Мышцы	0,27 ± 0,09
Печень	43,8 ± 2,6
Сердце	0,63 ± 0,25
Печень	0,49 ± 0,07

Фиг. 14

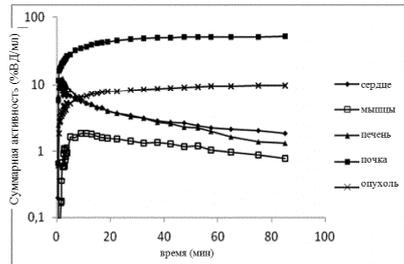


Фиг. 15

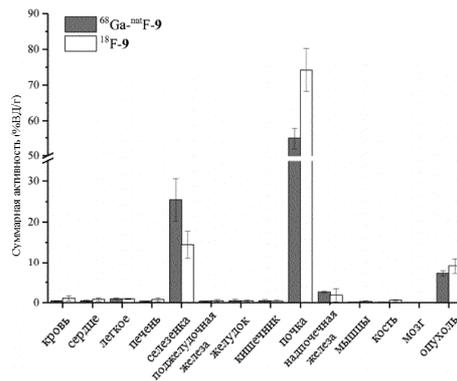


Орган	% ВД/мл
Опухоль	6,9 ± 0,34
Слюнные железы	1,5 ± 0,20
Мышцы	0,56 ± 0,12
Почка	40,3 ± 7,4
Сердце	1,1 ± 0,41
Печень	1,0 ± 0,40

Фиг. 16

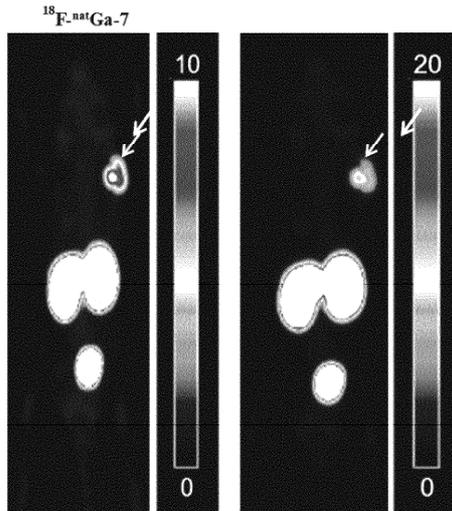


Фиг. 17



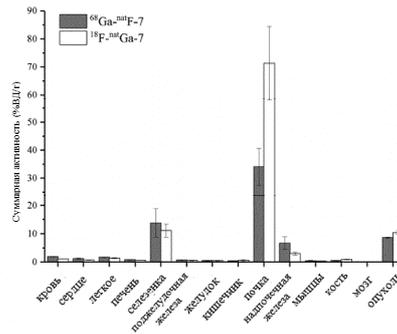
	⁶⁸ Ga- ¹⁸ F-F-9	¹⁸ F-F-9
Кровь	0,46 ± 0,11	1,1 ± 0,67
Сердце	0,48 ± 0,17	0,81 ± 0,40
Легкое	0,94 ± 0,20	0,98 ± 0,12
Печень	0,42 ± 0,07	0,74 ± 0,45
Селезенка	25,43 ± 5,2	14,5 ± 3,3
Поджелудочная железа	0,39 ± 0,09	0,48 ± 0,26
Желудок	0,48 ± 0,40	0,46 ± 0,23
Кишечник	0,44 ± 0,34	0,41 ± 0,21
Почки	54,9 ± 3,0	74,3 ± 6,1
Надпочечная железа	2,7 ± 0,19	1,9 ± 1,6
Мышцы	0,19 ± 0,06	0,32 ± 0,18
Кость	0,18 ± 0,05	0,60 ± 0,17
Мозг	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,04
Опухоль	7,2 ± 0,63	9,1 ± 1,9

Фиг. 18



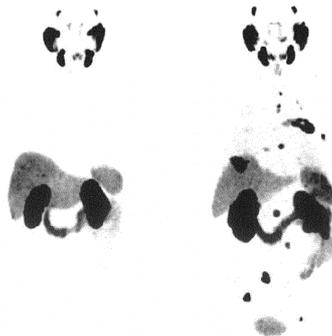
Орган	% ВД/мл
Опухоль	7,2 ± 0,22
Слюнные железы	1,2 ± 0,09
Мышцы	0,58 ± 0,09
Почка	48,3 ± 11,9
Сердце	0,80 ± 0,12
Печень	0,74 ± 0,04

Фиг. 19



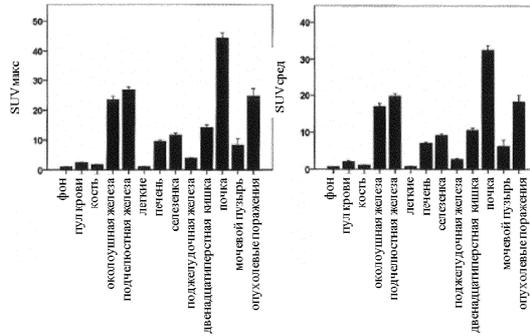
	⁶⁸ Ga-natF-7	¹⁸ F-natGa-7
Кровь	1,9 ± 0,14	1,1 ± 0,03
Сердце	1,2 ± 0,27	0,7 ± 0,07
Легкое	1,7 ± 0,16	1,4 ± 0,17
Печень	0,77 ± 0,10	0,67 ± 0,07
Селезенка	13,8 ± 5,0	11,1 ± 2,3
Поджелудочная железа	0,71 ± 0,11	0,60 ± 0,10
Желудок	0,51 ± 0,07	0,49 ± 0,07
Кишечник	0,43 ± 0,07	0,60 ± 0,27
Почки	34,1 ± 6,6	71,3 ± 13,3
Надпочечная железа	6,7 ± 2,2	3,0 ± 0,45
Мышцы	0,42 ± 0,22	0,36 ± 0,06
Кость	0,52 ± 0,11	0,91 ± 0,11
Мозг	0,06 ± 0,01	0,11 ± 0,08
Опухоль	8,6 ± 0,20	10,4 ± 0,67

Фиг. 20



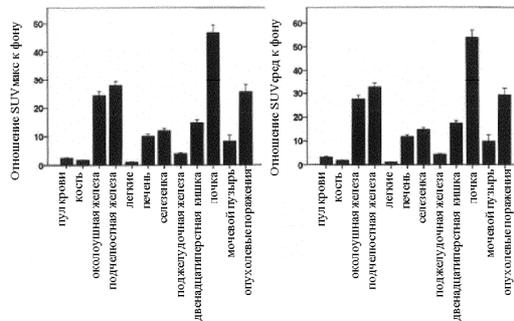
Фиг. 21

	Среднее SUV _{макс}	минимум	максимум	Среднее SUV _{сред}	минимум	максимум
Фон	1,0	0,6	1,9	0,6	0,4	1,2
Пул крови	2,4	1,6	3,9	2,0	1,1	17,0
Околоушная железа	23,5	8,2	42,3	16,8	5,5	32,7
Подчелюстная железа	26,7	10,1	43,8	19,6	7,0	29,7
Легкие	1,0	0,5	3,1	0,7	0,3	2,0
Печень	9,5	4,5	25,2	7,0	3,2	17,7
Селезенка	11,8	4,7	21	9,1	3,4	17,1
Поджелудочная железа	3,9	1,8	9,2	2,7	1,3	7,4
Двенадцатиперстная кишка	14,2	2,8	32,7	10,5	1,9	23,9
Кость	1,7	0,8	3,1	1,1	0,6	2,1
Почка	44,3	19,1	75,2	32,1	13,2	54,7
Мочевой пузырь	8,3	0,5	112,0	6,1	0,3	85,7
Опухолевые поражения	26,6	4,0	95,4	19,2	2,7	71,7



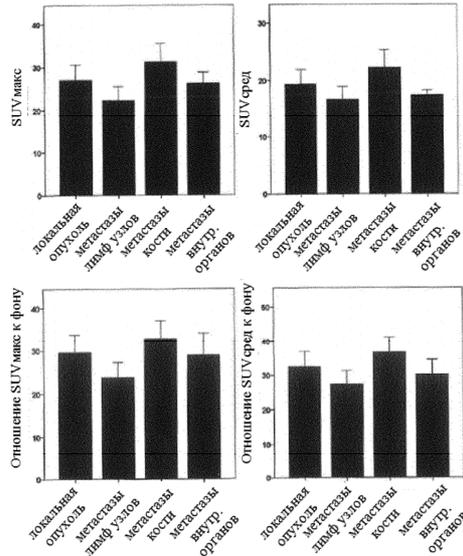
Фиг. 22

	Отношение SUV _{макс} к фону			Отношение SUV _{сред} к фону		
	Среднее	минимум	максимум	Среднее	минимум	максимум
Пул крови	2,5	1,3	4,8	3,1	1,5	21,3
Околоушная железа	24,3	8,2	45,3	27,5	9,2	54,5
Подчелюстная железа	27,8	10,1	54,7	32,5	11,7	61,8
Легкие	1,1	0,4	3,3	1,1	0,4	4,0
Печень	10,1	2,9	42,0	11,7	3,7	44,3
Селезенка	12,3	4,7	35,0	14,9	5,7	39,5
Поджелудочная железа	4,0	1,5	11,3	4,3	1,9	10,8
Двенадцатиперстная кишка	14,8	2,8	31,3	17,3	3,2	35,3
Кость	1,7	0,9	2,9	1,8	1,0	3,2
Почка	46,7	16,9	98,7	53,8	19,8	109,3
Мочевой пузырь	8,3	0,6	112,0	9,8	0,5	142,8
Опухолевые поражения	28,6	5,0	83,4	31,9	5,4	83,2



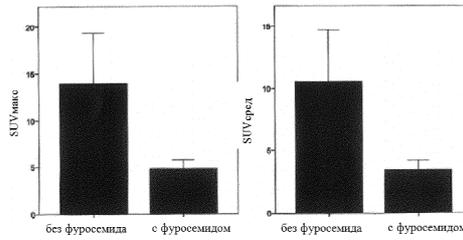
Фиг. 23

Локальная опухоль		SUV _{макс}	Отношение SUV _{макс}	SUV _{сред}	Отношение SUV _{сред}
		Среднее	26,9	26,9	19,3
	минимум	4	5	2,7	5,4
	максимум	75,1	83,4	19,3	83,2
Метастазы в лимфатических узлах	SUV _{макс}				
	Среднее	22,2	23,7	16,6	27,3
	минимум	8,1	5,8	6,4	7,1
	максимум	67,5	63,6	44,6	70,7
Метастазы в кости	SUV _{макс}				
	Среднее	31,2	32,8	22,2	36,6
	минимум	7,9	7,9	5,3	8,8
	максимум	95,4	73,4	71,7	80
Метастазы во внутренние органы	SUV _{макс}				
	Среднее	26,1	28,9	17,4	30,2
	минимум	20,4	18,5	15,5	22,1
	максимум	32,5	40,6	19,1	38,2

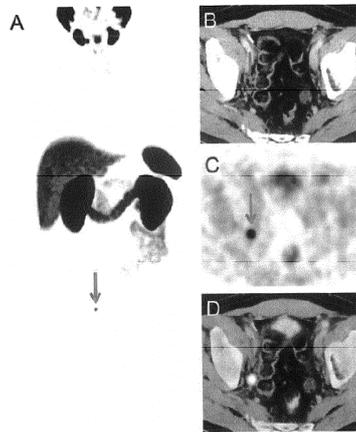


Фиг. 24

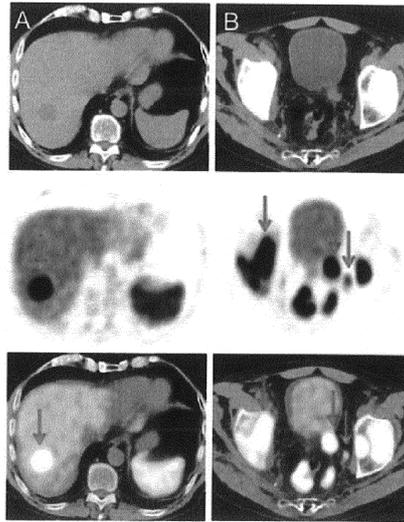
	SUVmax			SUVсред		
	Среднее	минимум	максимум	Среднее	минимум	максимум
С фуросемидом	4,8	1,6	32	3,4	1,1	26,6
Без фуросемида	13,9	0,5	112	10,5	0,3	85,7



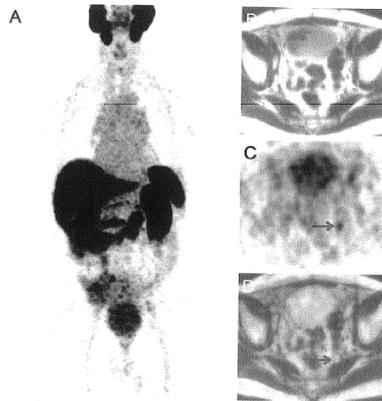
Фиг. 25



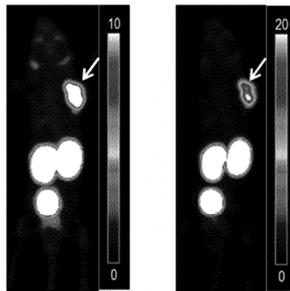
Фиг. 26



Фиг. 27

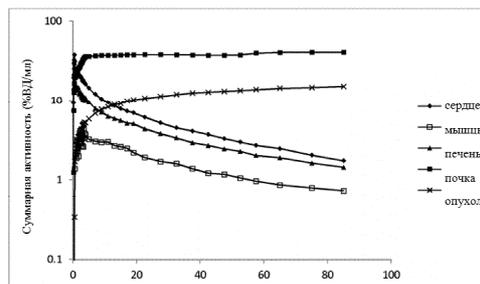


Фиг. 28

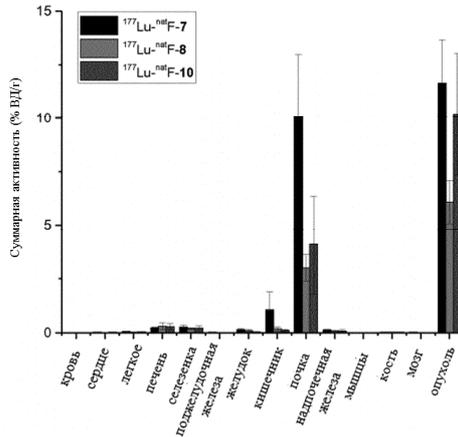


ROI	% ВД/мл
Опухоль	10,9 ± 3,2
Слюнные железы	1,7 ± 0,1
Мышцы	0,41 ± 0,09
Почка	5,3 ± 5,9
Сердце	1,2 ± 0,12
Печень	0,96 ± 0,03

Фиг. 29

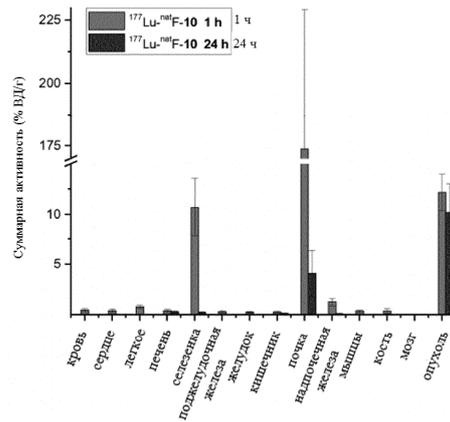


Фиг. 30



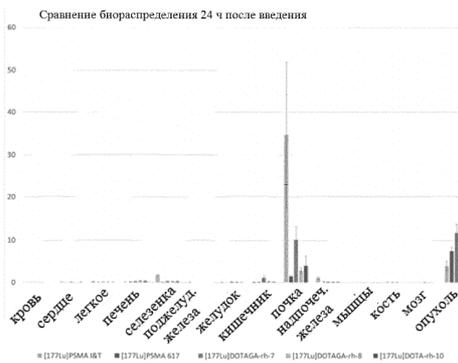
	¹⁷⁷ Lu-rh-7	¹⁷⁷ Lu-rh-8	¹⁷⁷ Lu-rh-10
Кровь	0,006 ± 0,001	0,002 ± 0,0004	0,004 ± 0,001
Сердце	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,007	0,03 ± 0,007
Легкое	0,07 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,007
Печень	0,23 ± 0,03	0,31 ± 0,14	0,28 ± 0,13
Селезенка	0,27 ± 0,09	0,20 ± 0,04	0,22 ± 0,11
Поджелудочная железа	0,02 ± 0,007	0,02 ± 0,005	0,02 ± 0,001
Желудок	0,15 ± 0,05	0,11 ± 0,04	0,04 ± 0,008
Кишечник	1,1 ± 0,82	0,18 ± 0,09	0,11 ± 0,06
Почки	10,1 ± 2,9	3,0 ± 0,62	4,1 ± 2,3
Надпочечная железа	0,13 ± 0,04	0,09 ± 0,03	0,09 ± 0,06
Мышцы	0,01 ± 0,006	0,01 ± 0,003	0,01 ± 0,003
Кость	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,007	0,02 ± 0,01
Мозг	0,03 ± 0,02	0,009 ± 0,002	0,01 ± 0,003
LNCaP	11,7 ± 2,0	6,08 ± 1,01	10,2 ± 2,8

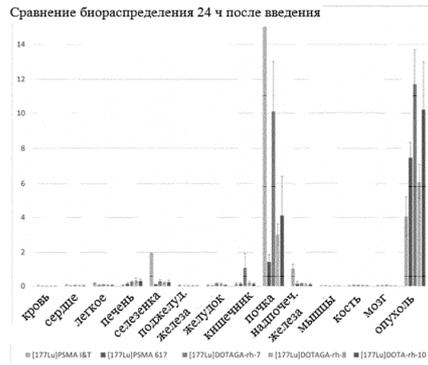
Фиг. 31



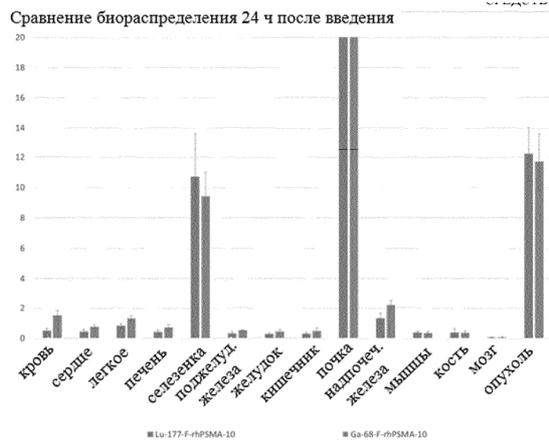
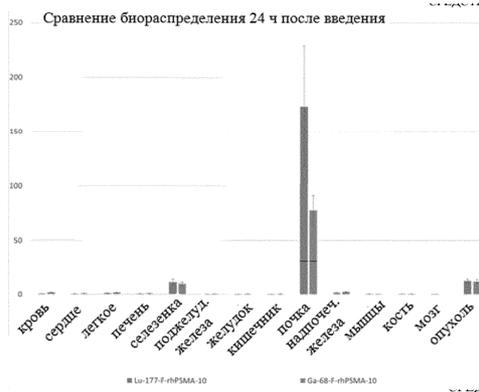
	1 час	24 часа
Кровь	0,48 ± 0,15	0,004 ± 0,001
Сердце	0,42 ± 0,15	0,03 ± 0,007
Легкое	0,80 ± 0,16	0,05 ± 0,007
Печень	0,40 ± 0,13	0,28 ± 0,13
Селезенка	10,7 ± 2,9	0,22 ± 0,11
Поджелудочная железа	0,31 ± 0,12	0,02 ± 0,001
Желудок	0,26 ± 0,08	0,04 ± 0,008
Кишечник	0,28 ± 0,10	0,11 ± 0,06
Почки	173 ± 55,5	4,1 ± 2,3
Надпочечная железа	1,3 ± 0,37	0,09 ± 0,06
Мышцы	0,36 ± 0,10	0,01 ± 0,003
Кость	0,37 ± 0,24	0,02 ± 0,01
Мозг	0,05 ± 0,01	0,01 ± 0,003
LNCaP	12,2 ± 1,8	10,2 ± 2,8

Фиг. 32





Фиг. 33



Фиг. 34

