

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В
СООТВЕТСТВИИ С ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро

(43) Дата международной публикации
31 мая 2019 (31.05.2019)



(10) Номер международной публикации
WO 2019/103635 A1

(51) Международная патентная классификация:
A61K 49/10 (2006.01) *C07H 3/02* (2006.01)

(21) Номер международной заявки: РСТ/RU2017/000869

(22) Дата международной подачи:
21 ноября 2017 (21.11.2017)

(25) Язык подачи: Русский

(26) Язык публикации: Русский

(71) Заявитель: **ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "СОЛЬВЕКС" (SOLVEX
LIMITED LIABILITY COMPANY)** [RU/RU]; Терри-
тория инновационного центра Сколково, ул. Нобеля, 7,
пом.77, Москва, 143026, Moscow (RU).

(72) Изобретатели: **ЛЕСИВ, Алексей Валерьевич
(LESIV, Aleksei Valerievich)**; Институтский переулок,
8а, кв. 27, Долгопрудный, 141700, Dolgoprudny (RU).
**ИВАШКИН, Павел Евгеньевич (IVASHKIN, Pavel
Evgenievich)**; Пятницкое шоссе, 37, кв. 96, Москва,
125430, Moscow (RU). **ГУЛЯЕВ, Михаил Владими-
рович (GULYAEV, Mikhail Vladimirovich)**; ул. Ан-
ны Ахматовой, 6, кв. 240, поселение Внуковское,
Москва, 108811, poselenie Vnukovskoe, Moscow (RU).
**ДОРОФЕЕВА, Евгения Олеговна (DOROFEEVA,
Evgeniya Olegovna)**; 2-ой Самотечный переулок, 1, кв.
23, Москва, 127473, Moscow (RU). **КОСЕНКОВ, Алек-
сей Викторович (KOSENKOV, Aleksei Viktorovich)**;
ул. Никулинская, 23, корп. 3, кв. 996, Москва, 119602,
Moscow (RU). **КИСЕЛЕВСКИЙ, Михаил Валентино-
вич (KISELEVSKY, Mikhail Valentinovich)**; ул. Ассе-
ва, 6, кв. 38, Москва, 125319, Moscow (RU). **ПОЛЬША-**

**КОВ, Владимир Иванович (POLSHAKOV, Vladimir
Ivanovich)**; ул. Фотиевой, 7, кв. 135, Москва, 119333,
Moscow (RU).

(74) Агент: **КОТЛОВ, Дмитрий Владимирович и др.
(KOTLOV, Dmitry Vladimirovich et al.)**; ООО
"ЦИС "Сколково", Территория инновационного центра
"Сколково", 4, офис 402.1, Москва, 143026, Moscow
(RU).

(81) Указанные государства (если не указано иначе, для
каждого вида национальной охраны): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP,
KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Указанные государства (если не указано иначе, для
каждого вида региональной охраны): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT,
LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE,
SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: PREPARATION FOR MAGNETIC RESONANCE DIAGNOSTICS FOR ONCOLOGICAL DISEASES, COMPRISING DEUTERATED 3-O-METHYLGLUCOSE, AND DIAGNOSTIC METHOD USING SAID PREPARATION

(54) Название изобретения: ПРЕПАРАТ ДЛЯ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, СОДЕРЖАЩИЙ ДЕЙТЕРИРОВАННУЮ 3-О-МЕТИЛГЛЮКОЗУ, И СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭТОГО ПРЕПАРАТА

(57) Abstract: The invention relates to medicine, particularly to agents for magnetic resonance diagnostics for oncological diseases. Developed for this purpose are a diagnostic preparation and a diagnostic method based on using said diagnostic preparation, in which a deuterated derivative of 3-O-methylglucose or a mixture of at least two different deuterated derivatives of 3-O-methylglucose is used as said preparation. The method according to the invention includes conducting magnetic resonance imaging and/or magnetic resonance spectroscopy on deuterium nuclei at a time after administration of the diagnostic preparation sufficient for the diagnostic preparation to accumulate in the tumor tissue of a subject in order to produce a magnetic resonance image and/or a magnetic resonance spectrum accordingly. The proposed method enables a highly informed diagnosis of oncological diseases.

(57) Реферат: Изобретение относится к медицине, а именно к средствам для магнитно-резонансной диагностики онкологических заболеваний. Для этого разработан диагностический препарат и способ диагностики, основанный на использовании диагностического препарата, в качестве которого используют дейтерированное производное 3-О-метилглюкозы или смесь, по меньшей мере, двух разных дейтерированных производных 3-О-метилглюкозы. Способ по изобретению включает проведение магнитно-резонансной томографии и/или магнитно-резонансной спектроскопии на ядрах дейтерия после введения диагностического препарата через время, достаточное для накопления диагностического препарата в опухолевой ткани субъекта для получения, соответственно, МР-изображения и/или МР-спектра. Предложенный способ позволяет с высокой информативностью осуществлять диагностику онкологических заболеваний.

Опубликована:

— с отчётом о международном поиске (статья 21.3)

Препарат для магнитно-резонансной диагностики онкологических заболеваний, содержащий дейтерированную 3-О-метилглюкозу, и способ диагностики с использованием этого препарата

Область техники

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

Уровень техники

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

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

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

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

К настоящему моменту описано несколько случаев применения ^2H ЯМР и/или ^2H MPT *in vivo*. В документе US20030211036 A1 был предложен способ измерения перфузии опухолевых тканей с помощью изотопно меченых соединений, включая дейтерированные соединения.

5 В документе US5042488 была показана возможность регистрации фонового сигнала дейтерия, а также сигнала дейтерия после инъекции D_2O и 1-дейтероглюкозы *in vivo* (в печени крысы). Отмечается, что изобретение также может быть осуществлено с использованием других меченых дейтерием индикаторов кровотока.

10 В документе US20100322865 A1 описывается применение метаболитических прекурсоров воды для оценки скорости метаболизма путем проведения ^2H MPT. В качестве примера метаболитического предшественника HOD приводится 1,2,3,4,5,6,6-дейтерированная глюкоза. В рамках описанного изобретения осуществляется регистрация только ЯМР сигналов на дейтерии метаболитической воды и алифатической цепи жирных кислот, и отсутствуют ЯМР сигналы дейтерированной
15 глюкозы.

Проведена оценка потребления глюкозы мозгом крысы на основании зарегистрированных ЯМР-спектров после введения 6,6-дейтерированной глюкозы *in vivo* [Ming Lu et. al., Quantitative assessment of brain glucose metabolic rates using *in vivo* deuterium magnetic resonance spectroscopy, JCBFM, 2017, 1-13].

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

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

Раскрытие изобретения

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

Технический результат данного изобретения заключается в создании нового и эффективного диагностического препарата, который может использоваться в диагностике онкологических заболеваний, в частности, рака молочной железы. Техническим результатом настоящего изобретения также является разработка нового
35 эффективного и информативного способа диагностики онкологических заболеваний

методом магнитно-резонансной томографии и/или магнитно-резонансной спектроскопии на ядрах дейтерия, включающего введение диагностического препарата по изобретению, который способен накапливаться в опухолевой ткани в концентрации, достаточной для регистрации информативной дейтериевой томограммы или ^2H -ЯМР спектра *in vivo*.

Диагностический препарат по изобретению характеризуется тем, что в нем реализуется сочетание таких факторов как высокое содержание атомов дейтерия в препарате, его способности накапливаться в опухоли за приемлемое время в концентрации, достаточной для проведения диагностики, характеризующейся при этом низкой токсичностью, и практически полным выведением препарата из организма в неизменном виде. Это позволяет проводить диагностику с использованием безвредных для организма дозировок препарата.

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

Данный технический результат обеспечивается за счет разработки и создания диагностического препарата, включающего дейтерированное производное 3-О-метилглюкозы или смесь, по меньшей мере, двух разных дейтерированных производных 3-О-метилглюкозы, для диагностики онкологических заболеваний методом магнитно-резонансной томографии и/или магнитно-резонансной спектроскопии на ядрах дейтерия.

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

В частных вариантах воплощения изобретения дейтерированное производное 3-О-метилглюкозы представляет собой 3-О- CD_3 -глюкозу, 3-О- CD_2H -глюкозу, 3-О- CDH_2 -глюкозу, 6,6-дидейтеро-3-О- CD_3 -глюкозу, 6,6-дидейтеро-3-О- CD_2H -глюкозу, 6,6-дидейтеро-3-О- CDH_2 -глюкозу, 6,6-дидейтеро-3-О- CH_3 -глюкозу.

В других частных вариантах воплощения изобретения диагностический препарат представляет собой смесь, по меньшей мере, двух разных дейтерированных производных 3-О-метилглюкозы, выбранных из 3-О-CD₃-глюкозы и/или 3-О-CD₂H-глюкозы и/или 3-О-CDH₂-глюкозы и/или 6,6-дидейтеро-3-О-CD₃-глюкозы и/или 6,6-дидейтеро-3-О-CD₂H-глюкозы и/или 6,6-дидейтеро-3-О-CDH₂-глюкозы и/или 6,6-дидейтеро-3-О-CH₃-глюкозы и/или любых других дейтерированных производных 3-О-метилглюкозы. В частных вариантах воплощения изобретения диагностический препарат необязательно включает недейтерированную 3-О-метилглюкозу.

В частных вариантах воплощения изобретения компоненты диагностического препарата наряду с атомами дейтерия, связанными с атомами углерода, содержат атомы дейтерия, частично или полностью замещающие подвижные атомы водорода, связанные с атомами кислорода.

Изобретение также включает получение диагностического препарата по изобретению.

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

а) вводят субъекту диагностический препарат по изобретению;

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

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

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

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

жидкостей на онкомаркеры и/или радионуклидой диагностики и/или визуального наблюдения.

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

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

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

В частных вариантах воплощения изобретения диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения интенсивности сигнала ядер дейтерия в соседних вокселях, находящихся по разные стороны границы нормальной ткани и ткани с подозрением на новообразование по данным ^1H МРТ.

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

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

В частных вариантах воплощения изобретения при регистрации томограммы используется селективное возбуждение ядер дейтерия диагностического препарата.

В частных вариантах воплощения изобретения при регистрации томограммы используется широкополосное возбуждение ядер дейтерия диагностического препарата.

В частных вариантах воплощения изобретения диагностический препарат вводят субъекту перорально.

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

В частных вариантах воплощения изобретения магнитно-резонансную томографию и/или магнитно-резонансную спектроскопию на ядрах дейтерия проводят через 20-210 минут после введения диагностического препарата.

В частных вариантах воплощения изобретения диагностический препарат вводят субъекту в количестве, соответствующем 1-3.5 г дейтерированного производного 3-О-метилглюкозы или смеси дейтерированных производных 3-О-метилглюкозы на 1 кг массы тела субъекта.

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

Краткое описание чертежей

- 10 **Фигура 1.** ^2H ЯМР спектр образца, моделирующего накопление 3- OCD_3 -глюкозы в опухоли в теле животного.

Фигура 2. Дейтериевая томограмма образца, содержащего разбавленный раствор дейтерированного диагностического препарата (а) широкополосное возбуждение, б) селективное возбуждение на частоте 3-О-метилглюкозы).

- 15 **Фигура 3.** Распределение 3- OCD_3 -глюкозы в теле мыши с опухолью в брюшной области (а) и контрольной мыши без опухоли (б) через 70 минут после введения препарата.

Фигура 4. Томограммы контрольной мыши без опухоли через 40 мин после введения 72 мг 3- OCD_3 -глюкозы:

- 20 а) ^2H томограмма;
б) ^1H томограмма.

Фигура 5. Томограммы мыши с карциномой молочной железы 4T1 через 20 мин после введения 72 мг 3- OCD_3 -глюкозы:

- 25 а) ^2H томограмма (положение поверхностной катушки показано белым контуром);
б) ^1H томограмма;
в) комбинированная томограмма.

Фигура 6. Томограммы мыши с карциномой молочной железы 4T1 через 40 мин после введения 72 мг 3- OCD_3 -глюкозы:

- а) ^2H томограмма;

б) ^1H томограмма;

в) комбинированная томограмма.

Фигура 7. Томограммы мышцы с карциномой молочной железы 4T1 через 210 мин после введения 72 мг 3-OCD₃-глюкозы:

5 а) ^2H томограмма;

б) ^1H томограмма;

в) комбинированная томограмма.

Фигура 8. Томограммы мышцы с карциномой молочной железы 4T1 через 320 мин после введения 72 мг 3-OCD₃-глюкозы:

10 а) ^2H томограмма;

б) ^1H томограмма;

Фигура 9. Томограммы мышцы с карциномой молочной железы 4T1 через 50 мин после введения 20 мг 3-OCD₃-глюкозы:

а) ^2H томограмма;

15 б) ^1H томограмма;

в) комбинированная томограмма.

Фигура 10. Томограммы мышцы с карциномой молочной железы 4T1 после перорального введения 70 мг 3-OCD₃-глюкозы:

(а) ^2H МРТ через 15 минут;

20 (б) ^1H МРТ через 15 минут;

(в) наложение ^2H МРТ и ^1H МРТ через 15 минут;

(г) ^2H МРТ через 100 минут;

(д) ^1H МРТ через 100 минут;

(е) наложение ^2H МРТ и ^1H МРТ через 100 минут.

25 **Определения и термины**

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

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

Под термином «**дейтерированный**» или «**дейтерированное производное**» в данном документе понимается соединение, содержащее дейтерий, связанный с углеродом, в количестве, превышающем его природное содержание, по меньшей мере, в одном положении. В частных случаях воплощения изобретения содержание дейтерия, по меньшей мере, в одном положении, превышает 30%, в других частных случаях – 90%. Символом «D» в данном документе обозначается атом водорода, представленный изотопом ^2H в доле, превышающей его природное содержание. Под «смесью, по меньшей мере, двух разных дейтерированных производных» понимается смесь соединений, содержащих дейтерий в разных положениях молекулы 3-О-метилглюкозы, или содержащих разное количество дейтерия в одном и том же положении.

Под термином «**воксел**» в данном документе понимается произвольно выбираемый путем настройки параметров магнитного поля объем образца, в котором производится регистрация сигнала ядерного магнитного резонанса.

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

25 Подробное раскрытие изобретения.

Несмотря на то, что накопление очень малых количеств радиоактивно меченой [^{18}F]фтордезоксиглюкозы в опухолях является хорошо изученным явлением и используется для диагностики в позитронно-эмиссионной томографии, относительно низкая чувствительность МРТ и фоновое содержание дейтерия в воде (HOD) и тканях требуют создания в опухоли намного более высокой концентрации диагностического препарата. Так, [^{18}F]фтордезоксиглюкоза применяется в дозировках порядка 10^{-11} моль/кг (с учетом типичной специфической активности около 10^3 Ки/моль и типичной дозы около 10 мКи), однако такие данные не позволяют предсказать эффективность накопления соединений по изобретению в опухолевых клетках в необходимой для реализации данного изобретения

концентрации (по результатам проведенных авторами исследований, практически применимые дозы препарата по изобретению составляют порядка 10^{-3} моль/кг).

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

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

Авторами данного изобретения были проведены исследования по изучению дейтерированных производных глюкозы в качестве диагностических препаратов, при этом было установлено, что не все производные глюкозы могут применяться для диагностики онкологических заболеваний посредством ^2H МРТ или ^2H ЯМР. Так, в частности, предварительные эксперименты с 6,6- D_2 -глюкозой свидетельствуют о невозможности достоверной визуализации опухоли при использовании этого соединения (слабый контраст, малое отношение сигнал/шум).

Неожиданно было обнаружено, что дейтерированные производные 3-О-метилглюкозы способны накапливаться в опухолевой ткани в концентрации, достаточной для визуализации опухолей *in vivo* методом ^2H МРТ или ^2H ЯМР, что в свою очередь позволяет осуществлять эффективную диагностику онкологических заболеваний посредством магнитно-резонансной томографии на ядрах дейтерия.

Благодаря низкому содержанию дейтерия в организме (0.015% атомов водорода), фоновые сигналы в ^2H МРТ на несколько порядков ниже, чем в ^1H МРТ. Разработка аналогичных методов с использованием недейтерированных диагностических препаратов на основе ^1H МРТ затруднена из-за существования

большого количества фоновых сигналов естественных низкомолекулярных соединений с интенсивностью, сравнимой с максимальной достижимой интенсивностью сигнала дейтерированного диагностического препарата. В то же время, присутствие фонового сигнала HOD накладывает ограничения на минимальную приемлемую для ^2H MPT концентрацию диагностического препарата в опухоли. 5
Возможность практической реализации метода диагностики по изобретению зависит от фармакокинетики и фармакодинамики конкретного диагностического препарата.

Возможность регистрации сигнала дейтерия *in vivo* также определяется достаточным числом атомов дейтерия в структуре соединения. Так диагностический препарат по изобретению, включающий дейтерированную 3-О-метилглюкозу, 10
содержащую CD_3 группу и/или CD_2OH группу, является предпочтительным вариантом воплощения данного изобретения. Наличие таких дейтерированных групп позволяет проводить диагностику с использованием более низких концентраций диагностического препарата, что приводит к минимизации побочных эффектов.

Способ по изобретению позволяет диагностировать наличие или отсутствие онкологического заболевания. Метод по изобретению основан на использовании дейтерированного диагностического препарата и регистрации томограмм и/или ЯМР спектров на частоте дейтерия. 15

Известно, что ^1H MPT сама по себе во многих случаях обладает недостаточной диагностической точностью, в то время как способ по изобретению предоставляет данные о молекулярном транспорте глюкозы, недоступные в традиционных способах воплощения ^1H MPT, и таким образом, потенциально позволяет получить более точную диагностическую информацию. 20

В одном из вариантов воплощения изобретения процесс диагностики включает проведение MPT и осуществляется следующим образом: 25

а) в некоторых вариантах воплощения изобретения проводится MPT на ядрах протия (^1H). Регистрация ^1H MPT позволяет, во-первых, осуществить анатомическую привязку дейтериевого сигнала, во-вторых, идентифицировать области с подозрением на злокачественное образование (в других вариантах воплощения изобретения 30
определение области проведения ^2H MPT может быть осуществлено другими способами, в частности, посредством ультразвукового исследования, компьютерной томографии, рентгенографии, пальпации, биопсии, анализа биологических жидкостей на онкомаркеры, радионуклидной диагностики, визуального наблюдения);

б) вводится диагностический препарат;

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

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

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

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

б) вводится диагностический препарат;

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

г) интенсивность сигнала в вокселях, соответствующих области с подозрением на злокачественное образование, сравнивается, в частности, с: (i) типичными значениями

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

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

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

МРТ изображения и МР спектры по данному изобретению могут быть получены на любом магнитно-резонансном томографе, оснащенном оборудованием для регистрации сигнала дейтерия.

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

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

Сигнал диагностического препарата по изобретению может регистрироваться до 3 часов после введения, причем распределение препарата в опухоли и других органах меняется на протяжении всего этого времени. Так, сигнал диагностического

препарата в первую очередь проявляется в почках, затем в отдельных областях опухоли, вероятно, соответствующих областям наиболее активного роста и с наилучшим кровоснабжением. Максимум сигнала дейтерия во всем объеме опухоли при внутривенном введении наблюдается спустя примерно 1 час, в дальнейшем характер распределения диагностического препарата продолжает меняться, причем области опухоли с наилучшим кровоснабжением в первую очередь теряют диагностический препарат. Благодаря такому поведению, повторное проведение томографии на протяжении нескольких часов после введения диагностического препарата по изобретению позволяет получать информацию о скорости его накопления и вымывания для отдельных частей опухоли, а также оценивать общий объем распространения опухоли. Получение подобной информации о строении опухоли и характерной для нее динамике накопления с использованием, например, короткоживущего ^{11}C -меченого аналога для ПЭТ не представляется возможным ввиду очень короткого периода полураспада (20 минут) и невозможности увеличения дозы радиофармпрепарата из-за сопутствующего увеличения радиационной нагрузки.

Проведенные эксперименты свидетельствуют о селективности накопления препарата по изобретению в опухолевой ткани по сравнению с печенью, скелетными мышцами и другими органами и тканями в приемлемых для ^2H МРТ дозах. Также было обнаружено, что при введении эквивалентных доз диагностического препарата по изобретению животным с различными опухолями наблюдаются различия в динамике накопления и максимальной интенсивности сигнала дейтерия, коррелирующие с типом опухоли. В сочетании с данными ^1H МРТ или другими дополнительными методами диагностики, препарат и способ по изобретению может быть использован для идентификации опухоли в случаях, когда ее тип неизвестен.

Исследования, проведенные авторами изобретения, свидетельствуют о хорошей переносимости диагностического препарата животными, отсутствии видимых побочных эффектов при использовании в указанных дозах и полном выведении дейтерий-содержащих соединений из организма в течение нескольких часов. Так, при внутривенном введении препаратов по изобретению мышам дозировкой 8 г/кг не наблюдалась гибель животных, а через 6 часов после введения препарат не наблюдался в опухоли по данным ^2H магнитно-резонансной томографии. Фоновая концентрация дейтерия в опухоли и других тканях при этом оставалась прежней. Поскольку использование диагностического препарата по изобретению не сопряжено с включением дейтерированных соединений в метаболические процессы, снижается вероятность развития долгосрочных побочных эффектов. Кроме того, полное выведение дейтерия из опухолевых тканей позволяет

проводить повторную диагностику, например, через 6 часов и следить за динамикой развития опухоли в процессе тех или иных методов лечения.

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

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

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

Осуществление изобретения.

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

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

Приведенные в данном документе примеры служат иллюстрациями принципа действия разработанного метода, и не ограничивают диапазон используемых доз, а также диапазон времени между введением диагностического препарата и регистрацией сигнала дейтерия, поскольку в зависимости от чувствительности и других параметров используемого оборудования, диагностируемого заболевания и

природы субъекта (человек или лабораторное животное) необходимые дозы и время, необходимое для накопления, могут отличаться. Кроме того, приведенные параметры регистрации спектров и томограмм, включая время накопления сигнала, являются частью конкретных вариантов воплощения изобретения и могут меняться в зависимости от используемого оборудования и конкретных диагностических задач.

Синтез 3-О-CD₃-глюкозы

Диацетон-D-глюкозу (5 г, 19,2 ммоль) растворяют в ДМФА (10 мл), при охлаждении до 0 °С и перемешивании добавляют NaN (60%) (1,1 г). Реакционную смесь выдерживают при перемешивании в течение 1 часа при комнатной температуре, а затем по каплям добавляют CD₃I (1,5 мл). Через 2 часа реакционную смесь выливают в ледяную воду и экстрагируют органическую фазу этилацетатом, моют дважды водой. Органическую фазу упаривают, затем растворяют в ТГФ (15 мл), добавляют CF₃COOH (2 мл) и воду (1 мл). Реакционную смесь кипятят в течение 5 часов. Затем добавляют 10 мл толуола и упаривают. Из остатка колоночной хроматографией на силикагеле выделяют 3-О-CD₃-глюкозу (2,6 г, 70%).

α -Изомер: ¹H NMR (600 MHz, D₂O): δ 5.21 (d, 1H, J₁₋₂=3.7 Hz, H-1), 3.83 (m, 2H, H-4, H-6^A), 3.74 (dd, 1H, J_{5-6B}=5.4 Hz, J_{6A-6B}=12.4 Hz, H-6^B), 3.58 (m, 1H, H-2), 3.47 (m, 2H, H-3, H-5). ¹³C NMR (151 MHz, D₂O): δ 93.3 (C-1), 83.8 (C-3), 72.7 (C-4), 72.2 (C-2), 70.3 (C-5), 61.7 (C-6). β -Изомер: ¹H NMR (600 MHz, D₂O): δ 4.84 (d, 1H, J₁₋₂=7.3 Hz, H-1), 3.88 (dd, 1H, J_{5-6A}=1.8 Hz, J_{6A-6B}=12.4 Hz, H-6^A), 3.70 (dd, 1H, J_{5-6B}=5.4 Hz, J_{6A-6B}=12.4 Hz, H-6^B), 3.47 (m, 2H, H-4, H-5), 3.28 (m, 2H, H-2, H-3). ¹³C NMR (151 MHz, D₂O): δ 97.1 (C-1), 86.5 (C-3), 77.0 (C-4), 74.7 (C-2), 70.2 (C-5), 61.9 (C-6).

Аналогично при использовании реагента вида CH_xD_(3-x)I (0<x<3) получают частично дейтерированную 3-О-(CH_xD_(3-x))-глюкозу. При использовании в качестве субстрата 6,6-дидейтеро-диацетон-D-глюкозы в сочетании с реагентом вида CH_yD_(3-y)I (0≤y≤3) получают 3-О-(CH_yD_(3-y))-6,6-дидейтероглюкозу (в частности, 3-О-метил-6,6-дидейтероглюкозу или 3-О-CD₃-6,6-дидейтероглюкозу).

При использовании CF₃COOD и/или D₂O при удалении защитных групп, а также путем выдерживания конечного продукта в D₂O с последующим упариванием получают дейтерированную 3-О-метилглюкозу с частично или полностью дейтерированными гидроксильными группами.

Для демонстрации принципиальной возможности регистрации ЯМР сигнала дейтерия при накоплении в ограниченном объеме малых количеств диагностического препарата был проведен эксперимент, моделирующий накопление 3-О-CD₃-глюкозы в

опухоли в теле животного (пример 1, фигура 1). Показано, что чувствительности метода достаточно для регистрации с помощью дейтериевой томографии таких малых количеств 3-OCD₃-глюкозы как 5 мкмоль, распределенных в объеме 1 мл.

Показана возможность регистрации дейтериевой томограммы образца, содержащего раствор 3-OCD₃-глюкозы с использованием широкополосного и селективного радиочастотного импульса (пример 2).

Эксперименты *in vivo* (пример 3, 4) демонстрируют возможность регистрации дейтериевых томограмм и ЯМР спектров *in vivo* и способность 3-OCD₃-глюкозы накапливаться в опухолях. Показана возможность диагностики опухоли, в частности, опухоли молочной железы, на основании наблюдаемого сигнала дейтерированного диагностического препарата.

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

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

Для экспериментов с широкополосным возбуждением использовались следующие настройки: частота возбуждения определялась по ²H ЯМР спектру и составляла $sfo1 \approx 46.1745$ МГц, прямоугольный возбуждающий импульс шириной 1300 Гц и мощностью 36 dB, угол отклонения $FA = 30^\circ$, время повторения $TR = 11.8$ мс, время эхо $TE = 4.4$ мс, область сканирования 10 см x 10 см, матрица сканирования 50 x 50, толщина среза 3 см, ширина пропуска частот 12500 Гц, общее время сканирования 10 минут (1030 накоплений).

Для экспериментов с селективным возбуждением использовались следующие настройки: частота возбуждения $sfo1 = 46.1745$ МГц, прямоугольный возбуждающий импульс шириной 130 Гц и мощностью 48 dB, угол отклонения $FA = 30^\circ$, время повторения $TR = 25$ мс, время эхо $TE = 10$ мс, область сканирования 10 см x 10 см, матрица сканирования 50 x 50, толщина среза 3 см, ширина пропуска частот 25000 Гц, общее время сканирования 10 минут.

Пример 1. Регистрация ²H спектра диагностического препарата, сосредоточенного в малом объеме образца (модель накопления 3-OCD₃-глюкозы в опухоли в теле животного)

Для демонстрации принципиальной возможности регистрации сигнала дейтерия при накоплении в ограниченном объеме малых количеств 3-OCD₃-глюкозы был проведен следующий эксперимент.

Раствор 1 мг (5 мкмоль) 3-OCD₃-глюкозы в 1 мл дистиллированной воды (с естественным содержанием дейтерия) был помещен в цилиндрическую пластиковую пробирку объемом 1.5 мл. Полученная пробирка с раствором была помещена в

цилиндрический пластиковый контейнер объемом 50 мл и диаметром 25 мм, наполненный дистиллированной водой (с естественным содержанием дейтерия). Полученная система контейнеров была расположена в полости томографа. Поверхностная приемопередающая катушка диаметром 3 см и глубиной сканирования около 1 см располагалась непосредственно над внутренней пробиркой. Спектр дейтерия снимался с опорной частотой 46.1746780 МГц. Применялась импульсная последовательность, состоящая из одного 90° импульса (256 накоплений, задержка между импульсами 0.1 с).

На фигуре 1 приведен спектр дейтерия, полученный в вышеописанном эксперименте. Большой пик отвечает сигналу HOD (естественное содержание 15 ммоль/л), малый пик отвечает дейтерированной 3-О-метилглюкозе. Данный эксперимент показывает, что ^2H ЯМР спектроскопия с использованием поверхностной катушки обладает чувствительностью, достаточной для регистрации таких малых количеств 3-О-метилглюкозы как 5 мкмоль объеме 1 мл, окруженном большим избытком воды.

Пример 2. Регистрация дейтериевой томограммы образца, содержащего разбавленный раствор дейтерированного диагностического препарата.

Для демонстрации возможности регистрации дейтериевой томограммы разбавленного раствора диагностического препарата был проведен следующий эксперимент.

Стекланный флакон, содержащий 5 мл раствора 3-О-CD₃-глюкозы (20 мг) в дистиллированной воде, помещался в полости томографа. Поверхностная приемопередающая катушка диаметром 3 см и глубиной сканирования около 1 см располагалась непосредственно над флаконом.

На фигуре 2 показаны дейтериевые томограммы образца с 3-О-CD₃-глюкозой, полученные с применением широкополосного (слева) и селективного (справа) возбуждения.

Пример 3. Накопление 3-ОCD₃-глюкозы в опухоли мыши.

В данном эксперименте использовались: нелинейная мышь со спонтанной опухолью в брюшной области и нелинейная контрольная мышь без опухоли.

Животному весом 30 г вводился внутривенно раствор 60 мг 3-О-CD₃-глюкозы в 0.3 мл физраствора. После инъекции животное содержалось в отдельной клетке со свободным доступом к пище и воде в течение 70 мин. Для съемки спектров животное обездвигивалось препаратом "изофлуран". Поверхностная приемопередающая катушка закреплялась на теле мыши последовательно в

четырёх положениях (голова, грудь, таз, вблизи опухоли). Спектры дейтерия снимались на томографе Bruker BioSpec BC70/30 USR с постоянным полем 7,05 Тл с опорной частотой 46.1746780 МГц. Применялась последовательность, состоящая из одного 90° импульса (64 накопления, задержка между импульсами 2 с).

5 На фигуре 3 показано распределение дейтерированной 3-метилглюкозы в теле мыши с опухолью (фиг.3, а) и контрольной мыши без опухоли (фиг.3, б) через 70 минут после введения препарата (слева направо: голова, грудь, таз, вблизи опухоли). Как можно видеть из фигуры, в случае безопухолевой мыши происходит полное выведение 3-ОCD₃-глюкозы, в то время как у мыши с опухолью сохраняется
10 дейтериевый сигнал вблизи опухоли, что говорит о наличии опухолевого заболевания. Эксперимент показывает возможность накопления 3-О-CD₃-глюкозы в опухоли в концентрации, достаточной для детектирования с помощью дейтериевой спектроскопии.

15 **Пример 4. Использование дейтериевой томографии для визуализации карциномы молочной железы мыши 4T1 *in vivo* с использованием 3-ОCD₃-глюкозы в качестве диагностического препарата.**

В данном примере проводились эксперименты на мышах Balb/c с привитой карциномой молочной железы 4T1 (инъекция 5×10⁵ клеток/60 мкл под левой
20 передней лапой за 10 дней до эксперимента) и на здоровых мышах Balb/c.

Животному весом 20 г вводился внутривенно, внутривенно или перорально раствор 20-72 мг 3-О-CD₃-глюкозы (внутрибрюшинно: 0.5 мл физраствора; внутривенно: 0.2 мл воды; перорально: 0.25 мл физраствора). После инъекции животное содержалось в отдельной клетке со свободным доступом к пище
25 и воде в течение указанного времени. Для съемки спектров животное обездвигивалось препаратом "изофлуран". Поверхностная приемопередающая катушка закреплялась на теле мыши с дорсальной стороны в области грудного отдела. На фигурах 4-10 приведены ²H томограммы, полученные с применением широкополосного возбуждения ядер дейтерия.

30 На фигуре 4 показаны томограммы, полученные на контрольной мыши №1 без опухоли через 40 минут после внутрибрюшинного введения 3-О-CD₃-глюкозы (а) ²H MPT; б) ¹H MPT). На данной фигуре отсутствует область с сильным сигналом дейтерия.

На фигуре 5 показаны томограммы, полученные на мыши №2 с опухолью
35 через 20 минут после внутрибрюшинного введения 3-О-CD₃-глюкозы: (а) ²H MPT

(положение поверхностной катушки показано белым контуром); б) ^1H МРТ; в) наложение ^2H МРТ и ^1H МРТ).

На фигуре 6 показаны томограммы, полученные на мыши №2 с опухолью через 40 минут после внутрибрюшинного введения 3-О-CD₃-глюкозы: (а) ^2H МРТ; б) ^1H МРТ; в) наложение ^2H МРТ и ^1H МРТ).

На фигуре 7 показаны томограммы, полученные на мыши №2 с опухолью через 210 минут после внутрибрюшинного введения 3-О-CD₃-глюкозы: (а) ^2H МРТ; б) ^1H МРТ; в) наложение ^2H МРТ и ^1H МРТ).

На фигуре 8 показаны томограммы, полученные на мыши №2 с опухолью через 320 минут после внутрибрюшинного введения 3-О-CD₃-глюкозы: (а) ^2H МРТ; б) ^1H МРТ.

На фигурах 5-8 можно видеть, что сигнал дейтерия преимущественно локализован в области, соответствующей опухоли по данным ^1H МРТ.

На основании результатов, проиллюстрированных фигурами 5-8, можно заключить, что:

- 1) диагностические препараты по изобретению, в частности, 3-О-CD₃-глюкоза, накапливаются в опухоли в концентрации, достаточной для визуализации с использованием ^2H МРТ;
- 2) диагностические препараты по изобретению, в частности, 3-О-CD₃-глюкоза, могут использоваться в качестве диагностического препарата для обнаружения злокачественных образований с использованием ^2H МРТ.

На основании результатов, проиллюстрированных фигурами 5-8, можно заключить, что допустимый диапазон времени между введением диагностического препарата по изобретению и регистрацией сигнала дейтерия может составлять для мыши, в частности, 20-210 мин. Следует отметить, что для других животных и для человека данный диапазон может быть существенно шире за счет разницы в фармакокинетике. Кроме того, на основании этих результатов можно заключить, что диагностический препарат выводится из опухоли в течение нескольких часов.

На фигуре 9 показаны томограммы, полученные на мыши №3 с опухолью через 50 минут после внутривенного введения 20 мг 3-О-CD₃-глюкозы: (а) ^2H МРТ; (б) ^1H МРТ; (в) наложение ^2H МРТ и ^1H МРТ. На данной фигуре наблюдается накопление 3-О-CD₃-глюкозы в опухоли. Измеренный с помощью ^1H МРТ объем опухоли составил 180 мм³.

На основании результатов, проиллюстрированных фигурами 5-9, можно заключить, что допустимый диапазон доз диагностического препарата может

составлять, по меньшей мере, 1-3.5 г 3-О-CD₃-глюкозы на 1 кг веса животного. Следует отметить, что для других животных и для человека, а также при ином способе введения (например, оральном или внутривенном) и/или при иных злокачественных заболеваниях данный диапазон может быть иным. В частности, с
5 учетом аллометрических уравнений, описывающих фармакокинетику препаратов в организмах различного размера, можно ожидать снижение необходимой для человека дозы в несколько раз по сравнению с описываемыми здесь дозами.

На фигуре 10 показаны томограммы, полученные на мыши №4 с опухолью через 15 и через 100 минут после перорального введения 70 мг 3-О-CD₃-глюкозы: (а)
10 ²H MPT через 15 минут; (б) ¹H MPT через 15 минут; (в) наложение ²H MPT и ¹H MPT через 15 минут; (г) ²H MPT через 100 минут; (д) ¹H MPT через 100 минут; (е) наложение ²H MPT и ¹H MPT через 100 минут. На данной фигуре видно, как 3-О-CD₃-глюкоза, изначально находящаяся в желудке (15 мин.), со временем накапливается в опухоли (115 мин.).

15 На основании результатов, проиллюстрированных фигурой 10, можно заключить, что диагностический препарат по изобретению может успешно применяться при пероральном введении.

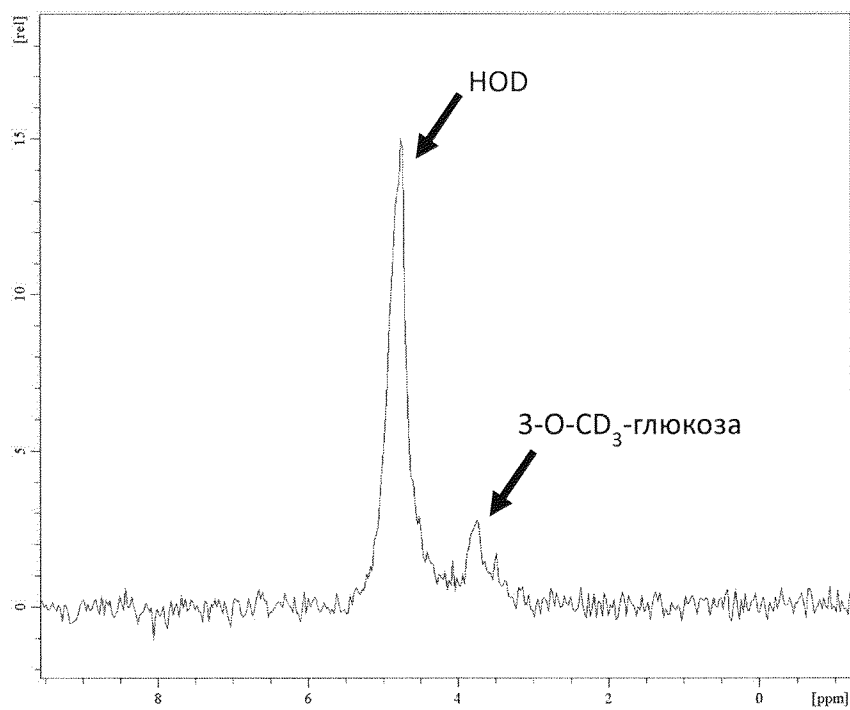
Несмотря на то, что изобретение описано со ссылкой на раскрываемые
20 варианты воплощения, для специалистов в данной области должно быть очевидно, что конкретные подробно описанные эксперименты приведены лишь в целях иллюстрирования настоящего изобретения, и их не следует рассматривать как каким-либо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

Формула изобретения

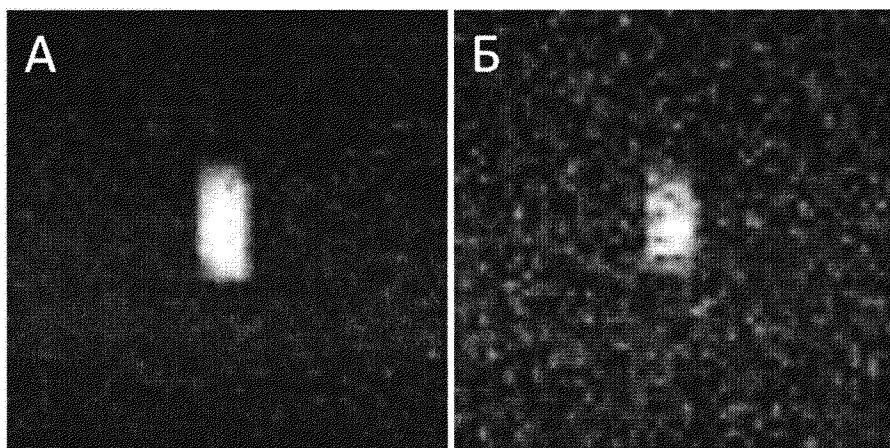
1. Диагностический препарат, включающий дейтерированное производное 3-О-метилглюкозы или смесь, по меньшей мере, двух разных дейтерированных производных 3-О-метилглюкозы, для диагностики онкологического заболевания методом магнитно-резонансной томографии и/или магнитно-резонансной спектроскопии на ядрах дейтерия.
2. Диагностический препарат по п.1, который дополнительно включает, по меньшей мере, одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.
3. Диагностический препарата по п.2, характеризующийся тем, что фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество представляет собой носитель, наполнитель и/или растворитель.
4. Диагностический препарат по п. 1, в котором дейтерированное производное 3-О-метилглюкозы представляет собой 3-О-CD₃-глюкозу, 3-О-CD₂H-глюкозу, 3-О-CDH₂-глюкозу, 6,6-дидейтеро-3-О-CD₃-глюкозу, 6,6-дидейтеро-3-О-CD₂H-глюкозу, 6,6-дидейтеро-3-О-CDH₂-глюкозу или 6,6-дидейтеро-3-О-CH₃-глюкозу.
5. Диагностический препарат по п.1, который включает смесь, по меньшей мере, двух разных дейтерированных производных 3-О-метилглюкозы, выбранных из 3-О-CD₃-глюкозы и/или 3-О-CD₂H-глюкозы и/или 3-О-CDH₂-глюкозы и/или 6,6-дидейтеро-3-О-CD₃-глюкозы и/или 6,6-дидейтеро-3-О-CD₂H-глюкозы и/или 6,6-дидейтеро-3-О-CDH₂-глюкозы и/или 6,6-дидейтеро-3-О-CH₃-глюкозы и/или любых других дейтерированных производных 3-О-метилглюкозы.
6. Диагностический препарата по п.1, который дополнительно включает недейтерированную 3-О-метилглюкозу.
7. Диагностический препарат по п. 1, в котором дейтерированное производное 3-О-метилглюкозы наряду с атомами дейтерия, связанными с атомами углерода в молекуле, содержат атомы дейтерия, частично или полностью замещающие подвижные атомы водорода, связанные с атомами кислорода.
8. Способ диагностики онкологического заболевания у субъекта, включающий следующие этапы:
 - а) вводят субъекту диагностический препарат по п.1;
 - б) проводят магнитно-резонансную томографию и/или магнитно-резонансную спектроскопию на ядрах дейтерия после введения диагностического препарата через время, достаточное для его накопления в опухолевой ткани, для получения, соответственно, томограммы и/или ЯМР спектра;
 - в) диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании наблюдаемой интенсивности сигнала ядер дейтерия, отражающей уровень накопления диагностического препарата.

9. Способ по п.8, в котором в случае отсутствия областей накопления диагностического препарата у субъекта диагностируют отсутствие онкологического заболевания.
- 5 10. Способ по п. 8, в котором проводят, по меньшей мере, одно дополнительное медицинское исследование, выбранное из магнитно-резонансной томографии на ядрах, отличных от ядер дейтерия, ультразвукового исследования, компьютерной томографии, рентгенографии, пальпации, биопсии, анализа биологических жидкостей на онкомаркеры, радионуклидной диагностики и/или визуального наблюдения.
- 10 11. Способ по п.8, в котором диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения интенсивности сигнала ядер дейтерия у исследуемого субъекта с типичной интенсивностью сигнала, наблюдаемой у здоровых субъектов в соответствующей ткани или соответствующем органе.
- 15 12. Способ по п.10, в котором диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения интенсивности сигнала ядер дейтерия в областях, соответствующих нормальной и аномальной ткани по данным дополнительного медицинского исследования.
- 20 13. Способ по п.10, в котором диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения интенсивности сигнала ядер дейтерия в соседних вокселях, находящихся по разные стороны границы нормальной ткани и ткани с подозрением на новообразование по данным ^1H МРТ.
- 25 14. Способ по п.10, в котором диагностируют наличие или отсутствие онкологического заболевания на основании сравнения дейтериевой томограммы исследуемого субъекта с изображением, полученным в результате магнитно-резонансной томографии у субъекта на ядрах протия.
- 30 15. Способ по п.8, в котором по интенсивности сигнала ядер дейтерия и/или ее изменению во времени делается вывод о структуре, злокачественности, агрессивности или степени дифференциации опухоли.
16. Способ по п.8, в котором онкологическое заболевание представляет собой рак молочной железы.
17. Способ по п.8, в котором при регистрации томограммы используется селективное возбуждение ядер дейтерия диагностического препарата.
- 35 18. Способ по п.8, в котором при регистрации томограммы используется широкополосное возбуждение ядер дейтерия.
19. Способ по п. 8, в котором диагностический препарат вводят субъекту перорально.

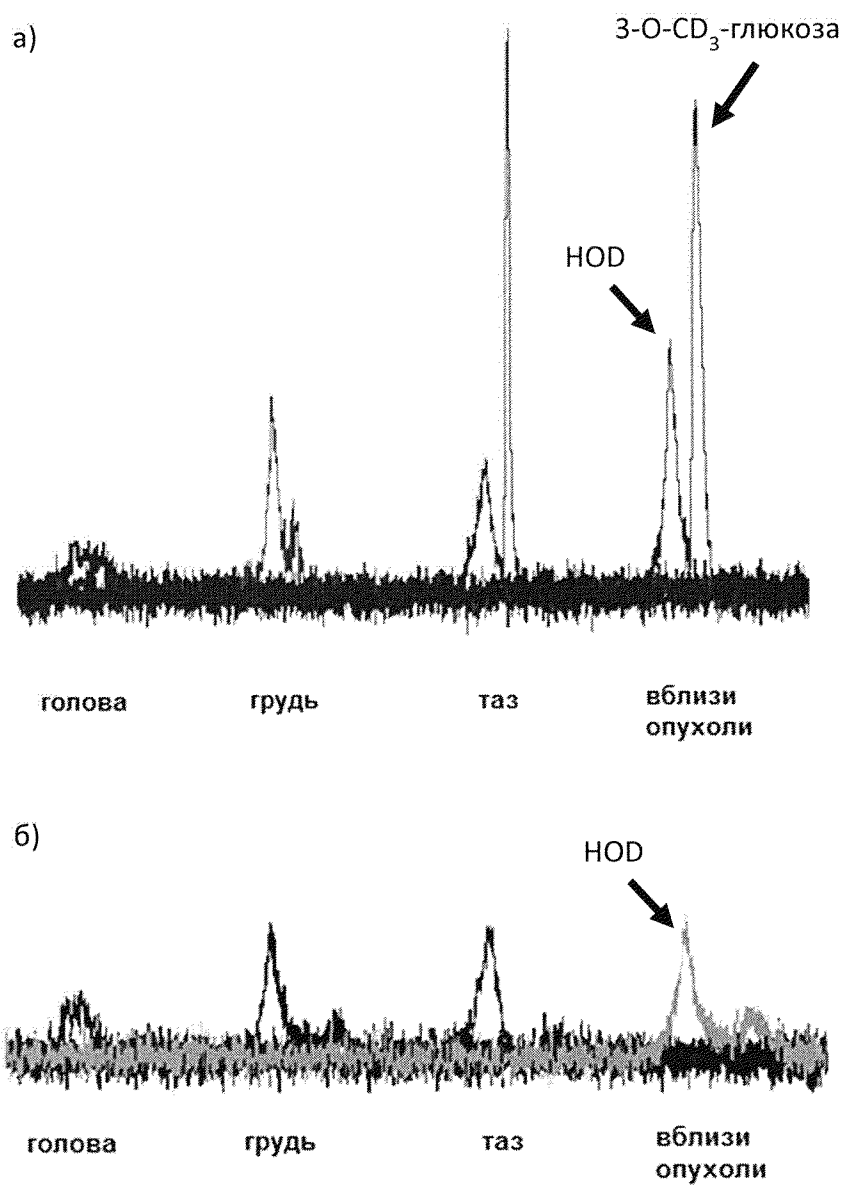
20. Способ по п. 8, в котором диагностический препарат вводят субъекту парентерально.
21. Способ по п. 8, в котором магнитно-резонансную томографию и/или магнитно-резонансную спектроскопию на ядрах дейтерия проводят через 20-210 минут после введения диагностического препарата.
22. Способ по п. 8, в котором диагностический препарат вводят субъекту в количестве, соответствующем 1-3.5 г дейтерированной 3-О-метилглюкозы или смеси дейтерированных производных 3-О-метилглюкозы на 1 кг массы тела субъекта.



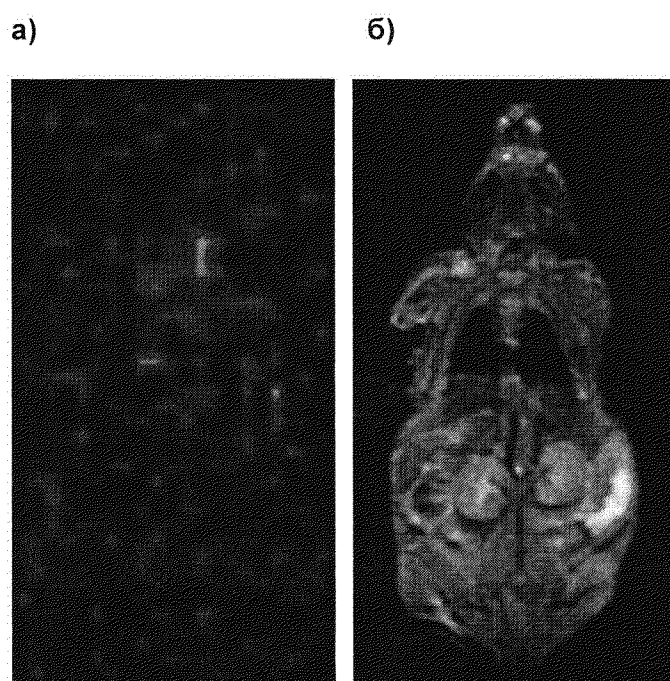
Фигура 1.



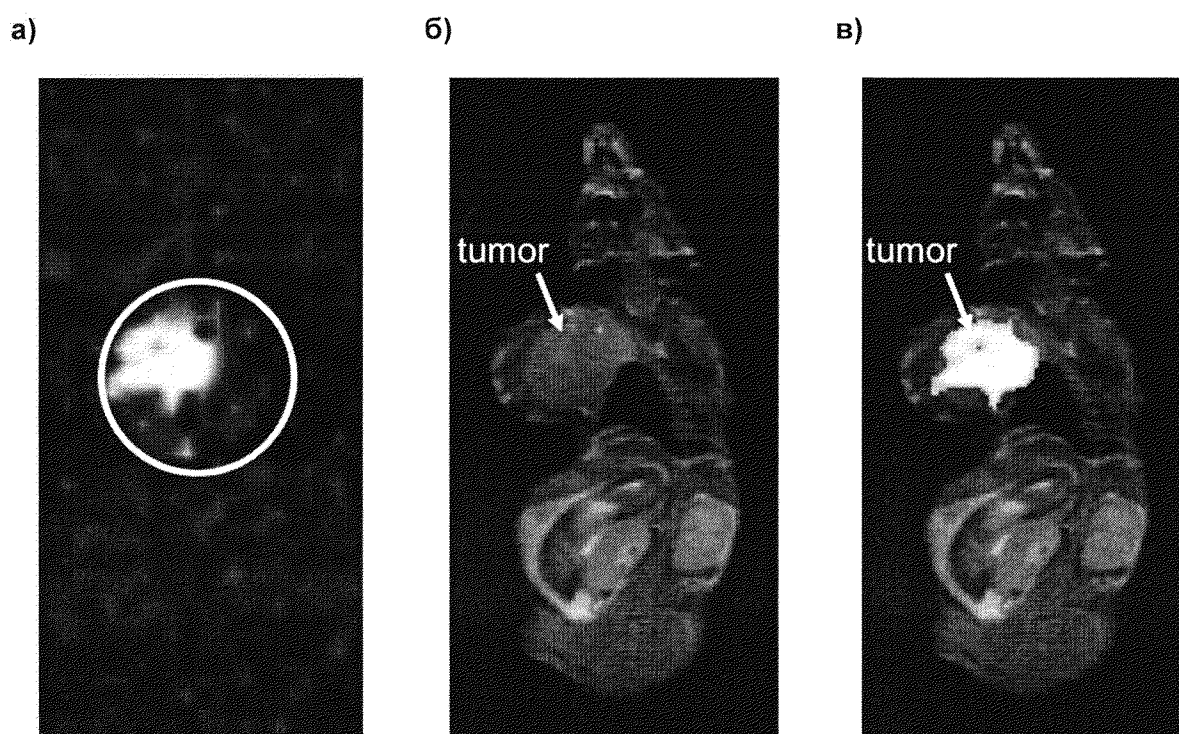
Фигура 2.



Фигура 3.

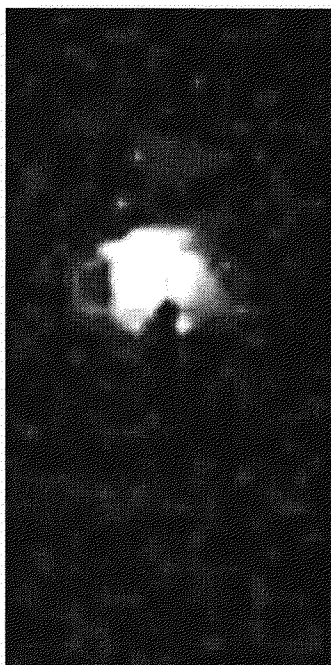


Фигура 4.

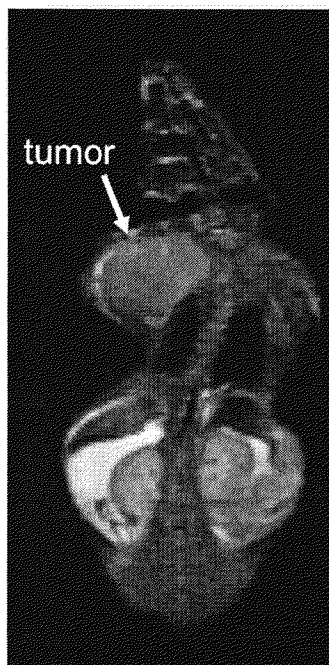


Фигура 5.

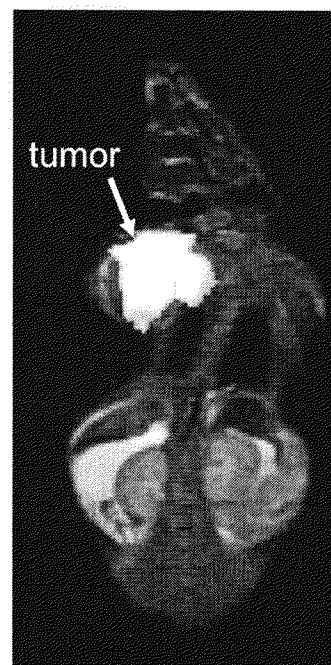
a)



б)

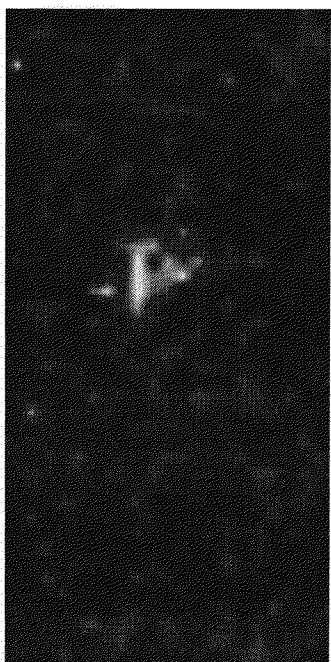


в)



Фигура 6.

a)



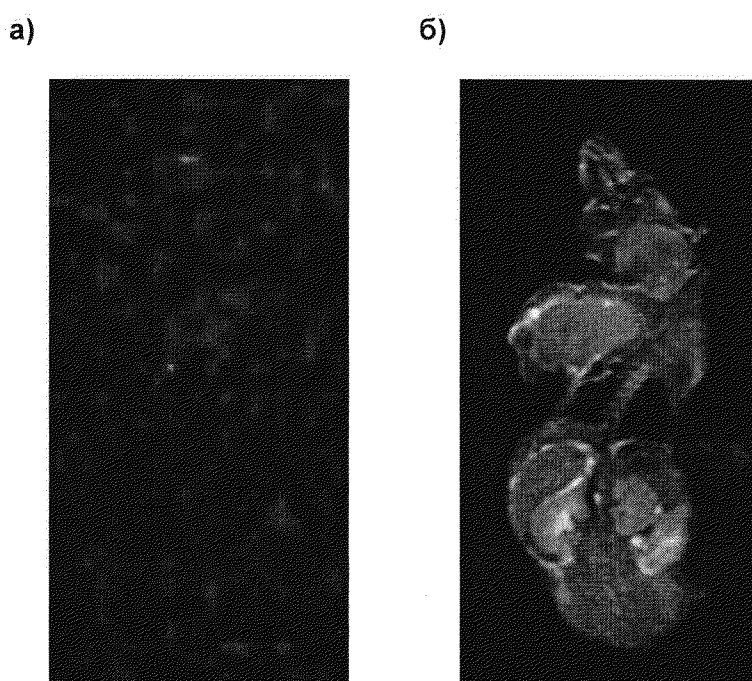
б)



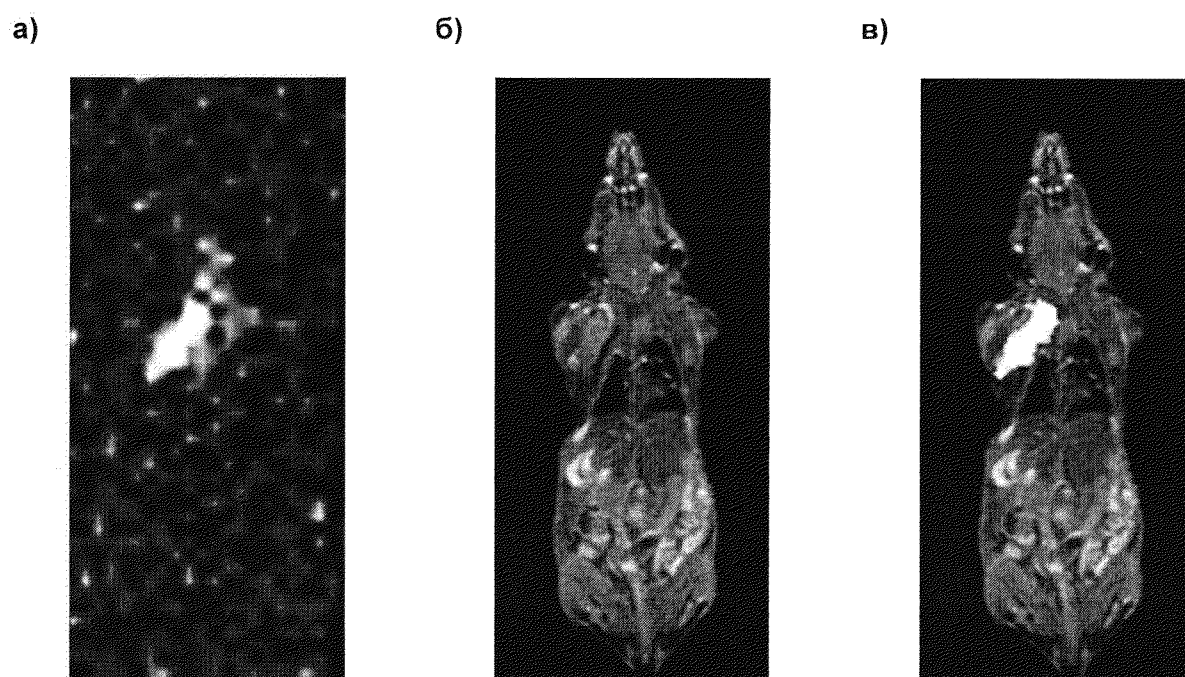
в)



Фигура 7.

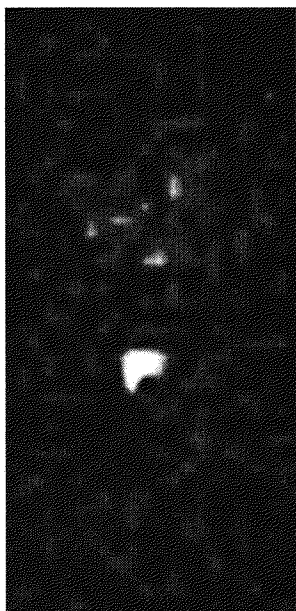


Фигура 8.

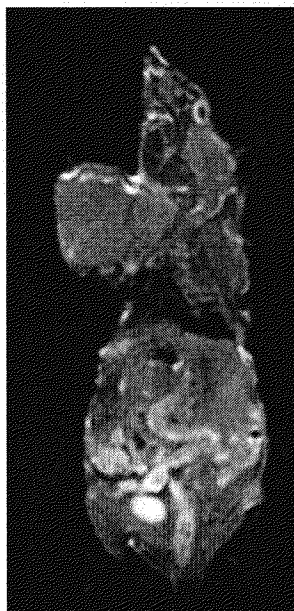


Фигура 9.

а)



б)



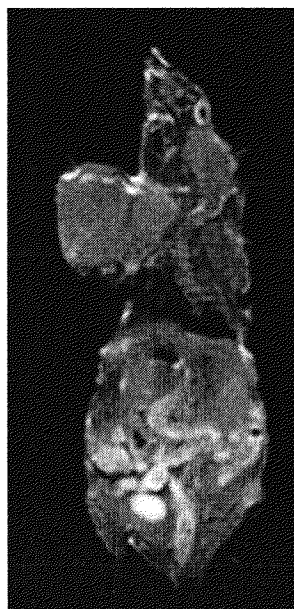
в)



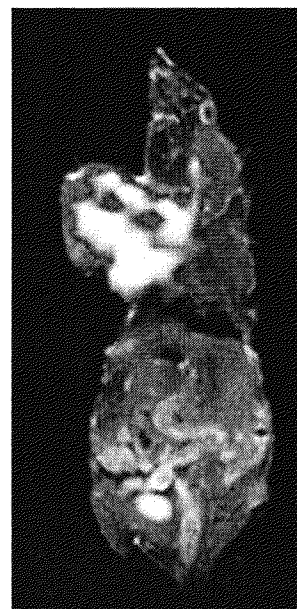
г)



д)



е)



Фигура 10.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/RU 2017/000869

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
A61K 49/10 (2006.01); C07H 3/02 (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K49/10, C07H 3/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

PatSearch (RUPTO internal), Esp@cenet, PAJ, USPTO, Information Retrieval System of FIPS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5945564 A (MITSUBISHI CHEMICAL CORPORATION) 31.08.1999, the abstract, col. 2, lines 9-17, col. 6, lines 58-67, col. 7, lines 1-35, col. 10, lines 59-67, col. 12	1-22
Y	MACKIE W. et al. Nuclear magnetic resonance spectral observations on the glycol-scission of deuterated D-glucose. Canadian Journal of Chemistry. 1965, vol. 43, N. 10, pp. 2645-2651	1-22
A	WO 2011/024156 A1 (BRAIN WATCH LTD) 03.03.2011	1-22

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
25 July 2018 (25.07.2018)

Date of mailing of the international search report
02 August 2018 (02.08.2018)

Name and mailing address of the ISA/
RU

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Номер международной заявки

PCT/RU 2017/000869

A. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ <i>A61K 49/10 (2006.01)</i> <i>C07H 3/02 (2006.01)</i> Согласно Международной патентной классификации МПК		
B. ОБЛАСТЬ ПОИСКА Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации) A61K 49/10, C07H 3/02		
Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки		
Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины) PatSearch (RUPTO internal), Esp@cenet, PAJ, USPTO, Information Retrieval System of FIPS		
C. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:		
Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
Y	US 5945564 A (MITSUBISHI CHEMICAL CORPORATION) 31.08.1999, реферат, кол. 2, строки 9-17, кол. 6, строки 58-67, кол. 7, строки 1-35, кол. 10, строки 59-67, кол. 12	1-22
Y	MACKIE W. et al. Nuclear magnetic resonance spectral observations on the glycol-scission of deuterated D-glucose. Canadian Journal of Chemistry. 1965, vol. 43, N. 10, pp. 2645-2651	1- 22
A	WO 2011/024156 A1 (BRAIN WATCH LTD) 03.03.2011	1-22
☐ последующие документы указаны в продолжении графы C. ☐ данные о патентах-аналогах указаны в приложении		
* Особые категории ссылочных документов: “A” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным “E” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее “L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано) “O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д. “P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета	“T” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение “X” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности “Y” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста “&” документ, являющийся патентом-аналогом	
Дата действительного завершения международного поиска 25 июля 2018 (25.07.2018)	Дата отправки настоящего отчета о международном поиске 02 августа 2018 (02.08.2018)	
Наименование и адрес ISA/RU: Федеральный институт промышленной собственности, Бережковская наб., 30-1, Москва, Г-59, ГСП-3, Россия, 125993 Факс: (8-495) 531-63-18, (8-499) 243-33-37	Уполномоченное лицо: Д. Чернышева Телефон № (495)531-64-81	