

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

307 369

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

C01F 13/00 (2006.01)
C01F 11/24 (2006.01)
A61K 33/14 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2016-821**
 (22) Přihlášeno: **22.12.2016**
 (40) Zveřejněno: **04.07.2018**
(Věstník č. 27/2018)
 (47) Uděleno: **23.05.2018**
 (24) Oznámení o udělení ve věstníku: **04.07.2018**
(Věstník č. 27/2018)

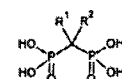
(56) Relevantní dokumenty:

KR 100 671 387; WO 2014/057 357 A2.

(73) Majitel patentu:
České vysoké učení technické v Praze, Praha 6 -
Dejvice, CZ
ÚVJ Řež, a.s., Husinec - Řež, CZ

(72) Původce:
RNDr. Ján Kozempel, Ph.D., Uherský Brod, CZ
RNDr. Martin Vlk, Ph.D., Unín, CZ
Ing. Petra Mičolová, Rtyň v Podkrkonoší, CZ
Ing. Ekaterina Kukleva, Karlovy Vary, CZ
Ing. Ludmila Jandová, Praha 3 - Vinohrady, CZ
Ing. Hana Merhautová, Šestajovice, CZ
Ing. Karolína Ficenzová, Praha 1 - Staré město, CZ

(74) Zástupce:
HARBER IP s.r.o., Na bělidle 64/3, 150 00 Praha 5,
Smíchov



(I),

R¹ je -H, -OH, -Cl;

R² je -CH₃, -Cl, -CH₂CH₂NH₂, -(CH₂)₂NH₂, -(CH₂)₃NH₂,
 CH₂CH₂N(CH₃)-(CH₂)₂CH₃;

(54) Název vynálezu:

**Kombinace pro radionuklidovou terapii pro
použití jako léčivo**

(57) Anotace:

Předkládané řešení se týká kombinace pro radionuklidovou terapii pro použití jako léčivo, která obsahuje složku A, která obsahuje vodorozpustnou sůl radia obsahující alespoň jeden radionuklid Ra, a složku B, která obsahuje alespoň jednu látku ovlivňující metabolismus Ca²⁺ v organismu, vybranou ze skupiny zahrnující vodorozpustné soli kovů alkalických zemin, kalciferoly, kalcitoniny, hormony štítné žlázy, bisfosfonáty obecného vzorce I a jejich kombinace, přičemž složka A je ve formě roztoku, s výhodou je rozpouštědlem voda nebo izotonický roztok chloridu sodného, a její měrná objemová aktivita je v rozmezí od 0,5 do 10 MBq/mL.

CZ 307369 B6

Kombinace pro radionuklidovou terapii pro použití jako léčivo

Oblast techniky

5

Předkládaný vynález se týká kombinace pro radionuklidovou terapii pro použití jako léčivo v nukleární medicíně při léčení zejména kostních nádorů.

10 Dosavadní stav techniky

Radionuklidová terapie je významným nástrojem v terapii onkologických onemocnění, autoimunitních onemocnění (zejména kloubů), či paliativní terapii. Známý jsou jednoduché formulace těchto léčiv, jako například formulace iontových či koloidních roztoků ^{99m}Tc , ^{153}Sm , ^{169}Er , ^{177}Lu , ^{32}P , ^{223}Ra , aj. s pomocnými látkami např.: voda pro injekci, chlorid sodný, pufr (citrátový, fosfátový), zředěné kyseliny apod. Tyto pomocné látky zajišťují jejich biokompatibilitu a umožňují intravenózní nebo jiné podání radiofarmaka. Studie kompatibility takovýchto farmak nejsou většinou k dispozici, a proto tyto léčivé přípravky zpravidla nesmí být míšeny s jinými léčivými přípravky (účinnými látkami). Je známo, že mezidruhá variabilita i variabilita mezi jedinci daného druhu je značná. To prakticky znemožňuje srovnávat jednotlivé klinické a preklinické studie.

Terapeuticky využitelné izotopy radia jsou ^{223}Ra ($T_{1/2} = 11,4$ dne), ^{224}Ra ($T_{1/2} = 3,66$ dne), ^{225}Ra ($T_{1/2} = 14,9$ dne), které se aplikují intravenózně. V humánní studii po intravenózní injekci je radium-223 eliminováno z krve a ukládá se primárně do kostí a kostních metastáz nebo se vylučuje střevem. Dle dostupných údajů o přípravku obsahujícím radium-223 dichlorid, patnáct minut po aplikaci injekce zůstane asi 20 % podané aktivity v krvi. Za 4 hodiny zůstane v krvi asi 4 % podané aktivity a 24 hodin po aplikaci injekce aktivita klesne na méně než 1 %. Distribuční objem byl vyšší než objem krve, což ukazuje na distribuci do periferních kompartmentů. Přibližně 10 minut po aplikaci injekce byla aktivita pozorována v kostech a ve střevě. Úroveň aktivity v kostech byla 4 hodiny po injekci 44 až 77 %. Za 4 hodiny po aplikaci injekce nebylo pozorováno žádné významné vychytávání v jiných orgánech, jako jsou srdce, játra, ledviny, močový měchýř a slezina. Celotělové měření 7 dnů po aplikaci injekce (po úpravě vzhledem k rozpadu) ukazuje, že průměrně 76 % podané aktivity bylo vyloučeno z těla. Rychlost eliminace radia-223 dichloridu z gastrointestinálního traktu je ovlivněna vysokou variabilitou intestinálního tranzitu napříč populací s normálním rozmezím vyprazdňování jednou denně až jednou týdně.

Z hlediska použití neizotopického nosiče radia (např. vápníku) lze podle dosavadních poznatků očekávat, že radium převezme chemické vlastnosti nosiče a v případě současného podání nastane kompetice mezi nosičem a radiem, a tím dojde k vytěsňování radia (Majer V. a kol., Základy jaderné chemie, 2. přepracované vydání, SNT, Praha 1981).

Podle dosavadního stavu poznání je vliv podávání látek ovlivňujících metabolismus vápníku na metabolismus radia neznámý. A protože nemůže být vyloučena interakce s vápníkem a fosfáty, je doporučeno podávání přípravků s těmito látkami a/nebo vitaminem D přerušit několik dnů před zahájením léčby radiem. Vzhledem k chemické analogii mezi vápníkem a radiem lze usuzovat, že radium bude podléhat v organismu i obdobným metabolickým drahám a bude se z organismů díky kompetici s vápníkem vylučovat rychleji.

Za udržení homeostázy vápníku v lidském organismu jsou odpovědné parathormon (PTH), vitamin D, kalcitonin a jejich cílové orgány (kostra, ledviny a střeva), přičemž metabolismus PTH a vitaminu D je vzájemně propojen, zejména tak že PTH zvyšuje produkci aktivního vitaminu D a zároveň nedostatek vitaminu D snižuje účinek PTH. Vitamin D, po aktivaci na kalcitriol ($1\alpha,25$ -dihydroxycholecalciferol) ovlivňuje zásadním způsobem homeostázi vápníku a fosforu. Fyziologické koncentrace kalcitriolu mohou urychlovat růst nádorových buněk, díky

vazbě kalcitriolu na specifický receptor (např.: karcinom mamy, melanomy) a farmakologické dávky (2 až 3 mg) mohou růst inhibovat. [Klener P.: Protinádorová terapie. Galén, Praha 1996] Kalcitriol zvyšuje resorpci Ca^{2+} a fosfátů ze střeva a jejich zpětnou resorpci v ledvinách, následkem takto zvýšené koncentrace Ca^{2+} iontů a fosfátů v krvi dochází k elevaci tvorby hydroxyapatitů v kostní tkáni. [Lüllmann H. et al. Barevný atlas farmakologie. Grada, Praha 2012].

Bisfosfonáty inhibují *in vitro* precipitaci fosforečnanu vápenatého a jeho přeměnu v hydroxyapatit, útlumem proteosyntézy a depresí uvolňování lysozomálních enzymů, tvorby prostaglandinů a aktivity pyrofosfatázy a glykolýzy. Bisfosfonáty neovlivňují endokrinní funkce orgánů, ale působí především v oblasti skeletu – v místě zvýšené resorpce. Mechanizmy účinku bisfosfonátů lze rozdělit podle lokalizace působení na:

- a) tkáňové, kdy dochází ke zvýšení mineralizace, kostní hmoty a poměru obsahu minerálů k hustotě kostí;
- b) buněčné úrovni, kdy dochází k lokalizaci bisfosfonátů na povrch osteoklastů a inhibici zřasených membrán
- c) molekulární úrovni, kde inhibují syntázy farnesyldifosfátu, redukcí geranylgeranyldifosfátu a pranylace malých GPTáz, narušují adhezi a migraci osteoklastů, což může vyústit až v apoptózu.

Bisfosfonáty se klasifikují jako fosfonáty 1. generace – bez aminoskupiny (např.: tiludronová kyselina, klodronová kyselina, etidronová kyselina), 2. generace – obsahující aminoskupiny (např.: pamidronová kyselina, aledronová kyselina, ibandronová kyselina) a 3. generace – obsahující dusíkatý heterocyklus (např.: risedronová kyselina, zoledronová kyselina) ve struktuře. Do metabolismu mohou vstupovat postranní řetězce bisfosfonátů, zejména u 1. generace, kdy byla pozorována degradace v osteoklastech vedoucí ke vzniku analogů ATP. U aminobisfosfonátů k této biodegradaci nedochází. Při per orálním podání se biologická dostupnost pohybuje v rozmezí 1 až 10 %, přičemž vstřebávání probíhá v gastrointestinálním traktu (žaludek, tenké střevo). Biologickou dostupnost negativně ovlivňuje současný příjem potravy, zejména bohaté na ionty vápníku a železa. Biologický eliminační poločas bisfosfonátů se pohybuje mezi 0,5 až 2 h, přičemž plazmatická clearance je v rozmezí 6 až 10 h. Až 60 % resorbovaných bisfosfonátů je implementováno do kostní tkáně, zbytek je eliminován. Doba, po kterou jsou bisfosfonáty zabudovány do kostní tkáně, představuje více než 10 let (až doživotně). Aplikace bisfosfonátů a jejich zásah do kostní resorpce a formace je spojen s celkovými změnami metabolismu vápníku. Upřednostňována je intravenózní aplikace s doporučením dávkováním dle tabulky 1, perorální forma není dostupná pro všechny bisfosfonáty. [Aapro M. et al.: Annals of Oncology 19: 420–432, 2008] Téměř ve všech případech je před zahájením terapie a před každou aplikací prováděna kontrola renálních funkcí. I přes velmi dobrou toleranci organismu k terapii se mohou vyskytovat nežádoucí účinky např. renální toxicita, potíže gastrointestinálního traktu a osteonekróza čelisti.[Sláma O.: Paliativní medicína a léčba bolesti 2(2) 2009]

Tabulka 1. Dávkování bisfosfonátů

Bisfosfonát	Intravenózní infuzní podání	Perorální podání
Kludronová kyselina	900 mg/4h každé 3-4 týdny	1024 – 2400 mg/den
Pamidronová kyselina	90 mg/2h každé 3-4 týdny	Není k dispozici
Zoledronová kyselina	4 mg/15 min každé 3-4 týdny	Není k dispozici
Ibandronová kyselina	6 mg/15 min každé 3-4 týdny	50 mg/den
Etidronová kyselina	200 mg/ 2 krát denně	-

5

Podstata vynálezu

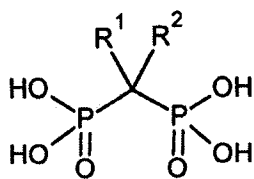
10 Předkládaný vynález se týká kombinace pro radionuklidovou terapii, která moduluje biodistribuci Ra v organismu. Při použití kombinace podle předkládaného vynálezu dochází ke zvýšení doby zachytu radionuklidu Ra v organismu, což umožňuje vyšší zachyt Ra v kostech za současného snížení doby zachytu Ra v ostatních orgánech (např. slezině nebo játrech), tedy dochází ke zvýšení doby působení radionuklidu Ra v cílové kostní tkáni a k současné rychlé eliminaci této látky z ostatních orgánů, kde je její přítomnost nežádoucí.

15

Principem je zvýšení koncentrace látky/látek, ovlivňujících metabolismus vápníku v těle, v organismu nad její/jejich fyziologickou koncentraci do maximální tolerované koncentrace (např. maximální doporučená dávka u kyseliny zoledronové při humánní aplikaci je 4 mg v jedné intravenózní infuzi (NOAEL 0,02 mg/kg/den intravenózně nebo subkutánně), avšak v rámci klinických studií bylo podáváno až 16 mg (Novartis, zoledronic acid SPC)). Přítomnost látek, ovlivňujících metabolismus vápníku v těle ve vyšší než fyziologické koncentraci moduluje mechanismy zachytu radia v organismu. Vlastní administrace Ra do organismu za výše uvedených podmínek pak vede k jeho zvýšené sorpci na kostní tkáň a k jeho rychlé eliminaci z ostatních tkání organismu. Kombinace zvýšené koncentrace látek ovlivňujících metabolismus Ca^{2+} v těle a radionuklidu Ra vede k neočekávanému synergickému efektu zvýšení doby zachytu Ra v kostech a k jeho rychlejší eliminaci z ostatních orgánů. Odborník v oboru by tento efekt neočekával, naopak by byl stavem techniky veden k předpokladu, že Ra^{2+} převezme chemické vlastnosti Ca^{2+} a v případě současného podání nastane kompetice mezi Ca^{2+} a Ra^{2+} , a tím dojde k vytěsňování Ra^{2+} . Rovněž v případě fyziologické nebo patofyziologické koncentrace Ca^{2+} v organismu by odborník v oboru očekával, že při podání jiných Ca^{2+} modulujících látek dojde ke kompetici Ca^{2+} a Ra^{2+} a tím ke zvýšenému vytěsňování Ra^{2+} z organismu, resp., přednostnímu zabudovávání Ca^{2+} do kostí. Premedikace CaCl_2 a následné podání RaCl_2 podle předkládaného vynálezu způsobí snížení zachytu Ra^{2+} ve slezině, snížení jeho exkrece tlustým střevem a je patrné zvýšení zachytu v kostní tkáni ve srovnání s kontrolní skupinou. Přidání vitamínu D jako složky stravy vedlo k ještě výraznějšímu poklesu zachytu Ra^{2+} ve slezině, mírné depresi exkrece tlustým střevem a modulaci zachytu v kostní tkáni. Aplikace kyseliny zoledronové vede rovněž k modulaci vychytávání Ra^{2+} , ve slezině se projevilo snížením vychytáváním po 96 h od aplikace a zvýšenou resorpci do kostní tkáně.

40 Předmětem předkládaného vynálezu je kombinace pro radionuklidovou terapii pro použití jako léčivo při léčení kostních onemocnění, zejména při léčení kostních metastáz, která obsahuje složku A, která obsahuje vodorozpuštěnou sůl radia obsahující alespoň jeden radionuklid radia, a složku B, která obsahuje alespoň jednu látku ovlivňující metabolismus Ca^{2+} v organismu, vybranou ze skupiny zahrnující vodorozpuštěné soli kovů alkalických zemin, kalciferoly, kalcitoniny, hormony štítné žlázy, bisfosfonáty obecného vzorce I

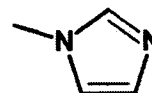
45



(I),

kde R^1 je $-H$, $-OH$, $-Cl$;

5 R^2 je $-CH_3$, $-Cl$, $-CH_2CH_2NH_2$, $-(CH_2)_5-NH_2$, $-(CH_2)_3-NH_2$, $-(CH_2)_3-NH_2$,



$CH_2CH_2N(CH_3CH_2)_4CH_3$;

10 soli aminokyselin nebo peptidů o délce řetězce 1 až 50 aminokyselin a jejich kombinace, přičemž složka A je ve formě roztoku o koncentraci R_a v rozmezí od 0,3 do 30 nM, s výhodou je rozpouštědlem voda nebo izotonický roztok chloridu sodného, a její měrná objemová aktivita je v rozmezí od 0,5 MBq/mL do 10 MBq/mL,

15 a přičemž složka A a složka B jsou určeny pro podávání každá zvlášť, přičemž složka A je určena pro podání po podání složky B a po dosažení vyšší než fyziologické koncentrace složky B v organismu.

20 Složka A může dále obsahovat další pomocné látky vybrané ze skupiny obsahující vodu pro injekci, sacharidy ze skupiny pentos nebo hexos, a farmaceuticky akceptovatelné pufrů. Odborník v oboru by byl schopen bez vynaložení vynálezecké činnosti zvolit vhodný sacharid a/nebo pufr jako pomocnou látku složky A pro intravenózní aplikaci.

25 Složka B obsahuje alespoň jednu látku ovlivňující metabolismus Ca^{2+} , s výhodou v rozmezí hmotnosti od 0,001 do 1000 mg v jedné dávce. Optimální množství látky ovlivňující metabolismus Ca^{2+} ve složce B závisí na konkrétním typu látky a cílovém organismu. Odborník v oboru by byl schopen bez vynaložení vynálezecké činnosti zvolit vhodné množství látky ovlivňující metabolismus Ca^{2+} , jelikož maximální tolerované koncentrace jednotlivých látek ovlivňujících metabolismus Ca^{2+} jsou známy.

30 Solemi R_a se rozumí zejména soli R_a^{2+} a anorganických kyselin nebo organických monokarboxylových, dikarboxylových a trikarboxylových (C1 až C10) kyselin, s výhodou se solemi R_a rozumí uhličitan, halogenidy, dusičnan, fosforečnany, acetát, mravenčan, citrát, oxalát, laktát a soli aminokyselin nebo peptidů o délce řetězce 1 až 50 aminokyselin, výhodněji jsou soli R_a vybrané ze skupiny zahrnující $RaCO_3$, $Ra(NO_3)_2$, $RaCl_2$, $RaBr_2$, RaI_2 , RaF_2 , $Ra(CH_3COO)_2$,
35 nejvýhodněji je solí Ra $RaCl_2$.

Vodorozpustnou solí R_a se rozumí taková sůl, jejíž rozpustnost je vyšší než 5 mg/L, výhodněji však >20 mg/L ($RaCO_3$), lépe >100 g/L (např. $Ra(NO_3)_2$), nejlépe však >150 g/L (např. $RaCl_2$) při 20 °C.

40 Solemi kovů alkalických zemin se rozumí zejména jejich soli s anorganickými kyselinami nebo organickými monokarboxylovými, dikarboxylovými a trikarboxylovými (C1 až C10) kyselinami, s výhodou se solemi kovů alkalických zemin rozumí uhličitany, halogenidy, dusičnany, fosforečnany, acetáty, mravenčany, citráty, oxaláty, laktáty a soli aminokyselin nebo peptidů
45 o délce řetězce 1 až 50 aminokyselin, výhodněji jsou kovy alkalických zemin tvořící soli vybrané ze skupiny zahrnující hořčík, vápník a stroncium. Nejvýhodněji je solí kovů alkalických zemin $CaCl_2$.

- Vodorozpuštěnou solí kovů alkalických zemin se rozumí sůl, jejíž rozpustnost je vyšší než 400 g/L při 20 °C. Složka B může být čistá, ve formě roztoku nebo ve formě směsi s farmaceuticky přijatelnými pomocnými látkami, v závislosti na formě podání (lékové formě). Rozpouštědlem pro složku B je s výhodou voda, triglyceridový olej, isotonický roztok NaCl nebo polyethylenglykol s maximální molekulovou hmotností (MW) 4000 g/mol. Roztokem složky B se rozumí např. vodný roztok solí kovů alkalických zemin, nebo olejový roztok kalciferolů, kalcitoninů a hormonů štítné žlázy.
- Pomocnými látkami jsou například sacharidy ze skupiny pentos nebo hexos, pufrů (např. fosfátový, citrátový, HEPES), aminokyseliny, farmaceuticky přijatelné nosiče (např. mikrokrytalická celulóza, koloidní SiO₂), přičemž forma podání složky B může být intravenózní, subkutánní, nasální cestou nebo např. perorálně ve formě sodných solí (např. pentahydrát sodné soli L-thyroxinu).
- Zatímco složka A obsahuje vlastní terapeutické radionuklidy, složka B obsahuje látku/látky schopné ovlivnit metabolismus Ca²⁺ iontů v organismu a jejich výsledným synergickým efektem je ovlivnění biodistribuce Ra²⁺ v organismu.
- V jednom provedení je radionuklid Ra vybraný ze skupiny zahrnující izotopy ²²³Ra, ²²⁴Ra, ²²⁵Ra.
- Ve výhodném provedení je složka B vybraná z vodorozpuštěných Mg²⁺, Ca²⁺, Sr²⁺ solí, vitaminu D, kalcitoninů, hormonů štítné žlázy, aminokyselin nebo peptidů o délce řetězce 1 až 50 aminokyselin a bisfosfonátů obecného vzorce I, výhodněji je složka B MgCl₂, CaCl₂, SrCl₂, nejvýhodněji je složka B CaCl₂.
- V jednom provedení složka A a/nebo složka B dále obsahuje až do 99,9 % hmotn. farmaceuticky přijatelné pomocné látky.
- Farmaceuticky přijatelná pomocná látka je s výhodou vybraná ze skupiny zahrnující NaCl, kyselinu citronovou a/nebo její soli, kyselinu octovou a/nebo její soli, kyselinu fosforečnou a/nebo její soli, mikrokrytalickou celulózu, sacharidy ze skupiny pentos a hexos, koloidní SiO₂, látky pro úpravu pH (NaOH, KOH).
- Předmětem předkládaného vynálezu je dále kombinace pro radionuklidovou terapii pro použití jako léčivo podle předkládaného vynálezu, přičemž složka A i složka B jsou podány každá zvlášť. Složka A je podána po podání složky B. Časový interval mezi podáním složky A a podáním složky B závisí na typu složky B a jejím biologickém poločasu. Složku B lze aplikovat dodatečně pro výhodnější ovlivnění metabolismu složky A. Výhodou záměrného podání složky A po podání složky B, je dosažení určité vyšší než fyziologické koncentrace složky B, která spustí metabolické dráhy modulující vstřebávání a biodistribuci složky A. Výhodné je také udržování určité takřka konstantní vyšší než fyziologické koncentrace složky B po dobu zdržení složky A v organismu. Kromě modulujícího efektu složky B na biodistribuci a metabolismus složky A dochází i k synergickému kombinovanému radiochemoterapeutickému efektu složky A a složky B, pokud složka B dosáhne terapeutické koncentrace. Složka A a/nebo složka B může být podána v jediné dávce nebo opakovaně, v pravidelně se opakujících dávkách pro vytvoření a udržení zvolené koncentrace příslušné složky v organismu. Ve výhodném provedení je složka B podávána opakovaně pro vytvoření a udržení zvolené koncentrace složky B v organismu a složka A je podána jednorázově nebo opakovaně, nejvýhodněji je složka B podávána opakovaně pro vytvoření a udržení zvolené koncentrace složky B v organismu a složka A je podána jednorázově.

Předmětem předkládaného vynálezu je kombinace pro radionuklidovou terapii pro použití při léčení kostních onemocnění, zejména při léčení kostních metastáz, např. k léčbě dospělých mužů

s kastročně–rezistentním karcinomem prostaty, symptomatickými metastázami v kostech a bez známých viscerálních metastáz.

- 5 V jednom provedení je kombinace pro radionuklidovou terapii podle předkládaného vynálezu pro použití při léčení v režimu spočívajícím v podávání samotné složky B alespoň dvakrát týdně alespoň do dosažení její vyšší než fyziologické koncentrace a v jednorázovém podání složky A při vyšší než fyziologické koncentraci složky B, popřípadě následnému podávání samotné složky B alespoň dvakrát týdně pro udržení její vyšší než fyziologické koncentrace. Fyziologická koncentrace složky B závisí na složení složky B a je pro konkrétní látky odborníkovi v oboru známá. Maximální koncentrace složky B v organismu zpravidla nepřekračuje maximální doporučené dávkování, avšak závisí od pohlaví, věku a stavu pacienta (např. typicky 4 mg pro kyselinu zoledronovou intravenózně v jedné dávce, vitamin D 3 až 100 µg perorálně/den, chlorid vápenatý – až 1000 mg intravenózně).
- 10
- 15 Forma podání složky A je intravenózní, forma podání složky B je orální a/nebo subkutánní a/nebo nasální a/nebo intravenózní, přičemž složka B může být v různých lékových formách – např. ve formě roztoku, tablety, prášku, nebo aerosolu.

20 Objasnění výkresů

Obr. 1: 24 h. biodistribuce ^{223}Ra s CaCl_2

Obr. 2: 96 h. biodistribuce ^{223}Ra s CaCl_2

25

Obr. 3: 24h. biodistribuce ^{223}Ra s vitaminem D3

Obr. 4: 96h. biodistribuce ^{223}Ra s vitaminem D3

30 Obr. 5: 24h. biodistribuce ^{223}Ra s kys. zoledronovou

Obr. 6: 96h. biodistribuce ^{223}Ra s kys. zoledronovou

Obr. 7: 24 h. biodistribuce ^{223}Ra bez *in vivo* modulujících látek

35

Obr. 8: 96 h. biodistribuce ^{223}Ra bez *in vivo* modulujících látek

Příklady uskutečnění vynálezu

40

Obecný popis experimentů

Studie byla provedena na outbredních myších samicích CD1, dovezených z chovů Charles River. Zvířata byla rozmístěna po 5–ti a aklimatizována 5 dnů. Po aklimatizaci byla zvířata rozdělena do 4 skupin. Den před pokusem bylo odebráno krmivo a na začátku vlastního pokusu byla zvířata zvažena a umístěna do klecí individuálně na netkanou textilií. Po aplikaci ^{223}Ra (cca 200 kBq/zvíře v 0,05 ml fyz. roztoku) do v. caudalis byly sbírány exkrementy po 1 a 4 hodinách, po 24 hodinách bylo z každé skupiny usmrceno 5 myší, dalších 5 bylo usmrceno po 96 hodinách. Od každé myši byla odebrána krev, srdce, plíce, játra, slinivka, slezina, ledviny, močový měchýř, stěna tlustého střeva, obsah tlustého střeva, žaludek, obsah žaludku, štítná žláza, mozek, stehenní kost, vaječníky, část kůže a svaloviny, exkrementy. Orgány a exkrementy v měřicích nádobkách byly zvaženy a měřeny ve studni scintilačního detektoru NaI(Tl).

45

50

Příklad 1: *Studium biodistribuce a eliminace ^{223}Ra při použití $^{231}\text{RaCl}_2$ jako složky A a CaCl_2 jako složky B kombinace pro radionuklidovou terapii*

10 myší bylo medikováno CaCl_2 v koncentraci 1,11 g/l. Roztok byl používán k napájení *per os ad libitum* v průběhu celého experimentu. Biodistribuce ^{223}Ra po 24 hodinách a 96 hodinách po podání je uvedena v tabulce 1 a na obr. 1 a 2.

Tabulka 1. Biodistribuce ^{223}Ra s CaCl_2

Orgán	%ID/g po 24 h	SD	%ID/g po 96 h	SD
Štítná žláza	0,58	0,12	0,04	0,03
Slezina	10,71	3,69	4,62	0,50
Ledviny	1,47	0,27	0,30	0,11
Tl. střevo obsah	1,69	0,36	0,29	0,03
Kost Stehenní levá	16,51	3,62	10,80	1,15
Játra	0,18	0,08	0,06	0,02

Celkem za 24 h. eliminováno stolicí $31,93 \pm 8,57$ % ID/g ^{223}Ra , močí $16,53 \pm 3,99$ % ID ^{223}Ra .

Celkem za 96 h. eliminováno stolicí $24,90 \pm 2,14$ % ID/g ^{223}Ra , močí $18,43 \pm 4,32$ % ID ^{223}Ra .

Příklad 2: *Studium biodistribuce a eliminace ^{223}Ra při použití $^{223}\text{RaCl}_2$ jako složky A a vitamínu D3 jako složky B kombinace pro radionuklidovou terapii*

15 myší bylo premedikováno vitamínem D3, 160 IU/myš (0,02 ml triglyceridového olejového roztoku vitamínu D3; 0,2 mg/ml) podávaném *per os* na části krmiva, 3x týdně. 5 myší bylo vyřazeno během pokusu, protože odmítaly příjem vitamínu. Biodistribuce ^{223}Ra po 24 hodinách a 96 hodinách po podání je uvedena v tabulce 2 a na obr. 3 a 4.

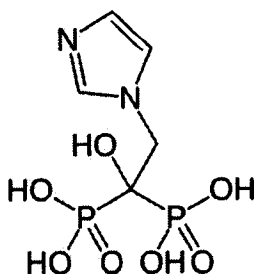
Tabulka 2. Biodistribuce ^{223}Ra s vitamínem D3

Orgán	%ID/g po 24 h	SD	%ID/g po 96 h	SD
Štítná žláza	0,40	0,18	0,03	0,02
Slezina	7,55	2,76	2,70	0,91
Ledviny	1,06	0,23	0,36	0,15
Tl. střevo obsah	1,57	0,52	0,29	0,13
Kost Stehenní levá	13,43	1,10	10,37	3,52
Játra	0,13	0,06	0,04	0,02

Celkem za 24 h. eliminováno stolicí $17,28 \pm 2,00$ % ID/g ^{223}Ra , močí $15,92 \pm 3,05$ % ID ^{223}Ra .

Celkem za 96 h. eliminováno stolicí $23,56 \pm 10,95$ % ID/g ^{223}Ra , močí $18,60 \pm 4,54$ % ID ^{223}Ra .

- 5 Příklad 3: *Studium biodistribuce a eliminace ^{223}Ra při použití $^{223}\text{RaCl}_2$ jako složky A a kyseliny zolendronové vzorce (II) jako složky B kombinace pro radionuklidovou terapii*



(II)

- 10 10 myší bylo medikováno kyselinou zolendronovou, 0,1 ml přípravku/myš bylo odebíráno z infuzního roztoku 4 mg/100 ml a aplikováno subkutánně 2x týdně. Biodistribuce ^{223}Ra po 24 hodinách a 96 hodinách po podání je uvedena v tabulce 3 a na obr. 5 a 6.

- 15 Tabulka 3. Biodistribuce ^{223}Ra s kys. zolendronovou

Orgán	%ID/g po 24 h	SD	%ID/g po 96 h	SD
Štítná žláza	0,29	0,06	0,06	0,04
Slezina	8,88	4,65	3,51	2,22
Ledviny	1,30	0,38	0,38	0,11
Tl. střevo obsah	1,27	0,08	0,35	0,11
Kost Stehenní levá	12,78	2,77	11,88	1,87
Játra	0,15	0,03	0,05	0,02

- 20 Celkem za 24 h. eliminováno stolicí $19,27 \pm 3,25$ % ID/g ^{223}Ra , močí $17,50 \pm 3,21$ % ID ^{223}Ra

Celkem za 96 h. eliminováno stolicí $27,65 \pm 12,62$ % ID/g ^{223}Ra , močí $22,66 \pm 9,62$ % ID ^{223}Ra .

- 25 Příklad 4: *Studium biodistribuce a eliminace Ra při použití pouze Ra jako složky A bez použití složky B kombinace (kontrolní skupina)*

10 myší bylo použito jako kontrolní skupina. Biodistribuce ^{223}Ra po 24 hodinách a 96 hodinách po podání je uvedena v tabulce 4 a na obr. 7 a 8.

30

Tabulka 4. Biodistribuce ^{223}Ra

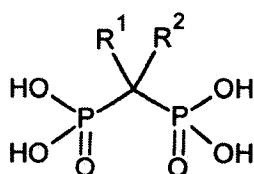
Orgán	%ID/g po 24 h	SD	%ID/g po 96 h	SD
Štítná žláza	0,39	0,18	0,07	0,01
Slezina	8,59	2,09	6,77	1,68
Ledviny	1,76	0,74	0,32	0,19
Tl. střevo obsah	2,14	0,86	0,27	0,05
Kost Stehenní levá	13,37	1,14	10,33	0,65
Játra	0,17	0,02	0,10	0,02

Celkem za 24 h. eliminováno stolicí $33,54 \pm 16,22$ %ID/g ^{223}Ra močí $16,24 \pm 2,29$ %ID ^{223}Ra .

Celkem za 96 h. eliminováno stolicí $36,43 \pm 12,31$ %ID/g ^{223}Ra močí $17,73 \pm 2,34$ %ID ^{223}Ra .

PATENTOVÉ NÁROKY

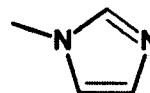
1. Kombinace pro použití jako léčivo při léčení kostních onemocnění, zejména při léčení kostních metastáz, pro radionuklidovou terapii, přičemž kombinace pro radionuklidovou terapii obsahuje složku A, která obsahuje vodorozpustnou sůl radia obsahující alespoň jeden radionuklid Ra, a složku B, která obsahuje alespoň jednu látku ovlivňující metabolismus Ca^{2+} v organismu, vybranou ze skupiny zahrnující vodorozpustné soli kovů alkalických zemin, kalciferoly, kalcitoniny, hormony štítné žlázy, bisfosfonáty obecného vzorce I



(I),

kde R^1 je $-\text{H}$, $-\text{OH}$, $-\text{Cl}$;

R^2 je $-\text{CH}_3$, $-\text{Cl}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_5-\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$,



$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$;

soli aminokyselin nebo peptidů o délce řetězce 1 až 50 aminokyselin a jejich kombinace,

a přičemž složka A je ve formě roztoku o koncentraci Ra v rozmezí od 0,3 do 30 nM, s výhodou je rozpouštědlem voda nebo izotonický roztok chloridu sodného, a její měrná objemová aktivita je v rozmezí od 0,5 do 10 MBq/mL,

a přičemž složka A a složka B jsou určeny pro podávání každá zvlášť, přičemž složka A je určena pro podání po podání složky B a po dosažení vyšší než fyziologické koncentrace složky B v organismu.

5

2. Kombinace pro použití podle nároku 1, kde radionuklid Ra je vybraný ze skupiny zahrnující izotopy ^{223}Ra , ^{224}Ra , ^{225}Ra .

10

3. Kombinace pro použití podle nároku 1 nebo 2, kde složka B je vybraná z vodorozpustných Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} solí, vitamínu D, kalcitoninu, hormonů štítné žlázy a bisfosfonátů obecného vzorce I, soli aminokyselin nebo peptidů o délce řetězce 1 až 50 aminokyselin, s výhodou je složka B MgCl_2 , CaCl_2 , SrCl_2 , nejvýhodněji je složka B CaCl_2 .

15

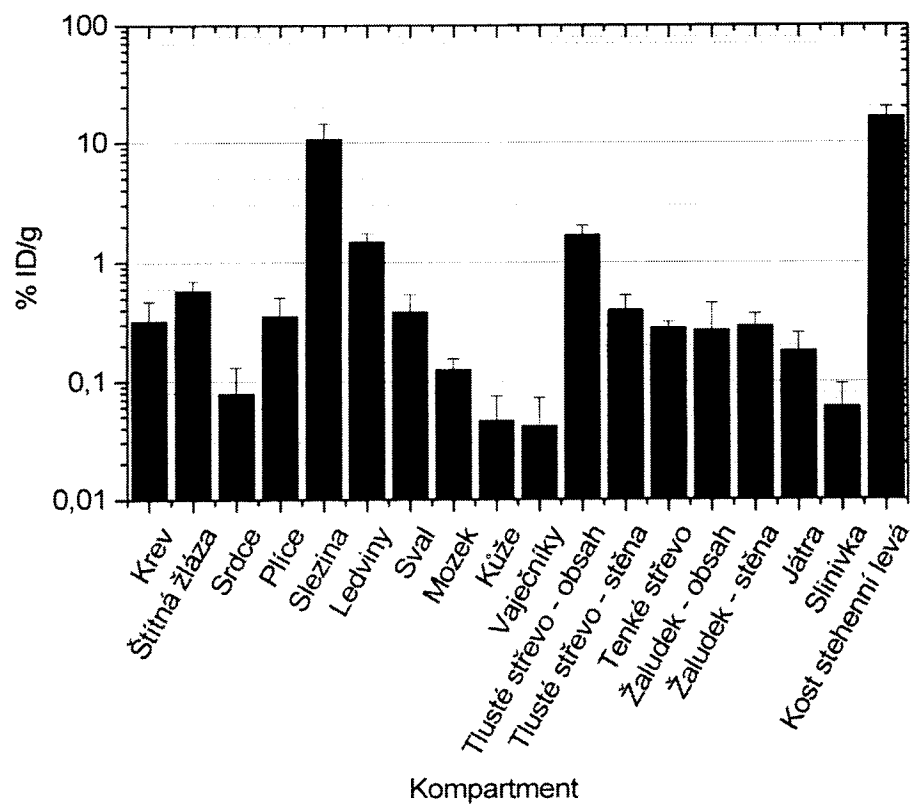
4. Kombinace pro použití podle kteréhokoliv z předchozích nároků, kde složka A a/nebo složka B dále obsahuje do 99,9 hmotn. % farmaceuticky přijatelné pomocné látky, s výhodou vybrané ze skupiny zahrnující NaCl, kyselinu citronovou a/nebo její soli, kyselinu octovou a/nebo její soli, kyselinu fosforečnou a/nebo její soli, mikrokrytalickou celulózu, sacharidy ze skupiny pentos a hexos, koloidní SiO_2 , NaOH, KOH.

20

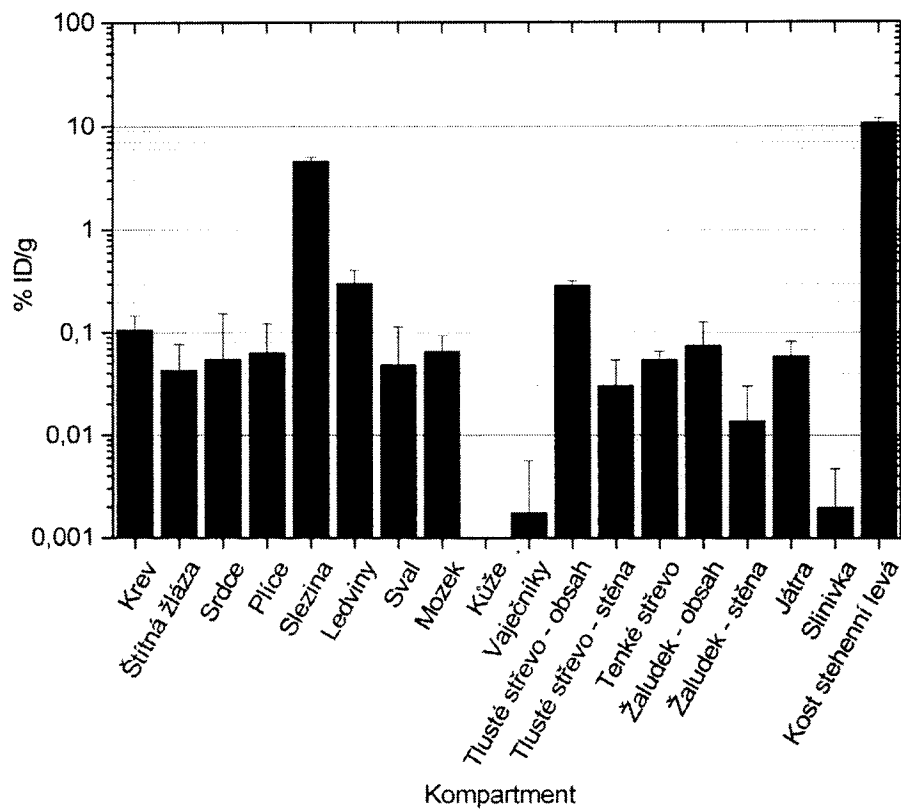
5. Kombinace podle kteréhokoliv z předchozích nároků, kde použití při léčení spočívá v režimu podávání samotné složky B alespoň dvakrát týdně alespoň do dosažení její vyšší než fyziologické koncentrace a jednorázovém podání složky A při vyšší než fyziologické koncentraci složky B, popřípadě následnému podávání samotné složky B alespoň dvakrát týdně pro udržení její vyšší než fyziologické koncentrace.

25

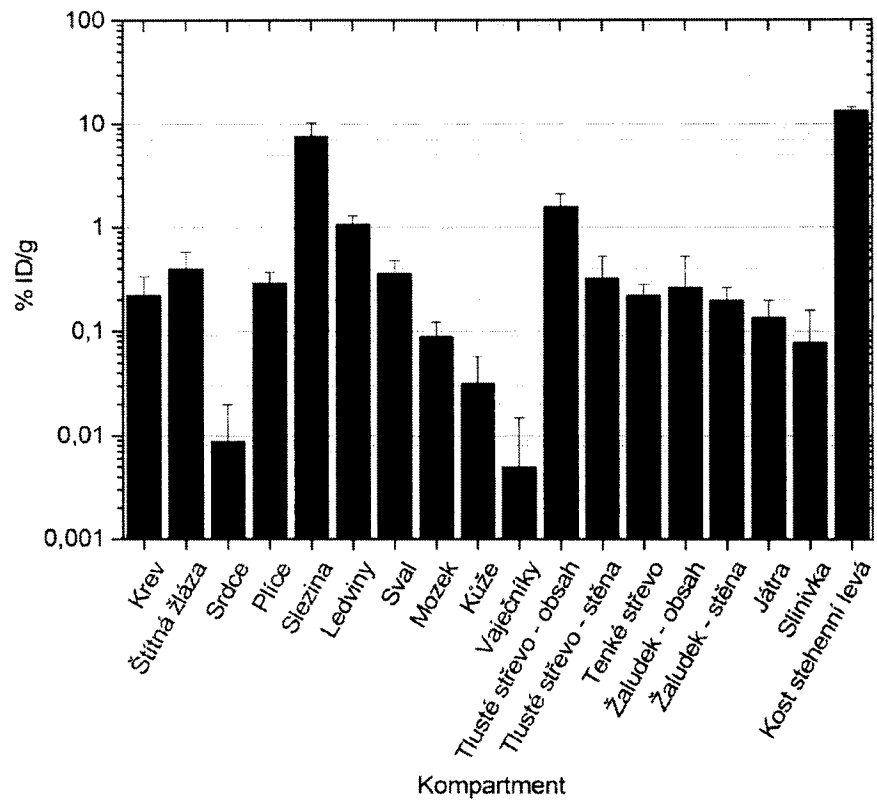
6. Kombinace podle nároku 5, ve které je podání složky A intravenózní a podání složky B orální a/nebo subkutánní a/nebo nasální a/nebo intravenózní.



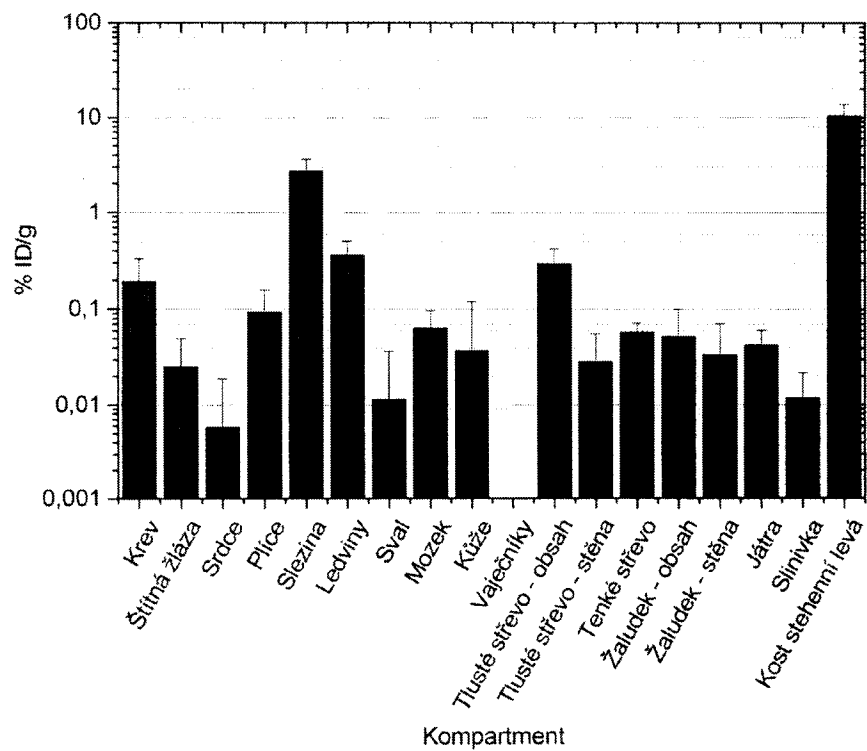
Obr. 1



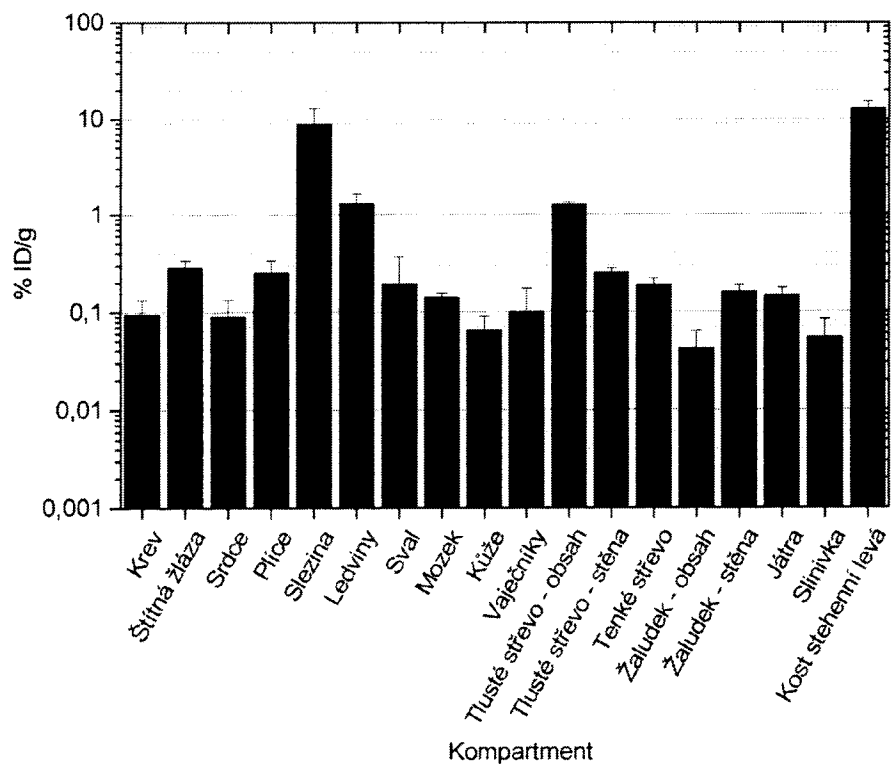
Obr. 2



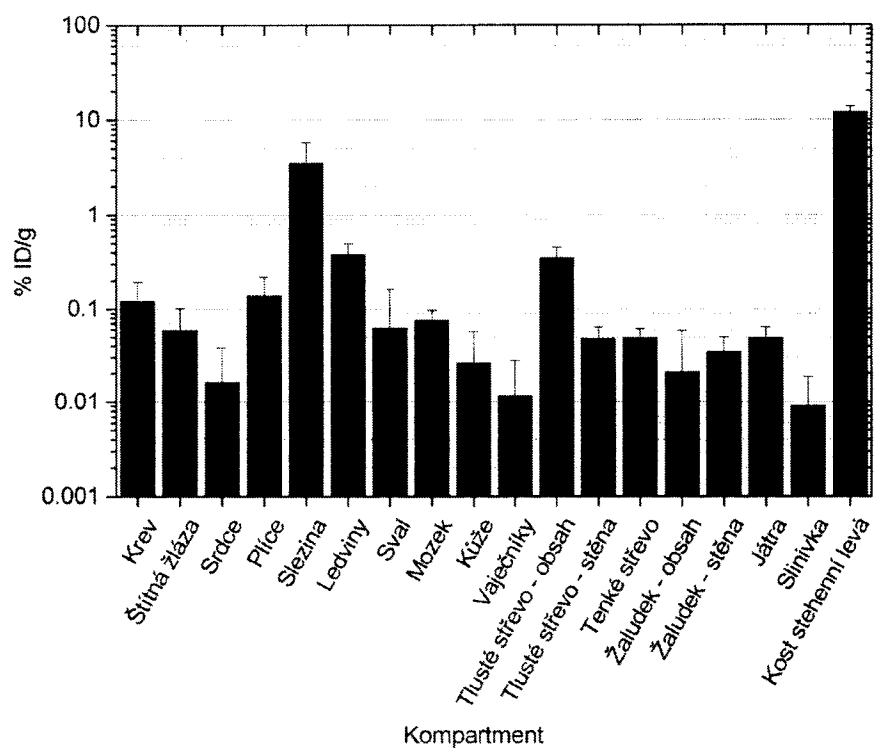
Obr. 3



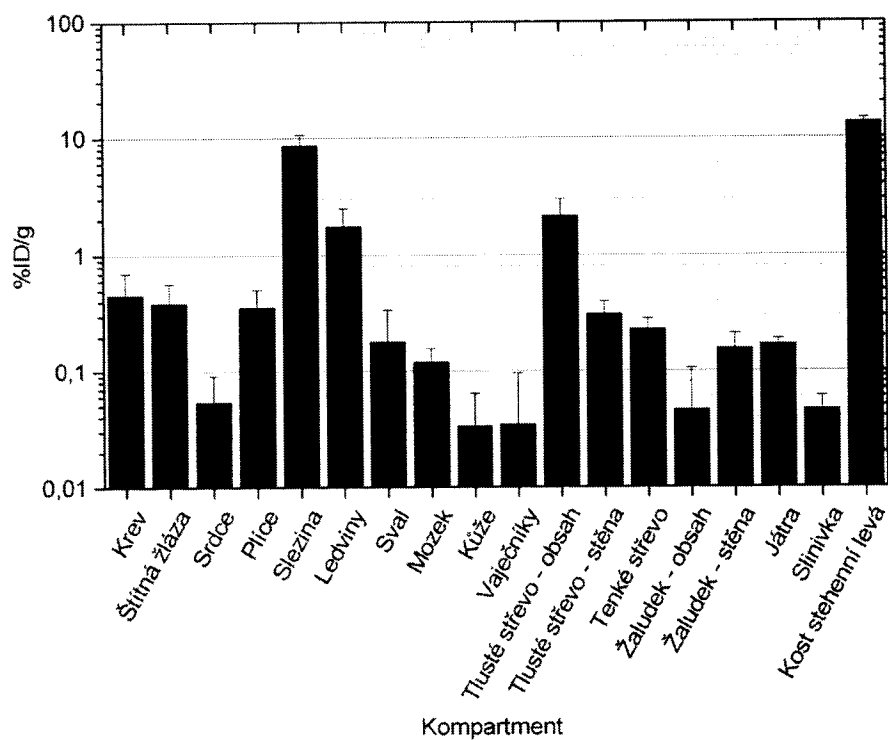
Obr. 4



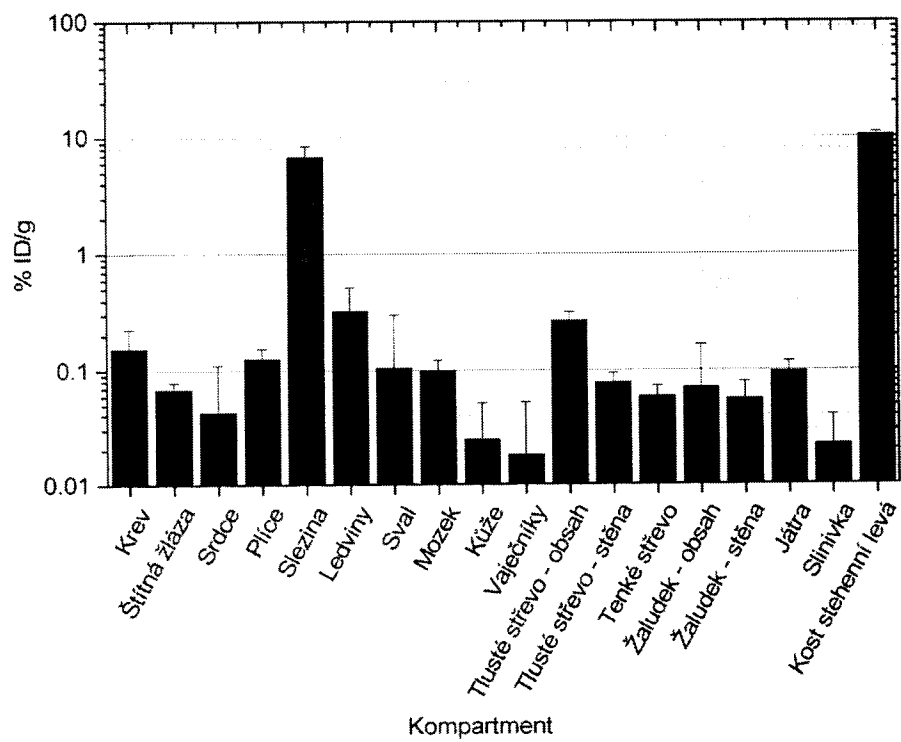
Obr. 5



Obr. 6



Obr. 7



Obr. 8