

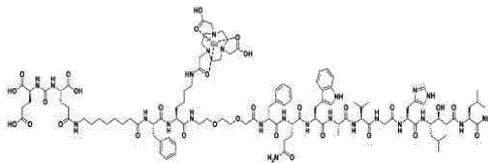
(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **047774**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2024.09.09**(21) Номер заявки  
**202391539**(22) Дата подачи заявки  
**2023.06.19**(51) Int. Cl. *A61K 49/14* (2006.01)  
*A61K 51/08* (2006.01)  
*C07D 255/02* (2006.01)  
*A61K 103/00* (2006.01)(54) **РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАКА  
ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ МЕТОДОМ ПОЗИТРОННОЙ ЭМИССИОННОЙ  
ТОМОГРАФИИ И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ**(31) **2022110662**(32) **2022.04.19**(33) **RU**(43) **2023.10.31**(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ  
ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
"НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ЦЕНТР ИМЕНИ В.А.  
АЛМАЗОВА" МИНИСТЕРСТВА  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (RU)****Рыжкова Дарья Викторовна (RU),  
Абузайед Айман Тарек Мохамед,  
Ринне Сара Софи, Розенстрём  
Ульрика Хелена, Лундмарк Фанни  
Кристин (SE)**(74) Представитель:  
**Конради А.О. (RU)**(56) **RU-C2-2693465**  
LUNDMARK FANNY et al. Heterodimeric Radiotracer Targeting PSMA and GRPR for Imaging of Prostate Cancer-Optimization of the Affinity towards PSMA by Linker Modification in Murine Model. *Pharmaceutics* 2020, 12, 614, pp. 1-15, doi: 10.3390/pharmaceutics12070614, см. реферат, фиг. 1  
MITRAN BOGDAN et al. Bispecific GRPR-Antagonistic Anti-PSMA/GRPR Heterodimer for PET and SPECT Diagnostic Imaging of Prostate Cancer. *Cancers* 2019, 11, 1371, pp. 1-16, doi: 10.3390/cancers11091371, см. реферат, схема 1  
RU-U1-199965(72) Изобретатель:  
**Орлова Анна Марковна, Толмачев  
Владимир Максимлианович,  
Тимофеев Василий Владимирович,**

(57) Изобретение относится к медицине, радиологии, к составам и способам получения радиоактивных препаратов медицинского назначения, которые могут быть использованы для радионуклидной диагностики в онкологии. Радиофармацевтический препарат для диагностики рака предстательной железы методом позитронной эмиссионной томографии, содержащий гетеродимер с аффинностью к простатспецифическому мембранному антигену (ПСМА) и рецептору гастрин-рилизинг пептида (ГРП), общей формулы (I)



(I)

с радионуклидной меткой, в качестве которой используют позитрон-активный радионуклид  $^{68}\text{Ga}$ . Также предложен способ получения радиофармацевтического препарата. Изобретение позволяет повысить выявляемость рака предстательной железы и его метастазов в связи с высокой разрешающей способностью технологии позитронной эмиссионной томографии и снизить лучевую нагрузку на пациентов.

**B1****047774****047774****B1**

Изобретение относится к медицине, радиологии, к составам и способам получения радиоактивных препаратов медицинского назначения, которые могут быть использованы для радионуклидной диагностики в онкологии.

В изобретении описан новый препарат и способ его получения для диагностики опухолей, экспрессирующих простатспецифический мембранный антиген (ПСМА), в частности рака предстательной железы (РПЖ). РПЖ занимает второе место в структуре заболеваемости и пятое в структуре смертности от онкологических заболеваний у мужчин [Torre LA, Bray F, Siegel RL et al. Global cancer statistics, 2012. CA: A Cancer J Clin. 2015;65(2):87-108]. Методы ядерной медицины занимают лидирующие позиции в стадировании, рестадировании, а также в выявлении рецидивов заболевания. ПЭТ-КТ с мечеными лигандами к ПСМА в настоящее время широко применяются в клинической практике. Превосходство ПЭТ-КТ с  $^{68}\text{Ga}$ -ПСМА по диагностической точности над  $^{18}\text{F}$ -холином и  $^{11}\text{C}$ -ацетатом отражено в статье [Lütje S, Heskamp S, Cornelissen AS et al. PSMA Ligands for Radionuclide Imaging and Therapy of Prostate Cancer: Clinical Status. *Theranostics*. 2015;5(12):1388-401.].

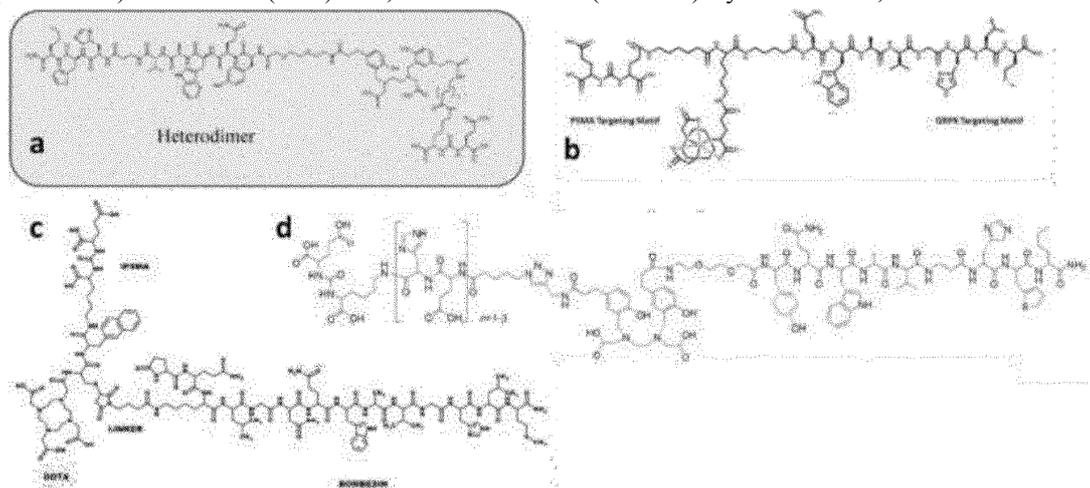
В исследовании [Afshar-Oromieh A, Zechmann CM, Malcher A et al. Comparison of PET imaging with a (68)Ga-labelled PSMA ligand and (18)F-choline-based PET/CT for the diagnosis of recurrent prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;41(1):11-20] выполнено сравнение диагностической эффективности ПЭТ-КТ с  $^{68}\text{Ga}$ -ПСМА и с  $^{18}\text{F}$ -холином в определении локализации патологических очагов у 37 больных с биохимическим рецидивом РПЖ. Было продемонстрировано диагностическое превосходство  $^{68}\text{Ga}$ -ПСМА над  $^{18}\text{F}$ -холином в обнаружении метастазов РПЖ: 78 очагов у 32 пациентов против 56 очагов у 26 пациентов. Кроме того, оказалось, что различие в чувствительности ПЭТ-КТ с  $^{68}\text{Ga}$ -ПСМА и с  $^{18}\text{F}$ -холином значительно увеличивается при низких уровнях простатспецифического антигена (ПСА).

В статье [Von Eyben, F.E.; Picchio, M.; von Eyben, R.; Rhee, H.; Bauman, G. 68Ga-Labeled Prostate-specific Membrane Antigen Ligand Positron Emission Tomography/Computed Tomography for Prostate Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Eur. Urol. Focus* 2018, 4, 686-6934] приведен мета-анализ публикаций, посвященных информативности ПЭТ-КТ с  $^{68}\text{Ga}$ -ПСМА у пациентов с злокачественным новообразованием предстательной железы. Чувствительность метода в выявлении первичного опухолевого очага составляла 70% и чувствительность в идентификации метастазов в лимфатические узлы всего 61%. Основными причинами низкой чувствительности ПЭТ-КТ с  $^{68}\text{Ga}$ -ПСМА являются не только малые размеры опухолевого очага, но и низкая экспрессия ПСМА на мембранах опухолевых клеток примерно у 10% больных раком предстательной железы, резистентные к антиандрогенной терапии формы рака предстательной железы (например, нейроэндокринный рак) [Schwarzenboeck, S.M.; Rauscher, I.; Bluemel, C; Fendler, W.P.; Rowe, S.P.; Pomper, M.G.; Afshar-Oromieh, A.; Herrmann, K.; Eiber, M. PSMA Ligands for PET Imaging of Prostate Cancer. *J. Nucl. Med.* 2017, 58, 1545-1552; Sheikhabaehi, S.; Afshar-Oromieh, A.; Eiber, M.; Solnes, L.B.; Javadi, M.S.; Ross, A.E.; Pienta, K.J.; Allaf, M.E.; Haberkorn, U.; Pomper, M.G.; et al. Pearls and pitfalls in clinical interpretation of prostate-specific membrane antigen (PSMA)-targeted PET imaging. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2017, 44, 2117-2136].

Новым шагом к повышению эффективности ПЭТ-диагностики рака предстательной железы стала разработка меченых соединений на основе лигандов к рецептору гастрин-релизинг пептида (ГРП), который также экспрессируется на клетках рака предстательной железы [Beer, M.; Montani, M.; Gerhardt, J.; Wild, P.J.; Hany, T.F.; Hermanns, T.; Müntener, M.; Kristiansen, G. Profiling gastrin-releasing peptide receptor in prostate tissues: Clinical implications and molecular correlates. *Prostate* 2012, 72, 318-325]. В исследовании [Minamimoto, R.; Sonni, I.; Hancock, S.; Vasanawala, S.; Loening, A.; Gambhir, S.S.; Jagaru, A. Prospective Evaluation of 68Ga-RM2 PET/MRI in Patients with Biochemical Recurrence of Prostate Cancer and Negative Findings on Conventional Imaging. *J. Nucl. Med.* 2018, 59, 803-808] продемонстрирована высокая чувствительность меченого соединения, имеющего тропность к рецепторам ГРП в диагностике рака предстательной железы - 88%. В более раннем исследовании [Minamimoto, 2016], выполненном на малой когорте пациентов (7 пациентов), произведено прямое сопоставление результатов ПЭТ визуализации с мечеными радиофармпрепаратами специфичными к ПСМА и рецептору ГРП. При этом не было обнаружено полной сопоставимости полученных результатов, что позволило сделать вывод о необходимости визуализации как к ПСМА, так и к рецептору ГРП у каждого пациента [Minamimoto, R.; Hancock, S.; Schneider, B.; Chin, F.T.; Jamali, M.; Loening, A.; Vasanawala, S.; Gambhir, S.S.; Jagaru, A. Pilot Comparison of 68Ga-RM2 PET and 68Ga-PSMA-11 PET in Patients with Biochemically Recurrent Prostate Cancer. *J. Nucl. Med.* 2016, 57, 557-562].

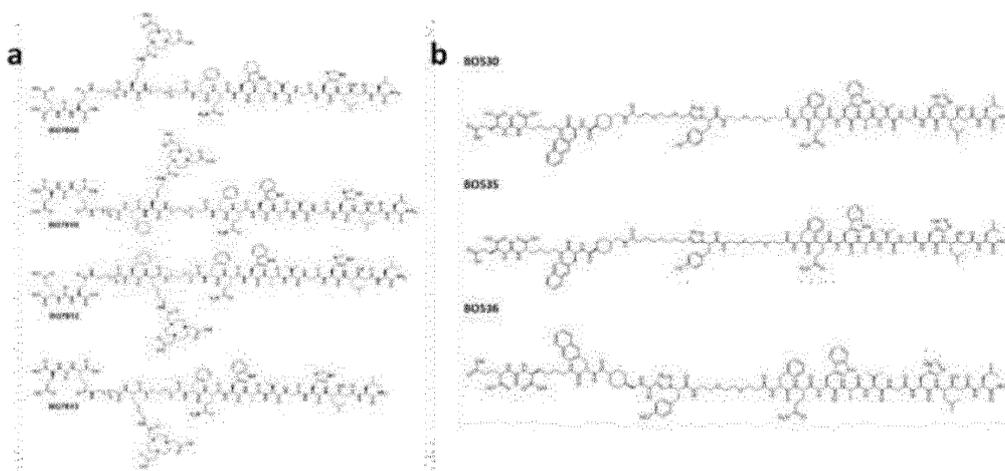
В последние годы появились публикации о разработке меченых радионуклидами гетеродимеров на основе лиганда к ПСМА и агониста к рецептору ГРП производного от бомбезина [Eder, M.; Schäfer, M.; Bauder-Wüst, U.; Haberkorn, U.; Eisenhut, M.; Kopka, K. Preclinical evaluation of a bispecific low-molecular heterodimer targeting both PSMA and GRPR for improved PET imaging and therapy of prostate cancer. *Prostate* 2014, 74, 659-668; Bandari, R.P.; Jiang, Z.; Reynolds, T.S.; Bernskoetter, N.E.; Szczodroski, A.F.; Bassuner, K.J.; Kirkpatrick, D.L.; Rold, T.L.; Sieckman, G.L.; Hoffman, T.J.; et al. Synthesis and biological evaluation of copper-64 radiolabeled [DUPA-6-Ahx-(NODAGA)-5-Ava-BBN(7-14)NH<sub>2</sub>], a novel bivalent targeting vector having affinity for two distinct biomarkers (GRPr/PSMA) of prostate cancer. *Nucl. Med. Biol.* 2014, 41, 355-363; Mendoza-Figueroa, M.J.; Escudero-Castellanos, A.; Ramirez-Nava, G.J.; Ocampo-García,

B.E.; Santos-Cuevas, C.L.; Ferro-Flores, G.; Pedraza-Lopez, M.; Avila-Rodriguez, M.A. Preparation and pre-clinical evaluation of  $^{68}\text{Ga}$ -iPSMA-BN as a potential heterodimeric radiotracer for PET-imaging of prostate cancer. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2018, 318, 2097-2105; Escudero-Castellanos, A.; Ocampo-Garcia, B.; Morales-Ávila, E.; Luna-Gutiérrez, M.; Isaac-Olivé, K.; Ferro-Flores, G.; Santos-Cuevas, C Synthesis and preclinical evaluation of the  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-PSMA(inhibitor)-Lys3-bombesin heterodimer designed as a radiotheranostic probe for prostate cancer. *Nucl. Med. Commun.* 2018, 40, 278-286; Liolios, C.; Schäfer, M.; Haberkorn, U.; Eder, M.; Kopka, K. Novel Bispecific PSMA/GRPr Targeting Radioligands with Optimized Pharmacokinetics for Improved PET Imaging of Prostate Cancer. *Bioconjugate Chem.* 2016, 27, 737-751]; Гетеродимеры, нацеленные на ПСМА и ГРП на основе агонистов ГРП: а - Glu-urea-Lys(Ahx)-HBED-CC-BZH3; б - DUPA-6-Ahx-(NODAGA)-5-Ava-BBN(7-14)NH<sub>2</sub>; в - DOTA-PSMA(inhibitor)-Lys3-bombesin; д - HE0-HE3.



Тем не менее, существенным недостатком агонистов к рецептору ГРП является их сильная физиологическая активность и митогенность - индукция клеточного деления [Casanueva, F.F.; Perez, F.R.; Casabiell, X.; Camina, J.P.; Cai, R.Z.; Schally, A.V. Correlation between the effects of bombesin antagonists on cell proliferation and intracellular calcium concentration in Swiss 3T3 and HT-29 cell lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996, 93, 1406-1411]. Кроме того, было продемонстрировано, что антагонисты к рецепторам ГРП имеют больше сайтов связывания с опухолевой клеткой, чем агонисты, что повышает захват меченого радионуклидом гетеродимера опухолевым узлом [Mansi, R.; Fleischmann, A.; Mäcke, H.R.; Reubi, J.C. Targeting GRPR in urological cancers-from basic research to clinical application. *Nat. Rev. Urol.* 2013, 10, 235-244; Varasteh, Z.; Velikyán, I.; Lindeberg, G.; Sörensen, J.; Larhed, M.; Sandström, M.; Selvaraju, R.K.; Malmberg, J.; Tolmachev, V.; Orlova, A. Synthesis and characterization of a high-affinity NOTA-conjugated bombesin antagonist for GRPR-targeted tumor imaging. *Bioconjug. Chem.* 2013, 24, 1144-1153].

Известны также разработки новых гетеродимеров, которые включают ПСМА-связывающий фрагмент, описанный [Kularatne, S.A.; Wang, K.; Santhapuram, H.K.; Low, P.S. Prostate-specific membrane antigen targeted imaging and therapy of prostate cancer using a PSMA inhibitor as a homing ligand. *Mol. Pharm.* 2009, 6, 780-789] и антагонист к рецептору ГРП - GRPR RM26 [Varasteh 2014], связанный через глутаминовую кислоту, несущую хелатор NOTA, для мечения радиометаллами или тирозин для радиогалогенирования [Abouzayed, A.; Yim, C.-B.; Mitran, B.; Rinne, S.S.; Tolmachev, V.; Larhed, M.; Rosenström, U.; Orlova, A. Synthesis and Preclinical Evaluation of Radio-Iodinated GRPR/PSMA Bispecific Heterodimers for the Theranostics Application in Prostate Cancer. *Pharmaceutics* 2019, 11, 358; Mitran, B.; Varasteh, Z.; Abouzayed, A.; Rinne, S.S.; Puuvuori, E.; De Rosa, M.; Larhed, M.; Tolmachev, V.; Orlova, A.; Rosenström, U. Bispecific GRPR-Antagonistic Anti-PSMA/GRPR Heterodimer for PET and SPECT Diagnostic Imaging of Prostate Cancer. *Cancers* 2019, 11,1371; Lundmark F, Abouzayed A, Mitran B, Rinne SS, Varasteh Z, Larhed M, Tolmachev V, Rosenstrom U, Orlova A. Heterodimeric Radiotracer Targeting PSMA and GRPR for Imaging of Prostate Cancer-Optimization of the Affinity towards PSMA by Linker Modification in Murine Model. *Pharmaceutics* 2020, 12, 614]; гетеродимеры лиганды к ПСМА и рецептору ГРП на основе агонистов к рецепторам ГРП. а. производные NOTA-DUPA-RM26: BQ7800, BQ7810, BQ7812, BQ7813; б. производные DUPA-Х-триазилил-Туг-PEG2-RM26 (X = PEG2 (BO530), (CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub> (BO535), без линкера (BO536).



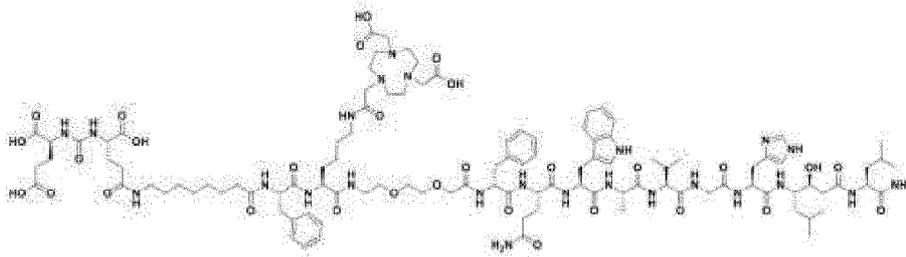
Первый изученный меченый гетеродимер продемонстрировал специфическое связывание с обеими мишенями: ПСМА и рецептора ГРП, однако его сродство к ПСМА было в субмикромольном диапазоне, что привело к низкому накоплению в опухолях, экспрессирующих только ПСМА [Mitran]. Далее, были синтезированы три аналога гетеродимеров на основе пептида BQ7800 [Lundmark], используя следующие две стратегии для повышения аффинности ПСМА связывающего домена:

1. Путем включения фенилаланина, предполагая, что его гидрофобная боковая цепь будет взаимодействовать с Phe546, и Trp541 во входном тоннеле к месту связывания Glu-Ureido PSMA-связывающего фрагмента [Barve, A.; Jin, W.; Cheng, K. Prostate cancer relevant antigens and enzymes for targeted drug delivery. *J. Control. Release* 2014, 187, 118-132; Kopka, K.; Benešová, M.; Barinka, C.; Haberkorn, U.; Babich, J. Glu-ureido-based inhibitors of prostate-specific membrane antigen: Lessons learned during the development of a novel class of low-molecular-weight theranostic radiotracers. *J. Nucl. Med.* 2017, 58, 17S-26S].

2. Путем увеличения длины PEG-линкера, который не влияет на сродство к рецепторам ГРП [Vasteh, Z.; Rosenström, U.; Velikyán, I.; Mitran, B.; Altai, M.; Honarvar, H.; Sörensen, J.; Rosestedt, M.; Lindberg, G.; Larhed, M.; et al. The effect of mini-PEG-based spacer length on binding and pharmacokinetic properties of a 68Ga-labeled NOTA-conjugated antagonistic analog of bombesin. *Molecules* 2014, 1, 9, 10455-10472].

Основываясь на этих стратегиях, был синтезирован гетеродимер, который является комбинацией пептида и псевдопептида, и представляет последовательность аминокислот и химических модификаций: (3S,7S,21S,24S,36R,39S,42S,45S,48S,54S,57S,58S,62S)-54-((1H-имидазол-4-ил)метил)-42-((1H-индол-3-ил)метил)-39-(3-амино-3-оксипропил)-21,36-дибензил-24-(4-(2-(4,7-бис(карбоксиметил)-1,4,7-триазолан-1-ил)ацетида)бутил)-62-карбамоил-58-гидрокси-57-изобутил-48-изопропил-45,64-диметил-5,10,19,22,25,34,37,40,43,46,49,52,55,60-тетрадекаоксо-29,32-диокса-4,6,11,20,23,26,35,38,41,44,47,50,53,56,61-пентадеказапентагексаконтан-1,3,7-трикарбоновая кислота. Согласно IUPAC (Международный союз теоретической и прикладной химии) программа Chemdraw сгенерировала следующую аббревиатуру гетеродимера: BQ7812.

Синтезированный гетеродимер BQ7812 с формулой:



продemonстрировал 10-кратное повышение аффинности к ПСМА, в то время как сродство к рецептору ГРП не изменилось и было на низком наномольном уровне.

Синтез гетеродимера BQ7812.

Сокращения:

Fmoc - фторенилметоксикарбонильная защитная группа,

Woc - третбутилоксикарбонильная защитная группа,

Trt - трифенилметильная защитная группа,

Alloc - аллилоксикарбонильная защитная группа.

Синтез проводят на твердой фазе смолы Rink Amide 4-метилбензгидриламин (MBHA) присоединением Fmoc-Leu-OH к исходной смоле, и последующим наращиванием цепи путем последовательного добавления Fmoc-Sta-OH, Fmoc-Gis(Trt)-OH, Fmoc-Gli-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Trp(Woc)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-D-Phe-OH, Fmoc-O<sub>2</sub>Oc-OH, Fmoc-Lys(Alloc)-OH, Fmoc-Phe-OH, 8-(Fmoc-

амино)октановой кислоты и (S)-5-(трет-бутокси)-4-(3-((S)-1,5-ди-трет-бутокси-1,5-диоксопентан-2-ил)уреидо)-5-оксопентановой кислоты.

Реакции присоединения проводят в диметилформамиде (ДМФ) с использованием этилциангидроксиминоацетата (оксима), N,N'-диизопропилкарбодиимида (DIC) и диизопропилэтиламина (DIPEA).

Перед каждой стадией присоединения следующего вещества защитную группу Fmoc удаляют с помощью 20%-ного раствора пиперидина в ДМФ.

Защитная группа Allos боковой цепи лизина удаляется путем добавления PhSiH<sub>3</sub> и Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> в дихлорметане (DCM) с последующим присоединением NOTA-бис-третбутилового эфира. Отщепление от твердого носителя, а также удаление прочих - защитных групп выполняют обработкой 5% H<sub>2</sub>O в трифторуксусной кислоте (TFA) в сочетании с тиоанизолом и триизопропилсиланом в качестве поглотителей. Использование оксима в сочетании с DIC более выгодно по сравнению с использованием связывающих реагентов на основе солей фосфония/амин/урония, таких как PyBOP, HBTU и HATU, из-за более низкой рачемизации, более высоких выходов, меньшей взрывоопасности и более низкой стоимости [Al-Warhi, T.I.; Al-Hazimi, H.M.A.; El-Faham, A. Recent development in peptide coupling reagents. *J. Saudi Chem. Soc.* 2012, 16, 97-116, doi:10.1016/j.jscs.2010.12.006, Jad, Y.E.; Acosta, G.A.; Khattab, S.N.; De La Torre, B.G.; Govender, T.; Kruger, H.G.; El-Faham, A.; Albericio, F. Peptide synthesis beyond DMF: THF and ACN as excellent and friendlier alternatives. *Org. Biomol. Chem.* 2015, 13, 2393-2398, doi:10.1039/c4ob02046d, Wehrstedt, K.D.; Wandrey, P.A.; Heitkamp, D. Explosive properties of 1-hydroxybenzotriazoles. *J. Hazard. Mater.* 2005, 126, 1-7, doi: 10.1016/j.jhazmat.2005.05.044. Subirós-Funosas, R.; Prohens, R.; Barbas, R.; El-Faham, A.; Albericio, F. Oxyma: an efficient additive for peptide synthesis to replace the benzotriazole-based HOBT and HOAt with a lower risk of explosion. *Chemistry* 2009, 75, 9394-9403, doi:10.1002/CHEM.200900614.]. Это делает комбинацию Oxyma/DIC более рентабельной в использовании по сравнению с другими связывающими реагентами на рынке для синтеза гетеродимера BQ7812.

Полученный гетеродимер BQ7812 был мечен радиоизотопом <sup>111</sup>In для диагностики рака предстательной железы с помощью однофотонной эмиссионной компьютерной томографии [Fanny Lundmark, Ayman Abouzayed, Bogdan Mitran, Sara S. Rinne, Zohreh Varasteh, Mats Larhed, Vladimir Tolmachev, Ulrika Rosenström and Anna Orlova Heterodimeric Radiotracer Targeting PSMA and GRPR for Imaging of Prostate Cancer-Optimization of the Affinity towards PSMA by Linker Modification in Murine Model // *Pharmaceutics*.- 2020, 12, 614; doi:10.3390/pharmaceutics12070614]. Он продемонстрировал наибольшую аффинность к ПСМА домену. Однако методика однофотонной эмиссионной компьютерной томографии имеет ряд недостатков, а именно относительно низкая разрешающая способность метода по сравнению с позитронной эмиссионной томографией (1 см) и длинный период полураспада изотопа (2,8047 сут).

Задачей заявляемого изобретения является создание нового радиофармацевтического препарата для диагностики рака предстательной железы методом позитронной эмиссионной томографии, позволяющего повысить эффективность диагностики за счет использования для мечения позитрон-излучающего радионуклида <sup>68</sup>Ga.

Техническим результатом предлагаемого изобретения является повышение выявляемости рака предстательной железы и его метастазов в связи с высокой разрешающей способностью технологии позитронной эмиссионной томографии и снижение лучевой нагрузки на пациентов.

Изобретение поясняется следующими чертежами, где:

На фиг. 1 представлен график результатов определения специфичности нового соединения в эксперименте *in vitro*.

На фиг. 2 представлен график процесса связывания [<sup>68</sup>Ga]Ga-BQ7812 с PC-3pip клетками в зависимости от времени инкубации.

На фиг. 3 представлен график результатов измерений в эксперименте *in vivo* с мышами линии Balb/c-nu/nu с PC-3pip человеческими опухолями предстательной железы: А - в зависимости от времени после инъекции заявляемого препарата; В - соотношение опухоль-ткань в мышцах в зависимости от времени после инъекции заявляемого препарата.

На фиг. 4 представлена PET/CT визуализация распределения в организме мышей линии Balb/c-nu/nu с PC-3pip ксенографтами, экспрессирующими на поверхности рецепторы гастрин-рилизинг пептида и ПСМА через 1 и 3 ч после введения радиофармацевтического препарата. Стрелкой указана опухоль, стрелкой-пунктиром указано физиологическое накопление препарата в почках и поджелудочной железе - органах мишенях для лигандов к ПСМА и рецептору ГРП.

На фиг. 5 - представлен график результатов теста на *in vivo* специфичность.

Изобретение осуществляется следующим образом.

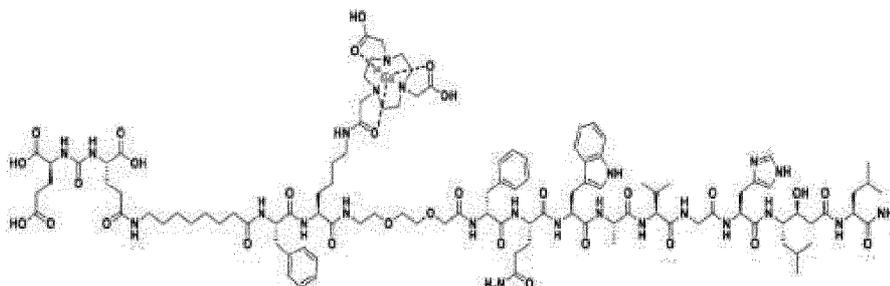
Включение позитрон-излучающего радионуклида <sup>68</sup>Ga в молекулу гетеродимера BQ7812 проводится автоматически с помощью устройства для синтеза радиофармпрепаратов на основе радионуклида <sup>68</sup>Ga (патент на ПМ РФ № 199965, опул. 29.09.2020 г.), позволяющего производить радиохимическую реакцию ионного обмена с радиоактивными металлами по разработанной программе для ЭВМ (Свидетельство № 2020610097, Программа управления устройством для синтеза радиофармпрепаратов на основе изотопа Ga-68, опубл. 10.01.2020). Способ получения радиофармацевтического препарата заключается в мечении гетеродимера с аффинностью к ПСМА и рецептору ГРП, позитрон-излучающим радионуклидом

$^{68}\text{Ga}$ , путем синтеза, осуществляемого в два этапа:

на первом этапе осуществляют элюирование генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  путем пропускания через колонку генератора 5 раствора  $\text{HCl}$  0,1M, в дозировке 8 мл, последовательным пропусканием элюата, содержащего радионуклид  $^{68}\text{Ga}$ , через картридж с нанесенными на него 5 г хлорида натрия в твердом агрегатном состоянии и через картридж конечной очистки для твердофазной экстракции по типу слабого анионного обмена с нанесенными на него 40-45 мг сорбента, картридж конечной очистки последовательно промывают 5M раствором  $\text{NaCl}$  и 1,3 мл дистиллированной воды, на выходе получают катион 3-валентного  $^{68}\text{Ga}^{3+}$ ;

на второй этапе полученный раствор катиона 3-валентного  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  помещают в реактор 9, загруженный 0,65 мл 2M подкисленного ацетата натрия (pH 4,5) и 2 наноля раствора гетеродимера с аффинностью к ПСМА и рецептору ГРП, смесь инкубируют в течение 12 мин при температуре  $90^\circ\text{C}$ , после чего реакционную смесь разбавляют 5 мл воды для инъекций.

Получен радиофармацевтический препарат для диагностики рака предстательной железы методом позитронной эмиссионной томографии, содержащий гетеродимер с аффинностью к ПСМА и рецептору ГРП, общей формулы (I)



(I)

с радионуклидной меткой, в качестве которой используют позитрон-активный радионуклид  $^{68}\text{Ga}$ .

Заявляемое изобретение основано на результатах эксперимента, проведенного на лабораторных мышах, линии Balb/c-nu/nu с опухолями PC-3pip ксенографтами.

Изобретение иллюстрируется примерами.

Пример 1.

Характеристика нового соединения  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-BQ7812}$  *in vitro*

Специфичность меченого гетеродимера проверяли на клетках опухолях PC-3pip, имеющих экспрессию обоих как ПСМА, так и рецептора ГРП. Концентрация раствора  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-BQ7812}$  составляла - 40 нМ, концентрация блокирующих растворов NOTA-PEG2-RM26 для блокировки рецепторов к гастрин-рилизинг пептиду ПСМА - 1 мкМ. Меченый гетеродимер продемонстрировал специфическое связывание с обеими клеточными мишенями. С увеличением концентрации меченого гетеродимера наблюдалось уменьшение относительного связывания его с клетками. Результаты представлены на фиг. 1.

Исследование связывания  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-BQ7812}$  с клетками PC-3pip рака предстательной железы изучалось в течение 3 ч. Связывание характеризовалось быстрой кинетикой. В течение первого часа активность, связанная с клетками, достигла 75% от максимальной наблюдаемой при инкубации в течение 3 ч. Измерение интернализированной активности, проведенное через 3 ч после начала инкубации, показало, что 25% активности, ассоциированной с клетками, было интернализировано. Полученные результаты показывают на фиг. 2, что меченый гетеродимер имеет быструю кинетику связывания, необходимую для визуализирующего РФП с быстрым выведением. Относительно высокая степень интернализации препарата для молекулы, состоящей из ингибитора ПСМА и антагониста рецептора ГРП, также должно положительно влиять на удержание препарата в опухоли и повышать контраст.

Пример 2.

Характеристика нового препарата  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-BQ7812}$  *in vivo*:

Высокая диагностическая пригодность нового соединения  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-BQ7812}$  была продемонстрирована при изучении его распределения в организме экспериментальных животных лабораторных мышей линии Balb/c-nu/nu с ксенографтами клеточной линии PC-3pip, созданной на основе человеческого рака предстательной железы. На фиг. 3 (А) представлено накопление радиофармацевтического препарата в опухоли и внутренних органах как % введенной активности на 1 г ткани. Отмечается высокий уровень накопления  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-BQ7812}$  по сравнению с фоновой активностью. На фиг. 3 (В) показано высокое соотношение концентраций радиофармацевтического препарата в опухоли и окружающих органах и тканях, что свидетельствует о высоком качестве ПЭТ изображения опухоли.

Пример 3.

Характеристика нового препарата  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-BQ7812}$  *in vivo*:

На фиг. 4 представлена визуализация накопления нового соединения  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-BQ7812}$  в ксенографте опухоли PC-3pip, экспрессирующей на поверхности рецепторы гастрин-рилизинг пептида и ПСМА, у мышей линии Balb/c-nu/nu. После внутривенного введения радиофармацевтического препарата уже через

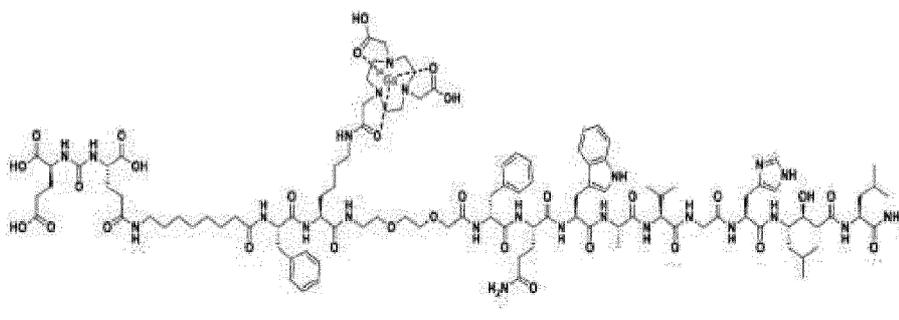
1 ч отмечается его включение в опухолевую ткань с получением высококачественного ПЭТ изображения. Физиологическая аккумуляция РФП отмечена в почках и поджелудочной железе - органах, имеющих рецепторы к ПСМА (почки) и гастрин-рилизинг пептиду (поджелудочная железа). Через 3 ч после введения  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-BQ7812}$  отмечается умеренное снижение накопления радиофармацевтического препарата в опухоли и почках. Тем не менее, сохраняется высокая контрастность изображения опухоли благодаря интернализации меченого вещества в клетках опухоли.

Характеризация *in vivo*:

Результаты теста на *in vivo* специфичность представлены на фиг. 5. Поглощение активности в "неблокированной" группе (инъектированной 40 pmol меченого гетеродимера) сравнивали с захватом в группе, инъектированной совместно с 5 pmol связывающего ПСМА (PSMA-617), и в группе, совместно инъектированной 5 pmol связывающего рецептор ГРП (RM26). Совместная инъекция обоих агентов приводит к значительному снижению поглощения активности в опухолях, совместная инъекция связывающего вещества ПСМА значительно снижает поглощение активности в почках, органе с эндогенной экспрессией ПСМА, а совместная инъекция связывающего вещества рецептор ГРП значительно снижает поглощение активности в поджелудочной железе, органе с эндогенной экспрессией рецепторов ГРП.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Радиофармацевтический препарат для диагностики рака предстательной железы методом позитронной эмиссионной томографии, содержащий гетеродимер с аффинностью к простатспецифическому мембранному антигену (ПСМА) и рецептору гастрин-рилизинг пептида (ГРП), общей формулы (I)



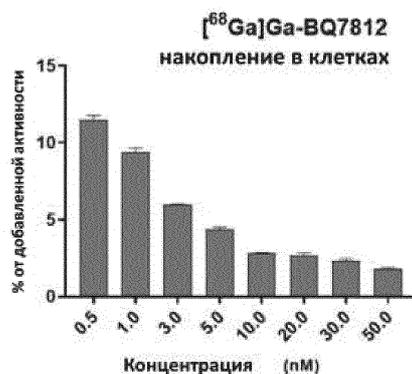
(I)

с радионуклидной меткой, в качестве которой используют позитрон-активный радионуклид  $^{68}\text{Ga}$ .

2. Способ получения радиофармацевтического препарата по п.1, заключающийся в мечении гетеродимера с аффинностью к ПСМА и рецептору ГРП, позитрон-активным радионуклидом  $^{68}\text{Ga}$ , путем синтеза, осуществляемого в два этапа:

на первом этапе осуществляют элюирование генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  путем пропускания через колонку генератора раствора  $\text{HCl}$  0,1М, в дозировке 8 мл, последовательным пропусканием элюата, содержащего изотоп  $^{68}\text{Ga}$ , через картридж с нанесенными на него 5 г хлорида натрия в твердом агрегатном состоянии и через картридж конечной очистки для твердофазной экстракции по типу слабого анионного обмена с нанесенными на него 40-45 мг сорбента, картридж конечной очистки последовательно промывают 5М раствором  $\text{NaCl}$ , и 1,3 мл дистиллированной воды, на выходе получают катион 3-валентного  $^{68}\text{Ga}^{3+}$ ;

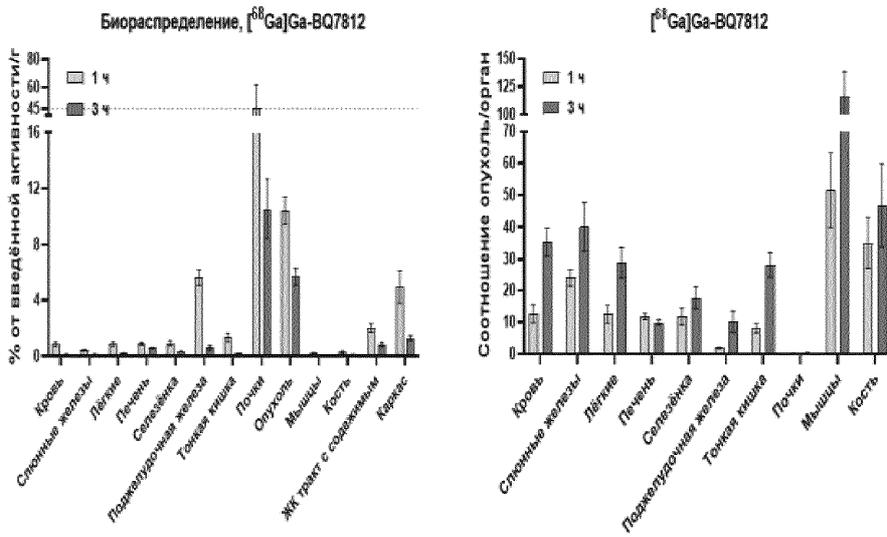
на втором этапе полученный раствор катиона 3-валентного  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  помещают в реактор, загруженный 0,65 мл 2М подкисленного ацетата натрия (pH 4,5) и 2 наномоль раствора гетеродимера с аффинностью к ПСМА и рецептору ГРП, смесь инкубируют в течение 12 мин при температуре  $90^\circ\text{C}$ , после чего реакционную смесь разбавляют 5 мл воды для инъекций.



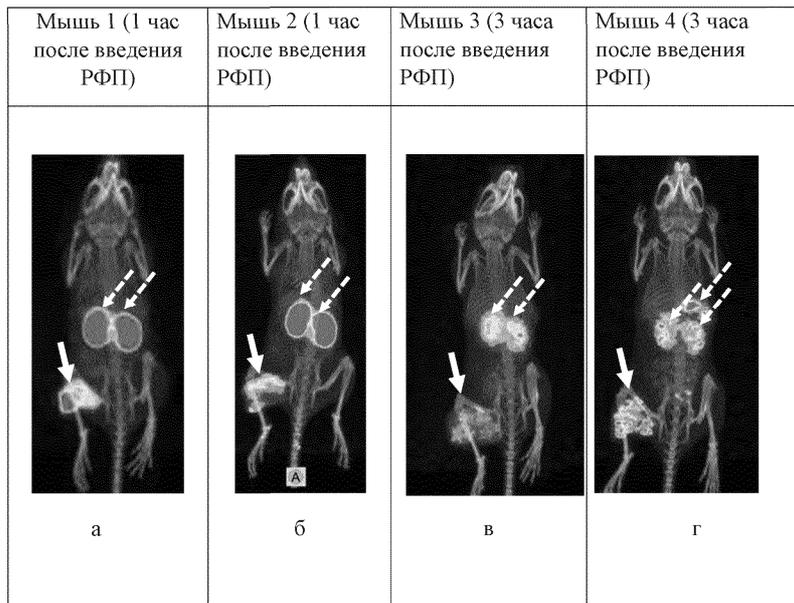
Фиг. 1



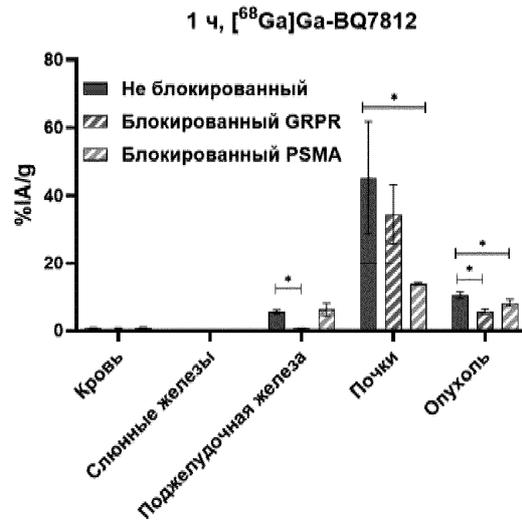
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

