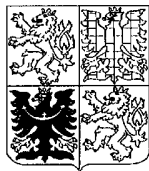


# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **02.02.1998**  
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **03.02.1997**  
(31) Číslo prioritní přihlášky: **1997/97200297**  
(33) Země priority: **EP**  
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12.01.2000**  
(Věstník č. 1/2000)  
(86) PCT číslo: **PCT/US98/01964**  
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO98/33531**

(21) Číslo dokumentu:

**1999 - 2790**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>:

**A 61 K 51/00**

**A 61 K 51/08**

**A 61 P 35/00**

(71) Přihlašovatel:  
MALLINCKRODT MEDICAL, INC.,  
St. Louis, MO, US;  
REUBI J. C., Wabern, AT;

(72) Původce:  
Reubi J. C., Wabern, AT;

(74) Zástupce:  
Kalenský Petr JUDr., Hálkova 2, Praha 2,  
120 00;

(54) Název přihlášky vynálezu:  
**Způsob detekce a lokalizaci lidských  
maligních tumorů**

(57) Anotace:

Toto řešení se týká způsobu detekce a lokalizace maligních tumorů a jejich metastáz ve tkáních lidského těla, které ve stavu zdraví a při chronickém zánětu bez neoplastických podmínek neobsahují významná množství neurotenzinových receptorů, přičemž tento způsob zahrnuje /i/ podání dotyčným člověku prostředku, který se skládá z radioaktivně značeného peptidu v množství dostačujícím pro externí zobrazování zvoleného ze skupiny zahrnující neurotenzin /NT/, agonisty neurotenzinových receptorů, antagonisty neurotenzinových receptorů, analoga neurotenzinu a deriváty neurotenzinu, a následně /ii/ podrobení dotyčného člověka externímu zobrazování skenováním radioaktivity nebo zobrazování magnetickou rezonancí, aby se určila cílová místa v těle dotyčného člověka. Toto řešení se dále týká způsobu terapeutické léčby řečených maligních tumorů podáním výše definovaného peptidu značeného k tomuto účelu a diferencially diagnostického stanovení a detekce specifického typu tumoru /tj. karcinom vývodu exokrinního pankreatu/ pankreatu. Toto řešení se také týká farmaceutického prostředku pro použití pro detekci, farmaceutického prostředku pro použití v terapii a kitu pro přípravu radiofarmaceutického prostředku.

CZ 1999 - 2790 A3

## **Způsob detekce a lokalizace lidských maligních tumorů**

### **Oblast techniky**

Tento vynález se týká způsobu detekce a lokalizace maligních tumorů a jejich metastáz ve tkáních lidského těla. Tento vynález se dále týká terapeutického ošetřování těchto nádorů v těle dotyčného člověka. Tento vynález se také týká farmaceutického prostředku k použití při těchto způsobech.

### **Dosavadní stav techniky**

Neurotenzin (NT) je neuropeptid, který způsobuje mnoho účinků v gastrointestinálním traktu a v mozku a je znám již mnoho let. Neurotenzin byl studován několika skupinami, především jeho běžná funkce u teplokrevných živočichů a lidí. Dále je v oboru známo, že neurotenzinové receptory se nacházejí u několika nádorových buněk, jako například u lidského karcinomu tlustého střeva a lidských meningomů, umístěných v nebo kolem takových tkání (tlusté střevo, mozek), které ve stavu zdraví obsahují neurotenzinové receptory (viz například mezinárodní patentová přihláška WO 95/22341).

Radioaktivně značený oktreetid obsahující osm aminokyselinových zbytků je poslední dobou obchodně dostupný pod obchodním názvem OctreoScan® 111. Toto diagnostikum, značené <sup>111</sup>In, je specificky určeno ke zobrazování tumoru, zvláště tumorů břišních (MDDI Reports: The Gray Sheet, 14, k publikování 2. listopadu 1992).

Avšak bylo zjištěno, že mnoho často vyskytujících se maligních tumorů, jako například adenokarcinomy vývodu pankreatu, nelze detekovat a lokalizovat použitím radioaktivně značeného oktreatidu.

### Postata vynálezu

Cílem tohoto vynálezu je poskytnout způsob detekce a lokalizace lidských maligních tumorů a jejich metastáz v lidském těle, zvláště často se vyskytujících tumorů vývodu pankreatu.

Takový způsob by měl být účinným prostředkem nejen v diagnostice těchto tumorů, ale také v podpoře jejich účinné léčby. Aby bylo možné dosáhnout specifické léčby k ovlivnění těchto tumorů, je detekce a lokalizace těchto tumorů a zvláště jejich metastáz v časném stadiu jejich vývoje skutečně nanejvýš důležitá. Na látku, která se používá v tomto diagnostickém způsobu, musí být kladeny různé požadavky, jako například netoxičnost, žádný nepříznivý vliv na odolnost hostitele a/nebo na terapeutickou léčbu, snadná detekovatelnost a vysoká selektivita. Tato požadovaná vysoká selektivita znamená, že poté, co se vpraví do těla, se diagnostická látka musí více hromadit v cílových detekovaných či zobrazovaných tumorech, než v okolních tkáních. Tato selektivita, tj. porovnatelně silnější koncentrace diagnostické látky v cílových tumorech ve srovnání s tkáněmi necílenými, umožňuje uživateli přesně diagnostikovat malignitu. Diagnostická látka by se měla označit, aby byla detekovatelná z vnějšku těla, přednostně radionuklidem nebo atomem paramagnetického kovu. Radioaktivní záření se může dřívějším způsobem detekovat

použitím vhodného (skenovacího) detektoru. Moderní způsoby používají v této oblasti emisní tomografii, používají-li se izotopy vyzařující gama záření, může se použít tak zvaná jednofotonová emisní výpočetní tomografie (SPECT). Použití paramagnetických diagnostických látek umožňuje detekci zobrazování metodou magnetické rezonance.

Výše definovaného cíle podle tohoto vynálezu je možné dosáhnout způsobem detekce a lokalizace maligních tumorů a jejich metastáz ve tkáních lidského těla, které ve stavu zdraví neobsahují významná množství neurotenzinových receptorů, přičemž tento způsob zahrnuje

(i) podání dotyčnému člověku prostředku, který se skládá z peptidu v množství dostačujícím pro externí zobrazování zvoleného ze skupiny zahrnující neurotenzin (NT), agonisty neurotenzinových receptorů, antagonisty neurotenzinových receptorů, analoga neurotenzinu a deriváty neurotenzinu, přičemž řečený peptid je značený

(a) radioaktivním izotopem kovu zvoleným ze skupiny zahrnující  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{203}\text{Pb}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{72}\text{As}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{113m}\text{In}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{52}\text{Fe}$ ,  $^{52m}\text{Mn}$  a  $^{51}\text{Cr}$ , nebo

(b) atomem paramagnetického kovu zvoleným ze skupiny zahrnující Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Pr, Nd, Sm, Yb, Gd, Tb, Dy, Ho a Er, nebo

(c) radioaktivním izotopem halogenu zvoleným z atomů  $^{123}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{75}\text{Br}$ ,  $^{76}\text{Br}$ ,  $^{77}\text{Br}$  a  $^{82}\text{Br}$ ,

a následně

(ii) podrobení dotyčného člověka externímu zobrazování skenováním radioaktivního záření nebo zobrazování magnetickou rezonancí, aby se určila cílová místa v těle dotyčného člověka ve vztahu k aktivitě pozadí, za účelem umožnění detekce a lokalizace uvedených tumorů v těle.

Výše uvedené značené peptidy se testovaly ve vhodných modelových experimentech, které předurčují k aplikaci in vivo. V těchto modelových experimentech se k napodobení aplikace in vivo používají vzorky lidských tkání tumorů. Experimenty jsou popsány v Příkladech. Z výsledků je zřejmé, že testované značené peptidy mají vlastnosti, které je činí přednostně vhodnými k detekci a lokalizaci maligních tumorů a jejich metastáz v takových tkáních, které ve stavu zdraví neobsahují významná množství neurotenzinových receptorů.

Tento vynález je zvláště užitečný k detekci a léčbě adenokarcinomu vývodu pankreatu. Adenokarcinom vývodu pankreatu se považuje za jeden z hlavních smrtelných karcinomů. Je to obvykle rychle progresivní a fatální onemocnění, většina pacientů umírá během 6 měsíců po stanovení diagnózy. Ke zlepšení přežití pacientů s karcinomem pankreatu se vyžaduje včasná diagnóza a systémově účinná léčba.

V nedávné studii, kterou provedl Ishizuka a kol., *Annals of Surgery*, 217, 439-446 (1993), se ukázalo, že lidské nádorové buňky pankreatu MIA PaCa-2 mají neurotenzinové receptory. Avšak podle Yunise a kol., *Int. J. Cancer*, 19, 128-135 (1977) tyto buňky vznikají z buněčné linie nediferencovaného karcinomu pankreatu, který se histologicky a biologicky neshoduje s adenokarcinomem vývodu pankreatu. Dále je možné vyvodit z dřívějších studií na somatostatinových receptorech, které provedl Reubi a kol.,

Gastroenterology, 95, 760-763 (1988) a Taylor a kol., Peptides, 15, 1229-1236 (1994), že exprese receptorů na buněčných liniích tumoru pankreatu (krysy nebo člověka) vůbec není určující pro jejich expresi u lidských primárně exokrinních pankreatických karcinomů. Je potom překvapivým jevem, že adenokarcinom vývodu pankreatu, zvláště diferencovaná forma, má velkou hustotu neurotenzinových receptorů, zatímco normální zdravá pankreatická tkáň neobsahuje významné množství neurotenzinových receptorů. Dále je překvapivé, že neurotenzinové receptory se neexprimují při chronické pankreatitidě, která je pravděpodobným premaligním stavem vedoucím ke karcinomům vývodu pankreatu, a která se extrémně obtížně diferenciaciálně diagnostikuje od karcinomu pankreatu.

Tento vynález je také užitečný k diferenciaciálně diagnostickému rozpoznání exokrinních karcinomů vývodu pankreatu v porovnání k endokrinním karcinomům pankreatu, neboť se ukázalo, že endokrinní karcinomy pankreatu neexprimují neurotenzinové receptory. Tento vynález je tedy velmi specifický způsob k rozpoznání adenokarcinomů vývodu pankreatu oproti karcinomům endokrinního pankreatu nebo chronické pankreatitidě, které by se neměly zviditelnit.

Dalším cílem tohoto vynálezu je poskytnout způsob intraoperativní detekce a lokalizace určitých lidských maligních tumorů v lidském těle, zvláště tumorů vývodu pankreatu.

Tohoto cíle je možné podle jiného aspektu tohoto vynálezu dosáhnout způsobem intraoperativní detekce a lokalizace maligních tumorů ve tkáních lidského těla, které ve stavu zdraví neobsahují významná množství

neurotenzinových receptorů, přičemž tento způsob zahrnuje

- (i) podání dotyčnému člověku prostředku, který se skládá z peptidu v množství dostačujícím pro detekci detektorem gama záření zvoleného ze skupiny zahrnující neurotenzin (NT), agonisty neurotenzinových receptorů, antagonisty neurotenzinových receptorů, analoga neurotenzinu a deriváty neurotenzinu, přičemž řečený peptid se značí  $^{161}\text{Tb}$ ,  $^{123}\text{I}$ , nebo  $^{125}\text{I}$ ,

a následně,

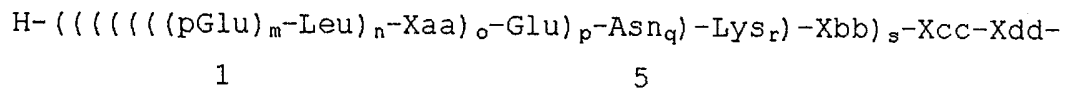
- (ii) po umožnění navázání a vychytání účinné látky řečenými tumory a po plazmatické clearance radioaktivity, podrobení dotyčného člověka radioimunodetekční metodě použitím detektoru gama záření v příslušné oblasti těla dotyčného člověka.

Ještě dalším cílem tohoto vynálezu je poskytnout způsob selektivní terapeutické léčby bez destrukce významné části okolní zdravé tkáně.

Tohoto cíle lze dosáhnout způsobem terapeutické léčby maligních tumorů ve tkáních lidského těla, které ve stavu zdraví neobsahují významná množství neurotenzinových receptorů, přičemž tento způsob zahrnuje podání dotyčnému člověku prostředku, který se skládá z peptidu v množství účinném k ničení nebo omezení tumorů zvoleného ze skupiny zahrnující neurotenzin (NT), agonisty neurotenzinových receptorů, antagonisty neurotenzinových receptorů, analoga neurotenzinu a deriváty neurotenzinu, přičemž řečený peptid je značený izotopem zvoleným ze skupiny zahrnující atomy  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{77}\text{As}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{169}\text{Er}$ ,  $^{121}\text{Sn}$ ,  $^{127}\text{Te}$ ,  $^{142}\text{Pr}$ ,  $^{143}\text{Pr}$ ,

$^{198}\text{Au}$ ,  $^{199}\text{Au}$ ,  $^{161}\text{Tb}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{165}\text{Dy}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{151}\text{Pm}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{157}\text{Gd}$ ,  $^{159}\text{Gd}$ ,  
 $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{172}\text{Tm}$ ,  $^{169}\text{Yb}$ ,  $^{175}\text{Yb}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{111}\text{Ag}$ ,  $^{124}\text{I}$  a  $^{131}\text{I}$ .

Značený peptid k použití ve způsobu podle tohoto vynálezu je přednostně odvozený od sloučeniny obecného vzorce I



Pro-Xee-Ile-Leu-OH

10

(I)

kde

Xaa představuje Tyr nebo Phe,  
 Xbb představuje Gly, Lys nebo Pro,  
 Xcc představuje Arg, Cit nebo Lys,  
 Xdd představuje Arg, Cit nebo Lys,  
 Xee představuje Tyr, Phe nebo Trp a  
 m, n, o, p, q, r a s mají každý nezávisle hodnotu 0 nebo 1,

nebo amidu této kyseliny, vytvořeného mezi volnou aminoskupinou zbytku aminokyseliny a sloučeninou obecného vzorce  $\text{R}_1\text{COOH}$ ,

kde

$\text{R}_1$  představuje alkylovou skupinu s jedním až třemi atomy uhlíku, arylkarbonylovou skupinu nebo aralkylovou skupinou s jedním až třemi atomy uhlíku v alkylové části,

nebo jejího laktamu, vytvořeného mezi volnou aminoskupinou zbytku aminokyseliny a volnou karboxyskupinou dalšího zbytku aminokyseliny,

nebo jejího konjugátu s avidinem nebo biotinem.

Vhodné příklady arylových skupin v  $R_1$  představují fenylovou skupinu, substituovanou fenylovou skupinu nebo indolylovou skupinu, přednostně fenylovou skupinu, 4-fluorfenylovou skupinu, 2- nebo 4-bromfenylovou skupinu, 2-jodfenylovou skupinu, 4-hydroxyfenylovou skupinu, 3-jod-4-hydroxyfenylovou skupinu, 4-fluor-2-bromfenylovou skupinu a 4-fluor-2-jodfenylovou skupinu.

V případě použití konjugátu peptidu s avidinem nebo biotinem se značení v případě peptidu konjugovaného s avidinem následně provede reakcí se značeným biotinem, jak popsal Kalofonos a kol., *J. Nucl. Med.*, 31, 1791 (1990), nebo reakcí se značeným avidinem v případě peptidu konjugovaného s biotinem, jak popsal Paganelli a kol., *Int. J. Cancer*, 2, 121 (1988).

Ve výše uvedených značených sloučeninách peptidů mohou mít jedna nebo více aminokyselin D-konfiguraci namísto normální L-konfigurace. Značené sloučeniny peptidů podle tohoto vynálezu mohou také obsahovat vedle přirozených amidových vazeb, tedy  $-CO-NH-$  vazeb, tak zvané pseudopeptidové vazby, tedy vazby  $-CH_2-NH-$ . Tyto modifikace aminokyselin přirozeně se vyskytující v peptidech spadají do rámce tohoto vynálezu.

Vhodnými příklady výše definovaných peptidů, které se

po označení mohou použít ve způsobu tohoto vynálezu, jsou neurotenzin a acetylneurotenzin 8-13, níže uvedených vzorců 1 a 2

(1) Neurotenzin

H-pGlu-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-OH

(2) Acetylneurotenzin 8-13

Ac-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-OH

Jestliže se výše definovaný peptid značí radioaktivním atomem halogenu, řečený radioaktivní atom halogenu je přednostně zvolený ze skupiny zahrnující  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{75}\text{Br}$ ,  $^{76}\text{Br}$ ,  $^{77}\text{Br}$  a  $^{82}\text{Br}$ , přičemž řečený radioaktivní izotop atomu halogenu se připojí k Tyr či Trp zbytku peptidu nebo k arylové skupině substituentu  $\text{R}_1$ .

Sloučeniny peptidů značené radioaktivním atomem halogenu se mohou připravit způsobem známým pro příslušné sloučeniny. Příkladem takového způsobu přípravy je reakce výměny halogenu, kdy se neradioaktivní atom bromu nebo jódu, napojený na tyrosinový zbytek v poloze 2 fenylového cyklického kruhu, podrobí reakci s radioaktivním halogenidem rozpustným ve vodě v přítomnosti mědných iontů, kyseliny rozpustné ve vodě (např. kyseliny citrónové) a redukčního činidla (například cínatých solí, kyseliny gentisové, kyseliny izoaskorbové, monosacharidu a siřičitanu). Taková reakce výměny halogenu je popsána v evropské patentové přihlášce č. 165 630.

Jestliže se výše definovaný peptid značí atomem kovu, řečený atom kovu se přednostně zvolí ze

(a) skupiny zahrnující radioaktivní izotopy  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{203}\text{Pb}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{72}\text{As}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{113m}\text{In}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{52}\text{Fe}$ ,  $^{52m}\text{Mn}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{77}\text{As}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{169}\text{Er}$ ,  $^{121}\text{Sn}$ ,  $^{127}\text{Te}$ ,  $^{142}\text{Pr}$ ,  $^{143}\text{Pr}$ ,  $^{198}\text{Au}$ ,  $^{199}\text{Au}$ ,  $^{161}\text{Tb}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{165}\text{Dy}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{151}\text{Pm}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{157}\text{Gd}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{172}\text{Tm}$ ,  $^{169}\text{Yb}$ ,  $^{175}\text{Yb}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{105}\text{Rh}$  a  $^{111}\text{Ag}$ , nebo

(b) ze skupiny zahrnující ionty paramagnetických kovů Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Pr, Nd, Sm, Yb, Gd, Tb, Dy, Ho a Er,

přičemž řečený atom kovu se připojí k peptidu prostřednictvím chelatační skupiny, která chelatuje řečený atom a tato chelatační skupina se váže k molekule peptidu amidovou vazbou nebo přes vzdalující skupinu.

Vhodnými chelatačními skupinami k chelataci řečeného atomu kovu jsou tetragonální chelatační činidla obecného vzorce  $\text{N}_t\text{S}_{(4-t)}$ , kde  $t$  má hodnotu 2 až 4, nebo skupiny odvozené od kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA), kyseliny diethylentriaminpentaoctové (DTPA), kyseliny cyklohexyl-1,2-diamintetraoctové (CDTA), kyseliny ethylenglykol-O,O'-bis(2-aminoethyl)-N,N,N',N'-tetraoctové (EGTA), kyseliny N,N-bis(hydroxybenzyl)-ethylendiamin-N,N'-dioctové (HBED), kyseliny triethylentetraaminhexaoctové (TTHA), kyseliny 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-N,N',N'',N'''-tetraoctové (DOTA), kyseliny hydroxyethyl-diamintriocové (HEDTA), kyseliny 1,4,8,11-tetraazacyklo-tetradekan-N,N',N'',N'''-tetraoctové (TETA), substituované DTPA, substituované EDTA nebo od sloučeniny obecného vzorce II

-11-

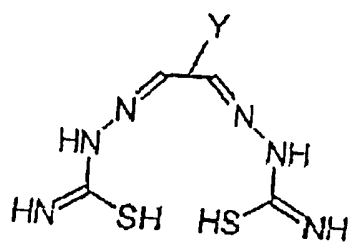
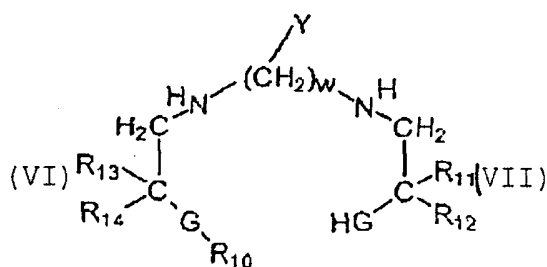
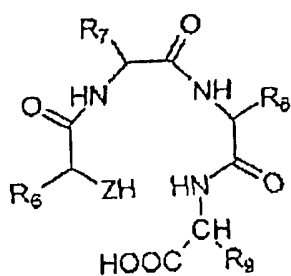


kde

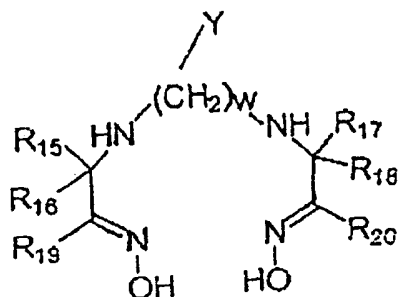
$R_1$  představuje rozvětvený nebo nerozvětvený popřípadě substituovaný uhlovodíkový zbytek, který může být přerušen jedním nebo více heteroatomy zvolenými z atomu dusíku, kyslíku a síry, a/nebo jednou nebo více skupinami -NH- a

$Q$  představuje skupinu, která je schopna reagovat s amino-skupinou peptidu, a která je přednostně zvolena ze skupiny zahrnující karbonylovou skupinu, karbonimidoylovou skupinu, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alkylkarbonimidoylovou skupinu, N-hydroxykarbonimidoylovou skupinu a N-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alkoxykarbonimidoylovou skupinu.

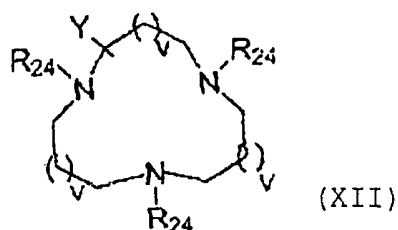
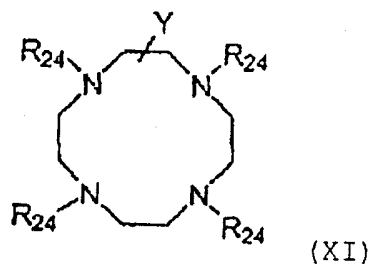
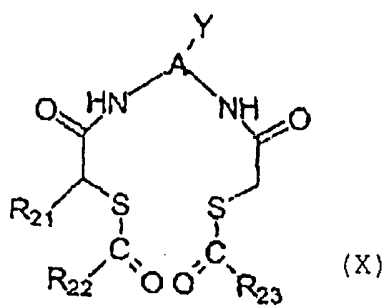
Chelatační činidla obecného vzorce  $N_tS_{(4-t)}$ , kde  $t$  má hodnotu 2 až 4, jsou přednostně zvoleny ze sloučenin obecných vzorců VI až XII



(VIII)



(IX)



kde

$R_6$ - $R_{20}$  každý nezávisle představuje atom vodíku nebo alkylovou skupinu s jedním až čtyřmi atomy uhlíku, s podmínkou, že nejméně jeden z uhlíků 6 až 9 představuje výraz Y,

$R_{21}$  představuje atom vodíku nebo alkoxykarbonylovou skupinu s jedním až čtyřmi atomy uhlíku v alkylové části

$R_{22}$  a  $R_{23}$  každý nezávisle představuje alkylovou skupinu s jedním až čtyřmi atomy uhlíku nebo fenylovou skupinu,

v má hodnotu 0 nebo 1,

w má hodnotu 2 nebo 3,

$R_{24}$  představuje zbytek kyseliny octové nebo jejího funkčního derivátu,

A představuje alkylenovou skupinu s jedním až čtyřmi atomy uhlíku, je-li to žádoucí, substituovanou



alkoxykarbonylovou skupinou,  $\text{CH}_2\text{CO}$ alkylovou skupinou, karbamoylovou skupinou,  $\text{CONHCH}_2\text{CO}_2$ alkylovou skupinou, fenylenovou skupinu, fenylenovou skupinu substituovanou alkyloxykarbonylovou skupinou, s jedním až čtyřmi atomy uhlíku v alkylové části,

G představuje skupinu  $-\text{NH}-$  nebo atom síry,

Y představuje funkční skupinu schopnou vazby s volnou aminoskupinou peptidu nebo se vzdalující skupinou a

Z představuje atom síry nebo atom kyslíku.

Řečená funkční skupina Y přednostně zahrnuje isokyanatoskupinu, isothiokyanatoskupinu, formyl, o-halogennitrofenyl, diazonium, epoxyskupinu, trichlor-s-triazinyl, ethyleniminoskupinu, chlorsulfonyl, alkoxykarbonimidoyl, substituovaný či nesubstituovaný alkykarbonyloxykarbonyl, alkykarbonimidazolyl, sukcinimidoxykarbonyl, přičemž řečená skupina je připojena k bifunkčnímu uhlovodíkovému zbytku s jedním až deseti atomy uhlíku.

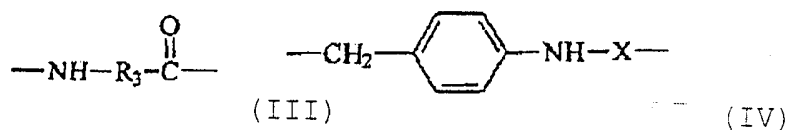
Vhodnými příklady uhlovodíkových bifunkčních zbytků jsou bifunkční zbytky odvozené od benzenu, alkanů s jedním až šesti atomy uhlíku, alkenů se dvěma až šesti atomy uhlíku a alkybenzenů s jedním až čtyřmi atomy uhlíku.

Příklady vhodných chelatačních činidel obecného vzorce II jsou popsány v mezinárodní patentové přihlášce WO 89/07456, jako například nesubstituované nebo substituované 2-iminothiolany a 2-iminothiacyklohexany, zvláště 2-imino-4-merkaptomethylthiolan.

Upřednostňovanými chelatačními skupinami jsou skupiny

odvozené od kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA) nebo kyseliny 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-N,N',N'',N'''-tetraoctové (DOTA), jak je zmíněno výše.

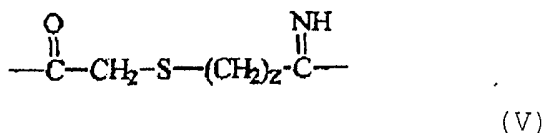
Vhodnými příklady vzdalujících skupin, jsou-li přítomny v peptidové molekule značené atomem kovu, jsou skupiny obecného vzorce III nebo IV



kde

R<sub>3</sub> představuje alkylenovou skupinu s jedním až deseti atomy uhlíku, alkyldenovou skupinu se dvěma až deseti atomy uhlíku a

X představuje thiokarbonylovou skupinu nebo skupinu obecného vzorce V



kde z má hodnotu 1 až 5.

Konjugáty s avidinem nebo biotinem se vytvoří způsobem, který popsali Paganelli a kol., *Int. J. Cancer*, 2, 121 (1988), Kalofonos a kol., *J. Nucl. Med.*, 31, 1791 (1990) a Anderson a kol., *FEBS LETT.*, 282(1), 35 - 40 (1991).

Peptidy značené kovem podle tohoto vynálezu se mohou



připravit způsobem dobře známým pro příslušné sloučeniny a pro některá ztělesnění popsaná v mezinárodní patantové přihlášce WO 95/22341 a francouzském patentu č. 2 687 680-A1. Za tímto účelem se molekula peptidu derivatizuje požadovaným chelatačním činidlem, jak se definuje výše, například činidlem obecného vzorce  $N_tS_{(4-t)}$ , EDTA, DTPA, DOTA atd., přímo nebo po zavedení vzdalující skupiny, jak se definuje výše, po němž se získaná sloučenina nechá reagovat s izotopem kovu, jak se definuje výše, který je ve formě soli nebo chelátu vázanému k porovnatelně slabšímu chelatačnímu činidlu, aby se vytvořil komplex.

Vhodnými příklady solí nebo chelátů požadovaných atomů kovů jsou:  $^{111}\text{In}$ -oxinát,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tartrát, atd. Reakce, kterou se vytváří komplex, se může obvykle uskutečnit jednoduchým způsobem a v podmínkách, které nejsou škodlivé pro peptid.

Vynález se také týká použití značeného peptidu obecného vzorce I, jak je definován výše, k přípravě diagnostického prostředku pro detekci nebo lokalizaci nebo k terapeutické léčbě maligních lidských tumorů včetně jejich metastáz ve tkáních lidského těla, které ve stavu zdraví neobsahují významná množství neurotenzinových receptorů.

Vynález se dále týká farmaceutického prostředku pro použití k výše definovanému způsobu, který kromě farmaceuticky přijatelné nosné látky a je-li to žádoucí, nejméně jednoho farmaceuticky přijatelného adjuvans, obsahuje jako účinnou látku v množství dostačujícím pro externí zobrazování, pro detekci detektorem gama záření nebo pro ničení nebo omezení tumorů značený peptid definovaný výše obecným vzorcem I, s podmínkou, že  $r$  a  $s$  ve vzorci mají hodnotu 1.

Často není možné podat k dispozici uživateli prostředek připravený k použití, v souvislosti s malou trvanlivostí radioaktivně značené sloučeniny a/nebo krátkým poločasem použitého radionuklidu. V takových případech uživatel provede reakci značení radionuklidem na klinice nebo v klinické laboratoři. K tomuto účelu jsou potom různé reakční složky uživateli nabízeny ve formě tak zvaných „kitů“. Je zřejmé, že manipulace nutné k provedení požadované reakce by měly být co nejjednodušší, aby použitím usnadnění, které má k dispozici, umožnily uživateli připravit z kitu radioaktivně značený prostředek.

Takový kit podle tohoto vynálezu k přípravě radiofarmaceutického prostředku pro detekci a lokalizaci maligních tumorů a jejich metastáz ve tkáních, které ve stavu zdraví neobsahují významná množství neurotenzinových receptorů, zahrnuje

(i) derivatizovaný peptid obecného vzorce I, jak je definován výše, s podmínkou, že  $r$  a  $s$  ve vzorci I mají hodnotu 1, přičemž k tomuto derivatizovanému peptidu, požaduje-li se, se přidají inertní farmaceuticky přijatelná nosná látka a/nebo formulační látky a/nebo adjuvancia,

(ii) roztok soli nebo chelátu izotopu kovu zvoleného ze skupiny zahrnující  $^{203}\text{Pb}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{72}\text{As}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{113\text{m}}\text{In}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{52}\text{Fe}$ ,  $^{52\text{m}}\text{Mn}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{77}\text{As}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{69}\text{Cu}$ ,  $^{169}\text{Er}$ ,  $^{121}\text{Sn}$ ,  $^{127}\text{Te}$ ,  $^{142}\text{Pr}$ ,  $^{143}\text{Pr}$ ,  $^{199}\text{Au}$ ,  $^{199}\text{Au}$ ,  $^{161}\text{Tb}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{165}\text{Dy}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{151}\text{Pm}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{157}\text{Gd}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{172}\text{Tm}$ ,  $^{169}\text{Yb}$ ,  $^{175}\text{Yb}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{105}\text{Rh}$  a  $^{111}\text{Ag}$  a

(iii) návod k použití s předpisem k reakci složek přítomných v kitu.

Přednostně se sloučenina peptidu k použití jako složka výše uvedeného kitu derivatizuje reakcí s výše definovaným chelatačním činidlem. Výsledný konjugát peptidu poskytuje usnadnění pro pevné připojení radionuklidu jednoduchým způsobem. Vhodná chelatační činidla k modifikaci tohoto peptidu jsou detailně popsána výše. Di- nebo polyoctové kyseliny nebo jejich deriváty, obsahující dusík, jako například sloučeniny zmíněné výše, se ukázaly být přednostně vhodnými k připojení různých radionuklidů kovů k molekulám peptidů, jako například  $^{111}\text{In}$  a  $^{113\text{m}}\text{In}$ . Kit, který se má dodat uživateli, může také obsahovat složku/y, která/které je/ jsou definována/y výše pod (i), spolu s návodem k použití, zatímco roztok soli nebo chelátu radionuklidu definovaný výše pod (ii), který má omezenou trvanlivost, se může dát k dispozici uživateli odděleně.

V případě, že kit slouží k přípravě radiofarmaceutického prostředku značeného  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ , může takový kit podle tohoto vynálezu obsahovat kromě složek/y definované/ých výše pod (i), (ii) redukční činidlo a požaduje-li se, chelatační činidlo a (iii) návod k použití s předpisem k reakci složek kitu s  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ve formě roztoku technecistanu, nebo s  $^{186}\text{Re}$  nebo  $^{188}\text{Re}$  ve formě roztoku rhenistanu. Požaduje-li se, složky kitu se mohou smísit, za předpokladu, že jsou kompatibilní. Kit by měl obsahovat redukční činidlo k redukci technecistanu nebo rhenistanu, jako například dithioničitan, kovová redukční činidla nebo komplex stabilizující redukční činidla, například  $\text{SnCl}_2$ ,  $\text{Sn}^{\text{II}}$ -tartrát,  $\text{Sn}^{\text{II}}$ -fosfonát nebo  $\text{Sn}^{\text{II}}$ -pyrofosfát, nebo  $\text{Sn}^{\text{II}}$ -glukoheptonan. Roztok technecistanu nebo rhenistanu se může

uživatelé získat jednoduchým způsobem z vhodného generátoru.

Je-li radionuklid přítomen v kitu samostatně, může se komplexní reakce s derivatizovaným peptidem jednoduše provést tak, že se složky sloučí v neutrálním prostředí a přivedou k reakci. K tomuto účelu se může radionuklid přidat k derivatizovanému peptidu ve formě chelátu vázanému k porovnatelně slabšímu chelatačnímu činidlu, jak je popsáno výše.

Obsahuje-li kit derivatizovaný peptid, jak je definován výše, a je-li určen k přípravě radiofarmaceutického prostředku značeného  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{186}\text{Re}$  nebo  $^{188}\text{Re}$ , jak je definován výše, přidá se radionuklid přednostně odděleně ve formě roztoku technecistanu nebo rhenistanu. V takovém případě bude kit obsahovat vhodné redukční činidlo a požaduje-li se, chelatační činidlo, k redukci roztoku technecistanu nebo rhenistanu. Jako redukční činidlo se může použít například dithioničitan nebo kovové redukční činidlo. Složky se mohou nezávisle mísit za podmínky, že jsou kompatibilní. Takový monokomponentní kit, ve kterém se slučované složky výhodně lyofilizují, se výborně hodí k tomu, aby uživatel provedl reakci těchto složek s roztokem radionuklidu. Jako redukční činidlo pro výše zmíněné kity se výhodně používá kovové redukční činidlo, například  $\text{Sn}^{\text{II}}$ ,  $\text{Ce}^{\text{III}}$ ,  $\text{Fe}^{\text{II}}$ ,  $\text{Cu}^{\text{I}}$ ,  $\text{Ti}^{\text{III}}$  nebo  $\text{Sb}^{\text{III}}$ ; výborně se hodí  $\text{Sn}^{\text{II}}$ . Peptidová složka výše zmíněných kitů, tj. výhodně derivatizovaný peptid, se může dodat jako roztok, například ve formě izotonického roztoku chloridu sodného, nebo v některém roztoku pufru, ale upřednostňuje se v suchém stavu, například v lyofilizovaném stavu. Používá-li se jako součást injekčního roztoku, měl by být sterilní a je-li složka v suchém stavu, uživatel by měl přednostně

použit jako rozpouštědlo sterilní izotonický roztok chloridu sodného. Požaduje-li se, může se výše zmíněná konstituční pomocná látka obvyklým způsobem stabilizovat vhodnými stabilizátory, například kyselinou askorbovou, kyselinou gentisovou nebo solemi těchto kyselin, nebo mohou být zahrnuty jiné pomocné látky, například plniva, jako například glukóza, laktóza, manitol a podobně.

Vynález bude nyní zeširoka popsán s odkazem na následující konkrétní příklad.

#### Příklady provedení vynálezu

##### PŘÍKLAD 1

Receptorová autoradiografie se provádí na 10 a 20 mm tenkých kryostatických řezech různých vzorků tumorů, jak popsal Reubi a kol., *Cancer Res.*, 50, 5969 - 5977 (1990).

Neznačený neurotenzin, neurotenzin 1-11 a acetylneurotenzin 8-13 se získaly od Bachem AG, Bubendorf, Switzerland.

Peptidy značené  $^{125}\text{I}$  se připraví způsobem jodační reakce s chloraminem T podle způsobů, které dříve publikoval Greenwood a kol., *Biochemical Journal*, 89, 114 - 123 (1963).

Neurotenzin značený  $^{125}\text{I}$  se oddělí HPLC chromatografií s použitím kolony  $\text{RC}_{18}$  s reverzními fázemi a kyseliny butansulfonové jako eluentu. Monojodovaná sloučenina  $^{125}\text{I}$  (pGlu-Leu- $^{125}\text{I}$ -Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ileu-Ileu) se HPLC eluuje jako jeden pík a analyzuje hmotnostní spektrofotometrií. Specifická aktivita: (2000 Ci/mmol, tj.  $7,4 \cdot 10^{13}$  Bq/mmol). Tkáně se rozřežou v kryostatu, upevní na mikroskopická skla, a potom se nejméně 3 dny skladují při

-20 °C, aby se zlepšila adheze tkáně na krycí sklo. Řezy upevněné na skla se nechají dosáhnout teploty místnosti. Pak se skla po dobu 60 min při 4 °C inkubují v roztoku 40,000 dpm/100 µl (dpm = přeměn za minutu) monoiod[<sup>125</sup>I]Tyr<sup>3</sup>-neurotenzinu (2000 Ci/mmol, tj 7,4.10<sup>13</sup> Bq/mmol) v roztoku 50mM Tris-HCl pufru s hodnotou pH 7,6, obsahujícím 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 % bovinního sérového albuminu a 5.10<sup>-5</sup> µM bacitracinu. Další řezy se inkubují v přítomnosti 0,5 µM nativního neurotenzinu k určení nespecifické vazby. Po inkubaci se řezy při 4 °C 8 min postupně promývají čtyřmi lázněmi obsahujícími 50mM Tris-HCl pufr s hodnotu pH 7,6, ponoří se do ledové vody a potom se rychle vysuší v lednici proudem chladného vzduchu. Řezy se potom na 1 týden vystaví <sup>3</sup>H-Ultrofilmu, aby se přesně určilo umístění radioaktivity.

Vytěšňovací experimenty používající postupné řezy tumory se provedou s rostoucími koncentracemi různých biologicky aktivních nebo inaktivních peptidů (viz výše zmíněná publikace Reubi a kol.). K porovnání s neurotenzinem se použijí neurotenzin 1-11 a acetylneurotenzin 8-13.

Přiložený obrázek 1 ukazuje vytěšňovací křivky vazby [<sup>125</sup>I]-neurotenzinu k tkáňovým řezům lidským diferencovaným adenokarcinomem vývodu pankreatu. Tkáňové řezy se inkubují 40,000 dpm/100 µl [<sup>125</sup>I]-neurotenzinu a vzrůstajícími koncentracemi neznačeného neurotenzinu, neurotenzinu 1-11 a acetylneurotenzinu 8-13. Každý bod představuje optickou hustotu vazby měřenou v oblasti tumoru. Od všech hodnot se odečte nespecifická vazba. Kompletního vytěšnění ligandu se dosáhne neurotenzinem nebo acetylneurotenzinem 8-13, zatímco neurotenzin 1-11 je v rozmezí nanomolů inaktivní.

Tento experiment ukazuje, že adenokarcinomy vývodu pankreatu mají neurotenzinové receptory s vysokou afinitou pouze k biologicky aktivním analogům neurotenzinu.

## PŘÍKLAD 2

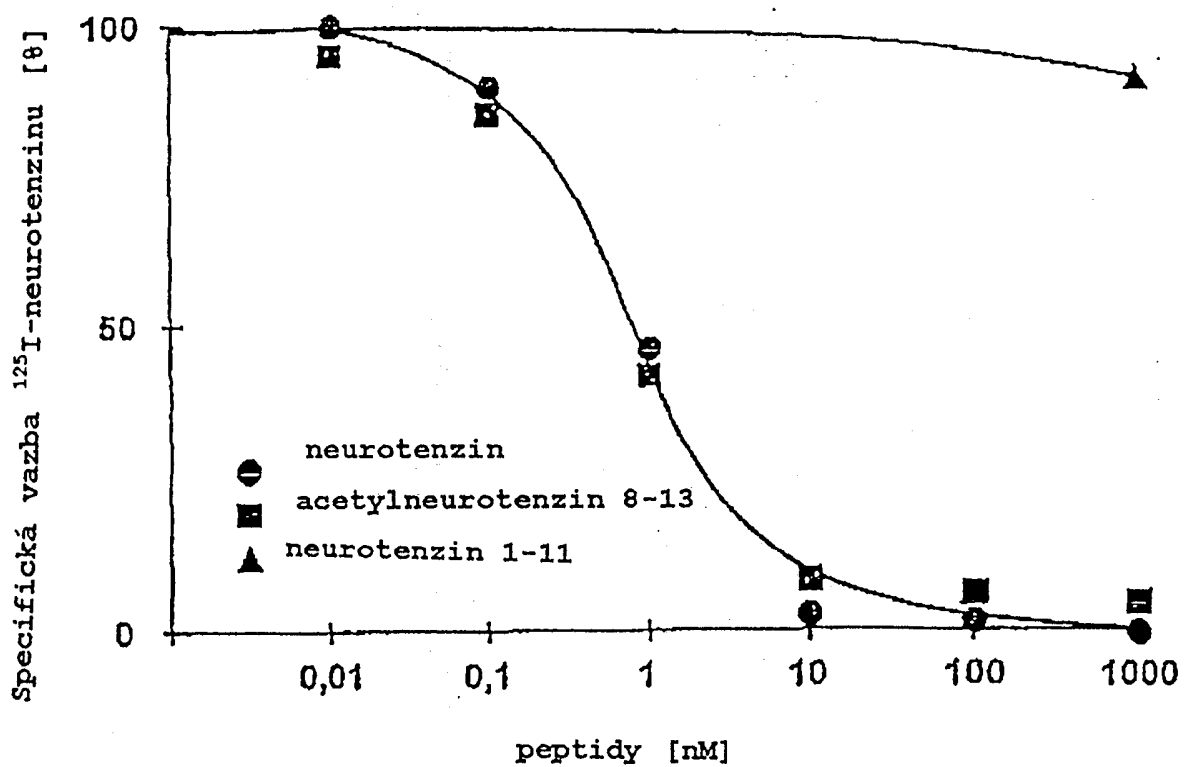
Receptorová autoradiografie se provede na různých tkáních pankreatu pomocí [<sup>125</sup>I] značeného neurotenzinu, jak se popisuje v příkladu 1. Hustota neurotenzinových receptorů se měří metodou konstrukce obrazu počítačovým systémem, jak popsal Reubi a kol., *Cancer Res.*, 50, 5969-5977 (1990), s použitím tkáňových standardů pro jodované sloučeniny podle Amershamu. Hustota receptorů se vyjádří v počtu přeměn za minutu na mg (dpm/mg) tkáně.

Přiložený obrázek 2 ukazuje hustotu neurotenzinových receptorů

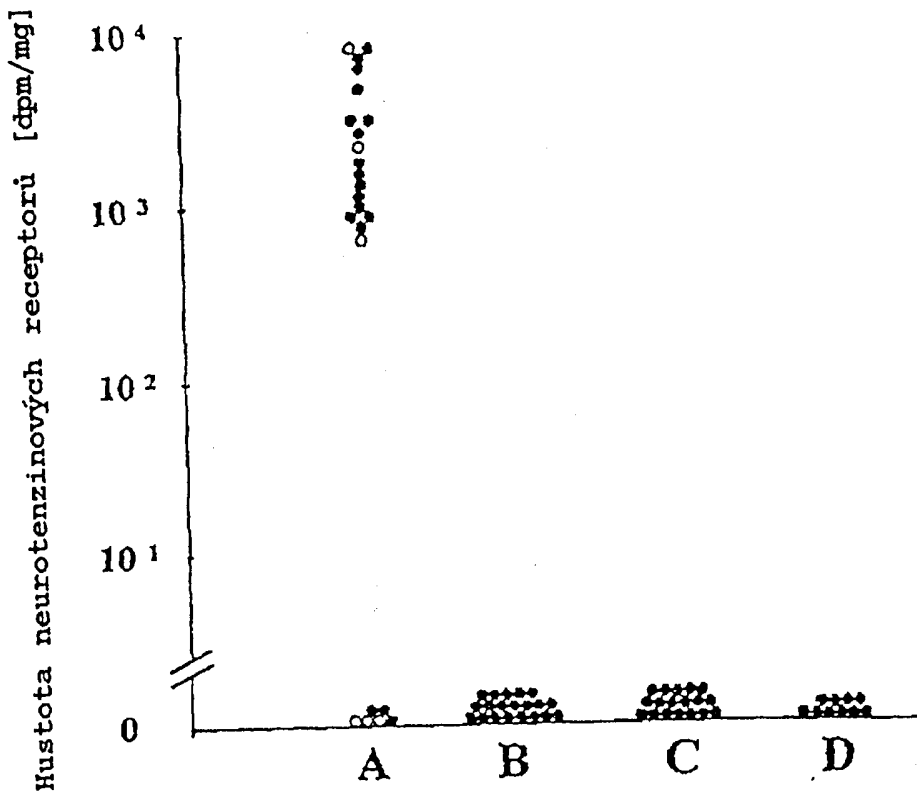
- A) na adenokarcinomech vývodu pankreatu (n = 24), v 18 případech jsou tumory diferencované (•) (stupně I nebo II), v šesti případech jsou hůře diferencované nádory (◦) (stupně II-III nebo III).
- B) na karcinomech endokrinního pankreatu (n = 20)
- C) při chronické pankreatitidě (n = 18)
- D) na normálním pankreatu (n = 10)

Tento příklad ukazuje, že neurotenzinové receptory jsou exprimovány u 75 % lidských karcinomů pankreatu (A), zatímco u normálních lidských pankreatů (D), při chronické pankreatitidě (C) a karcinomů endokrinního pankreatu (B) úplně chybí. Dále se zdá, že diferencované tumory (stupně I nebo II) jsou na neurotenzinové receptory pozitivní častěji než málo diferencované tumory (stupně II-III a III).

Obrázek 1: Karcinom vývodu pankreatu



Obrázek 2: Karcinom vývodu pankreatu



Přehled sekvencí

(1) Obecné informace

(i) Přihlašovatel

- (A) JMÉNO: Mallinckrod Medical, Inc.
- (B) ULICE: 675 McDonnel Blvd.
- (C) MĚSTO: St. Luis
- (D) STÁT: Missouri
- (E) OBEC: USA
- (F) POŠTOVNÍ KÓD (ZIP): 631 34
- (G) TELEFON: 1(0)314 654 8955
- (H) TELEFAX: 1(0)314 654 3156

(ii) Název vynálezu: Způsob detekce a lokalizace  
lidských maligních tumorů

(iii) Počet sekvencí: 2

(iv) Počítačově snímatelné z:

- (A) TYP MEDIA: disketa
- (B) POČÍTAČ: IBM PC kompatibilní
- (C) OPERAČNÍ SYSTÉM: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: Patentové vydání #1,0, verze  
#1.30 (EPO)

(2) Informace pro sekvenci uvedenou pod číslem 1:

(i) Charakteristika sekvence:

(A) DĚLKA: 13 aminokyselin

(B) TYP: aminokyselina

(C) STOČENÍ:

(D) TOPOLOGIE: lineární

(ii) Typ molekuly: peptid

(iii) Hypotetický: ne

(iv) Protiklad: ne

(ix) Význam:

(A) NÁZEV/KLÍČ: modifikovaná poloha

(B) UMÍSTĚNÍ: 1

(C) JINÉ INFORMACE: /produkt = „JINÝ“/poznámka =  
„Xaa představuje kyselinu  
pyroglutamovou“

(ix) Význam:

(A) NÁZEV/KLÍČ: modifikovaná poloha

(B) UMÍSTĚNÍ: 1,13

(C) JINÉ INFORMACE: /produkt = „JINÝ“/poznámka =  
„Peptid je značený radionuklidem  
nebo izotopem paramagnetického  
kovu.“

(xi) Popis sekvence uvedené pod číslem 1:

Xaa-Leu-Tyr-Glu-Asn-Leu-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu

1

5

10

(2) Informace pro sekvenci uvedenou pod číslem 2:

(i) Charakteristika sekvence

(A) DĚLKA: 6 aminokyselin

(B) TYP: aminokyselina

(C) STOČENÍ:

(D) TOPOLOGIE: lineární

(ii) Typ molekuly: peptid

(iii) Hypotetický: ne

(iv) Protiklad: ne

(ix) Význak:

(A) NÁZEV/KLÍČ: modifikovaná poloha

(B) UMÍSTĚNÍ: 1

(C) JINÉ INFORMACE: /produkt = „JINÝ“/poznámka =  
„Arginin v poloze 1 je acetylován.“

(ix) Význak:

(A) NÁZEV/KLÍČ: modifikovaná poloha

(B) UMÍSTĚNÍ: 1,6

(C) JINÉ INFORMACE: /produkt = „JINÝ“/poznámka =  
„Peptid je značený radionuklidem  
nebo izotopem paramagnetického  
kovu.“

(xi) Popis sekvence uvedené pod číslem 2:

Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu

1

5

## P A T E N T O V É   N Á R O K Y

1. Způsob detekce a lokalizace tumorů vývodu exokrinního pankreatu a jejich metastáz ve tkáních lidského těla, které ve stavu zdraví a při chronickém zánětu bez neoplastických podmínek neobsahují významná množství neurotenzinových receptorů, **vyznačující se tím**, že zahrnuje

(i) podání dotyčnému člověku prostředku, který se skládá z peptidu v množství dostačujícím pro externí zobrazování zvoleného ze skupiny zahrnující neurotenzin (NT), agonisty neurotenzinových receptorů, antagonisty neurotenzinových receptorů, analoga neurotenzinu a deriváty neurotenzinu, přičemž řečený peptid je značený

(a) radioaktivním izotopem kovu zvoleným ze skupiny zahrnující  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{203}\text{Pb}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{72}\text{As}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{113m}\text{In}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{52}\text{Fe}$ ,  $^{52m}\text{Mn}$  a  $^{51}\text{Cr}$ , nebo

(b) atomem paramagnetického kovu zvoleným ze skupiny zahrnující Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Pr, Nd, Sm, Yb, Gd, Tb, Dy, Ho a Er, nebo

(c) radioaktivním izotopem halogenu zvoleným z atomů  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{75}\text{Br}$ ,  $^{76}\text{Br}$ ,  $^{77}\text{Br}$  a  $^{82}\text{Br}$ ,

a následně

(ii) podrobení dotyčného člověka externímu zobrazování skenováním radioaktivity nebo magnetickou rezonancí,

aby se určila cílová místa v těle dotyčného člověka ve vztahu k aktivitě pozadí, za účelem umožnění detekce a lokalizace uvedených nádorů v těle.

2. Způsob intraoperativní detekce a lokalizace tumorů vývodu exokrinního pankreatu ve tkáních lidského těla, které ve stavu zdraví a při chronickém zánětu bez neoplastických podmínek neobsahují významná množství neurotenzinových receptorů, **vyznačující se tím**, že zahrnuje

(i) podání dotyčnému člověku prostředku, který se skládá z peptidu v množství dostačujícím pro detekci detektorem gama záření zvoleného ze skupiny zahrnující neurotenzin (NT), agonisty neurotenzinových receptorů, antagonisty neurotenzinových receptorů, analoga neurotenzinu a deriváty neurotenzinu, přičemž řečený peptid je značený  $^{161}\text{Tb}$ ,  $^{123}\text{I}$ , nebo  $^{125}\text{I}$ ,

a následně

(ii) po umožnění navázání a vychytání účinné látky v řečených tumorech a po plazmatické clearance radioaktivity podrobení dotyčného člověka radioimunodetekční metodě použitím detektoru gama záření v příslušné oblasti těla dotyčného člověka.

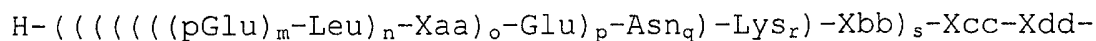
3. Způsob terapeutické léčby tumorů vývodu exokrinního pankreatu ve tkáních lidského těla, které ve stavu zdraví a při chronickém zánětu bez neoplastických podmínek neobsahují významná množství neurotenzinových receptorů, **vyznačující se tím**, že zahrnuje podání dotyčnému člověku prostředku, který

se skládá z peptidu v množství účinném k ničení nebo omezení tumorů zvoleného ze skupiny zahrnující neurotenzin (NT), agonisty neurotenzinových receptorů, antagonisty neurotenzinových receptorů, analoga neurotenzinu a deriváty neurotenzinu, přičemž řečený peptid je značený izotopem zvoleným ze skupiny zahrnující  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{77}\text{As}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{169}\text{Er}$ ,  $^{121}\text{Sn}$ ,  $^{127}\text{Te}$ ,  $^{142}\text{Pr}$ ,  $^{143}\text{Pr}$ ,  $^{198}\text{Au}$ ,  $^{199}\text{Au}$ ,  $^{161}\text{Tb}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{165}\text{Dy}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{151}\text{Pm}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{157}\text{Gd}$ ,  $^{159}\text{Gd}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{172}\text{Tm}$ ,  $^{169}\text{Yb}$ ,  $^{175}\text{Yb}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{111}\text{Ag}$ ,  $^{124}\text{I}$  a  $^{131}\text{I}$ .

4. Způsob podle některého z předcházejících nároků **vyznačující se tím**, že tumory vývodu exokrinního pankreatu k detekci nebo regulaci jsou ve tkáni pankreatu.

5. Způsob podle nároku 4 **vyznačující se tím**, že karcinom vývodu exokrinního pankreatu se diferenciálně detekuje od karcinomu endokrinního pankreatu.

6. Způsob podle některého z předcházejících nároků **vyznačující se tím**, že zahrnuje podání dotyčnému člověku prostředku, obsahujícího značený peptid odvozený od sloučeniny obecného vzorce I



8.

5

Pro-Xee-Ile-Leu-OH

10

(I)

kde

Xaa představuje Tyr nebo Phe,  
Xbb představuje Gly, Lys nebo Pro,  
Xcc představuje Arg, Cit nebo Lys,  
Xdd představuje Arg, Cit nebo Lys,  
Xee představuje Tyr, Phe nebo Trp a  
m, a, o, p, q, r a s mají každý nezávisle hodnotu 0 nebo 1,

nebo amidu této kyseliny, vytvořeného mezi volnou aminoskupinou zbytku aminokyseliny a sloučeninou obecného vzorce  $R_1\text{COOH}$ ,

kde

$R_1$  představuje alkylovou skupinu s jedním až třemi atomy uhlíku, arylkarbonylovou skupinu nebo aralkylovou skupinu s jedním až třemi atomy uhlíku v alkylové části,

nebo jejího laktamu, vytvořeného mezi volnou aminoskupinou zbytku aminokyseliny a volnou karboxyskupinou dalšího zbytku aminokyseliny,

nebo jejího konjugátu s avidinem nebo biotinem.

7. Způsob podle některého z předcházejících nároků **vyznačující se tím**, že zahrnuje podání dotyčnému člověku prostředku obsahujícího značený peptid, jak je definován v řečených předcházejících nárocích, kdy řečený peptid je značený radioaktivním izotopem halogenu zvoleným ze skupiny zahrnující  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{75}\text{Br}$ ,  $^{76}\text{Br}$ ,  $^{77}\text{Br}$  a  $^{82}\text{Br}$ , řečený

radioaktivní izotop halogenu je připojen ke zbytku Tyr či Trp peptidu nebo k arylové skupině substituentu  $R_1$ .

8. Způsob podle některého z předcházejících nároků 1 až 6 **vyznačující se tím**, že zahrnuje podání dotyčnému člověku prostředku obsahujícího značený peptid, jak je definován v řečených předcházejících nárocích, kdy řečený peptid je značený atomem kovu zvoleným ze

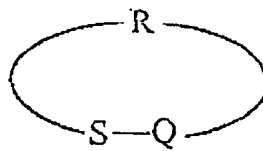
(a) skupiny, která se skládá z radioaktivních izotopů  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{203}\text{Pb}$ ,  $^{66}\text{Ga}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{72}\text{As}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{113m}\text{In}$ ,  $^{114m}\text{In}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{52}\text{Fe}$ ,  $^{52m}\text{Mn}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{77}\text{As}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{169}\text{Er}$ ,  $^{117m}\text{Sn}$ ,  $^{121}\text{Sn}$ ,  $^{127}\text{Te}$ ,  $^{142}\text{Pr}$ ,  $^{143}\text{Pr}$ ,  $^{198}\text{Au}$ ,  $^{199}\text{Au}$ ,  $^{149}\text{Tb}$ ,  $^{161}\text{Tb}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{165}\text{Dy}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{151}\text{Pm}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{157}\text{Gd}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{172}\text{Tm}$ ,  $^{169}\text{Yb}$ ,  $^{175}\text{Yb}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{105}\text{Rh}$  a  $^{111}\text{Ag}$ , nebo

(b) ze skupiny zahrnující atomy paramagnetických kovů Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Pr, Nd, Sm, Yb, Gd, Tb, Dy, Ho a Er, přičemž řečený atom kovu se připojuje k peptidu prostřednictvím chelatační skupiny, která chelatuje řečený atom, a tato chelatační skupina se váže k molekule peptidu amidovou vazbou nebo přes vzdalující skupinu.

9. Způsob podle nároku 8 **vyznačující se tím**, že řečený prostředek se skládá z peptidu značeného atomem kovu chelátovaným tetragonálním chelatačním činidlem obecného vzorce  $N_tS_{(4-t)}$ , kde  $t$  představuje 2 až 4, nebo chelatační skupinou odvozenou od kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA), kyseliny diethylentriaminpentaoctové (DTPA), kyseliny cyklohexyl-1,2-diamintetraoctové (CDTA), kyseliny

-62-  
~~41~~

ethylenglykol-O,O'-bis(2-aminoethyl)-N,N,N',N'-tetraoctové (EGTA), kyseliny N,N-bis(hydroxybenzyl)-ethylendiamin-N,N'-dioctové (HBED), kyseliny triethyltetraaminhexaoctové (TTHA), kyseliny 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-N,N',N'',N'''-tetraoctové (DOTA), kyseliny hydroxyethyldiamintriocové (HEDTA), kyseliny 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan-N,N',N'',N'''-tetraoctové (TETA), suubstituované DTPA, substituované EDTA, nebo od sloučeniny obecného vzorce II



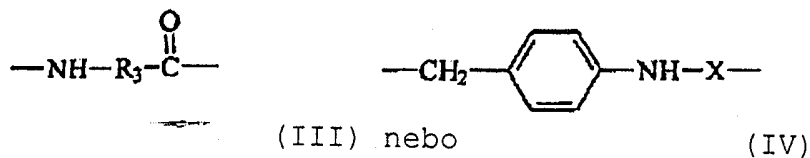
(II)

kde

R představuje rozvětvený nebo nerozvětvený popřípadě substituovaný uhlovodíkový řetězec, který může být přerušen jedním nebo více heteroatomy zvolenými z atomu dusíku, kyslíku a síry, a/nebo jednou nebo více skupinami -NH- a

Q představuje skupinu, která je schopna reakce s aminoskupinou peptidu, a která je přednostně zvolena ze skupiny zahrnující karbonylovou skupinu, karbonimidorskupinu, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alkylkarbonimidorskupinu, N-hydroxykarbonimidorskupinu a N-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alkoxykarbonimidorskupinu,

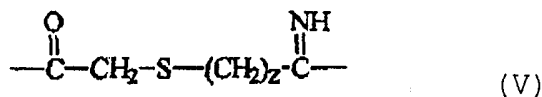
a kde popřípadě přítomná vzdalující skupina je biotinylový zbytek nebo má obecný vzorec



kde

R<sub>3</sub> představuje alkylenovou skupinu s jedním až deseti atomy uhlíku, alkyldenovou skupinu se dvěma až deseti atomy uhlíku nebo alkenylenovou skupinu se dvěma až deseti atomy uhlíku a

X představuje thiokarbonylovou skupinu nebo skupinu obecného vzorce



kde

z má hodnotu 1 až 5.

10. Použití značeného peptidu zvoleného ze skupiny zahrnující neurotenzin (NT), agonisty neurotenzinových receptorů, antagonisty neurotenzinových receptorů, analoga neurotenzinu a deriváty neurotenzinu, přičemž řečený peptid je značený

(a) radioaktivním izotopem kovu zvoleným ze skupiny zahrnující <sup>99m</sup>Tc, <sup>203</sup>Pb, <sup>67</sup>Ga, <sup>68</sup>Ga, <sup>72</sup>As, <sup>111</sup>In, <sup>113m</sup>In, <sup>97</sup>Ru, <sup>62</sup>Cu, <sup>64</sup>Cu, <sup>52</sup>Fe, <sup>52m</sup>Mn a <sup>51</sup>Cr, nebo

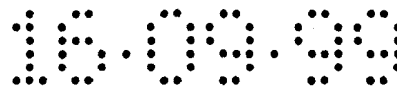
(b) atomem paramagnetického kovu zvoleným ze skupiny zahrnující Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Pr, Nd, Sm, Yb, Gd, Tb, Dy, Ho a Er, nebo

(c) radioaktivním izotopem halogenu zvoleným z atomů  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{75}\text{Br}$ ,  $^{76}\text{Br}$ ,  $^{77}\text{Br}$  a  $^{82}\text{Br}$ ,

k přípravě diagnostického prostředku pro detekci a lokalizaci lidských maligních tumorů včetně jejich metastáz ve tkáních lidského těla, které ve stavu zdraví a při chronickém zánětu bez neoplastických podmínek neobsahují významná množství neurotenzinových receptorů.

11. Použití značeného peptidu zvoleného ze skupiny zahrnující neurotenzin (NT), agonisty neurotenzinových receptorů, antagonisty neurotenzinových receptorů, analoga neurotenzinu a deriváty neurotenzinu, přičemž řečený peptid je značený izotopem zvoleným ze skupiny zahrnující  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{77}\text{As}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{169}\text{Er}$ ,  $^{121}\text{Sn}$ ,  $^{127}\text{Te}$ ,  $^{142}\text{Pr}$ ,  $^{143}\text{Pr}$ ,  $^{198}\text{Au}$ ,  $^{199}\text{Au}$ ,  $^{161}\text{Tb}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{165}\text{Dy}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{151}\text{Pm}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{157}\text{Gd}$ ,  $^{159}\text{Gd}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{172}\text{Tm}$ ,  $^{169}\text{Yb}$ ,  $^{175}\text{Yb}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{111}\text{Ag}$ ,  $^{124}\text{I}$  a  $^{131}\text{I}$ , k přípravě farmaceutického prostředku pro terapeutickou léčbu lidských tumorů vývodu exokrinního pankreatu včetně jejich metastáz ve tkáních lidského těla, které ve stavu zdraví a při chronickém zánětu bez neoplastických podmínek neobsahují významná množství neurotenzinových receptorů.

12. Farmaceutický prostředek k použití ve způsobu, který je nárokován v nároku 1,2 nebo 3, **vyznačující se tím**, že kromě farmaceuticky přijatelné nosné látky a, je-li to žádoucí, nejméně jednoho farmaceuticky přijatelného adjuvancia,



obsahuje jako účinnou složku značený peptid, jak je definován v nároku 6, s podmínkou, že r a s v obecném vzorci I mají hodnotu 1.

13. Kit pro přípravu radiofarmaceutického prostředku pro detekci a lokalizaci nebo k terapeutické léčbě tumorů vývodu exokrinního pankreatu a jejich metastáz ve tkáních, které ve stavu zdraví a při chronickém zánětu bez neoplastických podmínek neobsahují významná množství neurotenzinových receptorů, **vyznačující se tím**, že se skládá

(i) z peptidu, jak je definován v nároku 6 s podmínkou, že r a s ve vzorci I mají hodnotu 1, a k tomuto derivatizovanému peptidu, je-li to žádoucí, se přidá/přidají inertní farmaceuticky přijatelná nosná látka a/nebo formulační látky a/nebo adjuvancia,

(ii) z roztoku soli nebo chelátu izotopu kovu zvoleného ze skupiny zahrnující radioaktivní izotopy  $^{203}\text{Pb}$ ,  $^{66}\text{Ga}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{72}\text{As}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{113\text{m}}\text{In}$ ,  $^{114\text{m}}\text{In}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{52}\text{Fe}$ ,  $^{52\text{m}}\text{Mn}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{77}\text{As}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{169}\text{Er}$ ,  $^{117}\text{Sn}$ ,  $^{121}\text{Sn}$ ,  $^{127}\text{Te}$ ,  $^{142}\text{Pr}$ ,  $^{143}\text{Pr}$ ,  $^{198}\text{Au}$ ,  $^{199}\text{Au}$ ,  $^{149}\text{Tb}$ ,  $^{161}\text{Tb}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{165}\text{Dy}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{151}\text{Pm}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{157}\text{Gd}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{172}\text{Tm}$ ,  $^{169}\text{Yb}$ ,  $^{175}\text{Yb}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{105}\text{Rh}$  a  $^{111}\text{Ag}$  a

(iii) z návodu k použití s předpisem k provedení reakce složek přítomných v kitu.

14. Kit k přípravě radiofarmaceutického prostředku pro detekci a lokalizaci nebo k terapeutické léčbě tumorů vývodu exokrinního pankreatu a jejich metastáz ve tkáních, které ve

stavu zdraví a při chronickém zánětu bez neoplastických podmínek neobsahují významná množství neurotenzinových receptorů, **vyznačující se tím**, že se skládá

- (i) z peptidu, jak je nárokován v nároku 13, přičemž k tomuto peptidu se, je-li to žádoucí, přidá/přidají inertní farmaceuticky přijatelná nosná látka a/nebo formulační látky a/nebo adjuvancia,
- (ii) z redukčního činidla a, je-li to žádoucí, chelatačního činidla, přičemž řečené složky (i) a (ii) se popřípadě kombinují, a
- (iii) z návodu k použití s předpisem k provedení reakce složek kitu s  $^{99m}\text{Tc}$  ve formě roztoku technecistanu, nebo s  $^{186}\text{Re}$  nebo  $^{188}\text{Re}$  ve formě roztoku rhenistanu.

PETR KALENSKÝ  
ATTORNEY AT LAW



SPOLUČNÁ ADVOKÁTNÍ KANCELÁŘ  
VŠETROHA ZELENÝ ŠVORČÍK KALENSKÝ  
A PARTNEŘI  
120 00 Praha 2, Hájkova 2  
Česká republika