

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

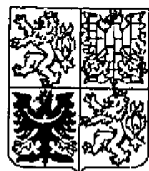
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

754-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLUVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **17. 09. 96**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **18.09.95**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **95/95202512**

(33) Země priority: **EP**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15. 09. 99**
(Věstník č. 9/99)

(86) PCT číslo: **PCT/US96/14883**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 97/10854**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

A 61 K 51/04
A 61 K 49/00

// (A 61 K 51/04,

A 61 K 103:10, A 61 K 121:00,

A 61 K 123:00)

(71) Přihlášovatel:

MALLINCKRODT MEDICAL, INC., St. Louis,
MO, US;

(72) Původce:

Mäcke Helmut, Basel, CH;

(74) Zástupce:

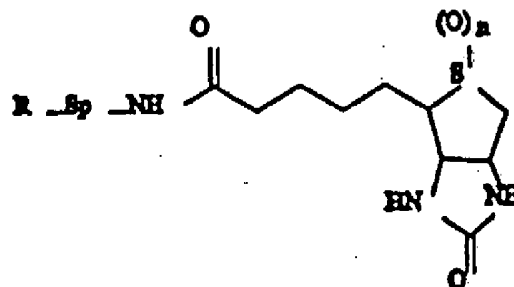
Kalenský Petr JUDr., Hálkova 2, Praha 2,
12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Radioaktivně značené deriváty biotinu

(57) Anotace:

Vynález se týká značené biotinové sloučeniny, kde biotinovou sloučeninu představuje obecný vzorec I, ve kterém n znamená 1 nebo 2, R představuje chelatotvornou skupinu k chelatizaci atomu kovu a Sp je prostorová skupina, která obsahuje alespoň 4 atomy vytvářející rozestup mezi NH a R a kde tato biotinová sloučenina je značena atomem kovu zvoleným ze a/ souboru sestávajícího z radioaktivních izotopů ^{99m}Tc, ²⁰³Pb, ⁶⁶Ga, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ⁷²As, ¹¹¹In, ^{113m}In, ^{114m}In, ⁹⁷Ru, ⁶²Cu, ⁶⁴Cu, ⁵²Fe, ^{52m}Mn, ⁵¹Cr, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ⁷⁷As, ⁹⁰Y, ⁶⁷Cu, ¹⁶⁹Er, ^{117m}Sn, ¹²¹Sn, ¹²⁷Te, ¹⁴²Pr, ¹⁴³Pr, ¹⁹⁸Au, ¹⁹⁹Au, ¹⁴⁹Tb, ¹⁶¹Tb, ¹⁰⁹Pd, ¹⁶⁵Dy, ¹⁴⁹Pm, ¹⁵¹Pm, ¹⁵³Sm, ¹⁵⁷Gd, ¹⁶⁶Ho, ¹⁷²Tm, ¹⁶⁹Yb, ¹⁷⁵Yb, ¹⁷⁷Lu, ¹⁰⁵Rh, a ¹¹¹Ag, nebo b/ souboru sestávajícího z paramagnetických atomů kovů Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Pr, Nd, Sm, Yb, Gd, Tb, Dy, Ho, a Er, přičemž uvedený atom kovu je připojen k biotinové sloučenině pomocí zmíněné chelatotvorné skupiny. Vynález se dále týká farmaceutického přípravku obsahujícího uvedenou značenou biotinovou sloučeninu, použití této sloučeniny pro diagnózu a léčení a kitu pro přípravu radiofarmaceutického přípravku.



CZ 754-98 A3

Radioaktivně značené deriváty biotinu

Oblast techniky

Tento vynález se týká značených biotinových sloučenin, způsobů přípravy těchto sloučenin, farmaceutického přípravku obsahujícího tyto sloučeniny, použití tohoto přípravku pro diagnózu a léčení a kitu pro přípravu radiofarmaceutického přípravku.

Dosavadní stav techniky

V oboru je dobře známo, že různé polypeptidy nebo proteiny, jako jsou monoklonální protilátky (MAB), se vážají s vysokou afinitou k antigenům spojeným s tumory. V důsledku toho radioaktivně značené monoklonální protilátky (MAB*) jsou úspěšně používány pro lokalizaci tumorů in vivo v nukleární medicíně. Jednou z hlavních nevýhod při použití MAB* je jejich prodloužená krevní clearance. Důsledkem toho je, že se obvykle dosahuje malý poměr tumoru a pozadí a radiační dávka pro normální tkáň je vysoká.

Nadějný vývoj v aplikaci MAB* v nukleární diagnóze je předem stanoveným cílovým přístupem. Proto pro tuto metodu podávání proteinu specifického pro tumor (protilátky) a látky způsobující radioaktivitu nastává v oddělených časových okamžicích. Tato metoda je možná při použití systému avidin/biotin. Jsou dva rozdílné základní postupy, které se mohou používat pro lokalizaci tumorů s tímto předem stanoveným cílovým systémem avidin/biotin [Paganelli a kol., Nucl. Med. Commun., 12, 211-234 (1991)], a to dvoustupňový přístup a trojstupňový přístup. Při dvoustupňovém přístupu se

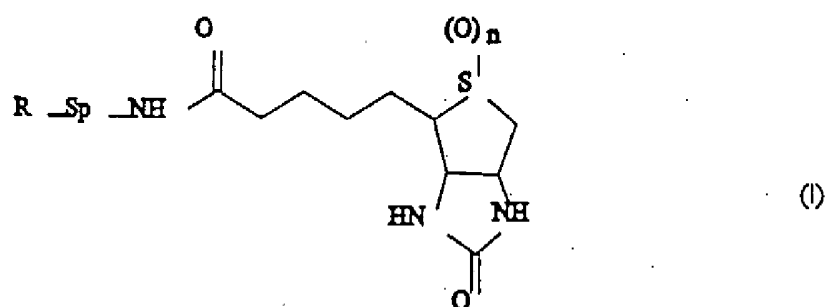
preparát (strept)avidinu připravený in vitro a polypeptid vyhledávající tumor, například protilátka, injikují o jeden, dva nebo tři dny později, po injekci radioaktivně značeného biotinu. Při třístupňovém přístupu se biotinylovaná MAb (první krok), (strept)avidin (druhý krok) a radioaktivně značený biotin (třetí krok) zavedou pacientovi injekcí postupně (v časovém intervalu přibližně 24 hodin). První dva kroky, stejně jako první krok dvoustupňového přístupu má za výsledek avidinaci tumoru. Kromě toho biotinylované MAb, které nejsou lokalizovány na tumoru, ale stále cirkulují v krvi, jsou makroagregovány přebytkem avidinu. Tyto adukty avidin/MAb o vysoké molekulární hmotnosti jsou rychle absorbovány a katabolizovány v játrech. Třetí krok zahrnuje podávání in vivo radioaktivně značeného biotinu. V důsledku rychlé krevní clearance netumorově vázaného biotinového derivátu se očekávají dobré poměry tumoru a pozadí, které se dosahují rychle.

Pro vizualizaci tumorů se vyžaduje biotin značený radionukleotidem, výhodně radionukleotidem kovu, nebo paramagnetickým ionem kovu. Protože biotin má nedostačující vlastní funkční skupiny pro stabilní vázání kovu, vhodný bifunkční ligand má být vázán k biotinu, aby se umožnilo vázání s požadovaným atomem kovu. Biotinové deriváty s radioaktivně značeným kovem jsou popsány v literatuře, například v US patentu č. 5 283 342, ve WO 93/25240, v Koch a Mäcke (Angew. Chemie, Int. Ed., 31, 1507-1509 (1509) a Vizzi a kol. (J. Nucl. Med. 32, 920 (1991) - Proc. 39th Ann. Mt., No. 403) je ohodnoceno 12 různých biotinových derivátů značených techneciem-99m. Závěrem těchto autorů je, že zkoumané deriváty biotinu značené Tc-99m projevují nestabilitu in vivo, jako důsledek toho, že se v normálních tkáních nalézají vysoké hladiny Tc-99m.

Podstata vynálezu

Předmětem tohoto vynálezu je dosáhnout značenou biotinovou sloučeninu, která má vysokou afinitu k avidinu, srovnatelnou s afinitou samotného biotinu, a která má zlepšenou stabilitu in vivo, to znamená zlepšenou resistenci k enzymatickému odbourávání, která dovoluje vlastní použití v diagnóze a léčení.

Tento předmět se dosahuje značenou biotinovou sloučeninou, která je reprezentována obecným vzorcem I



ve kterém

n znamená 1 nebo 2,

R představuje chelatotvornou skupinu k chelatizaci atomu kovu a

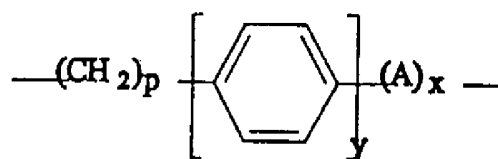
Sp je prostorová skupina, která obsahuje alespoň 4 atomy vytvářející rozestup mezi NH a R a

kde tato biotinová sloučenina je značena atomem kovu zvoleným ze

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

přičemž uvedený atom kovu je připojen k biotinové sloučenině pomocí zmíněné chelatotvorné skupiny.

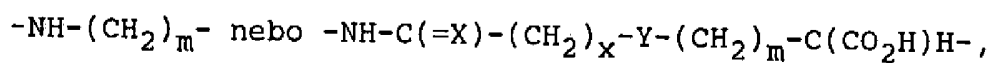
Výše definovaná prostorová skupina Sp je výhodně skupina obecného vzorce II



(II)

ve kterém

A znamená biradikál vzorce



kde

x a y jsou každý nezávisle na sobě 0 nebo 1,

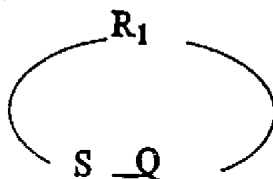
m je celé číslo od 1 do 4,

p znamená celé číslo od 0 do 4,

X představuje atom kyslíku nebo síry a

Y znamená skupinu vzorce NH, CO nebo atom síry.

Výše uvedená chelatotvorná skupina R je výhodně zvolena ze souboru sestávajícího z $N_tP_qS(4-t-q)$ tetradentálních chelatizačních činidel, kde $t + q = 2 - 4$ nebo ze skupin odvozených od kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA), kyseliny diethylentriaminpentaoctové (DTPA), kyseliny cyklohexyl-1,2-diamintetraoctové (CDTA), kyseliny ethylen-glykol-0,0'-bis(2-aminoethyl)-N,N,N',N'-tetraoctové (EGTA), kyseliny N,N-bis(hydroxybenzyl)ethylendiamin-N,N'-dioctové (HBED), kyseliny triethylentetraminhexaoctové (TTHA), kyseliny 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-N,N',N'',N'''-tri- a -tetraoctové (DO3A a DOTA), kyseliny 1,4,7,10-tetraaza-cyklotridekan-N,N',N'',N'''-tri- a -tetraoctové (TRI3A a TRITA), kyseliny hydroxyethyldiamintrioctové (HEDTA), kyseliny 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan-N,N',N'',N'''-tetraoctové (TETA), substituované DTPA, substituované EDTA nebo od deferoxaminu (desferrioxaminu) nebo od sloučeniny obecného vzorce III



(III)

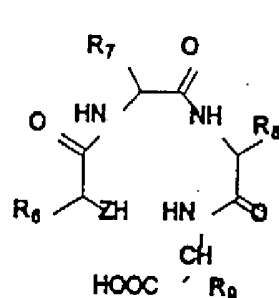
ve kterém

R_1 znamená popřípadě substituovanou uhlovodíkovou skupinu s rozvětveným nebo nerozvětveným řetězcem, přičemž tato skupina je popřípadě přerušena alespoň jedním

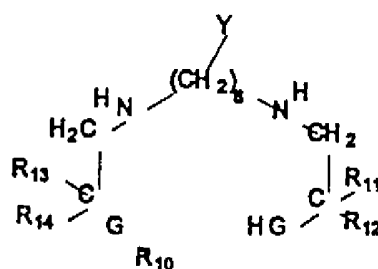
heteroatomem zvoleným z atomu dusíku, kyslíku a síry
a/nebo alespoň jednou skupinou NH a

- Q znamená skupinu, která je schopna reagovat s amino-
skupinou peptidu a která je výhodně vybrána ze
souboru sestávajícího z karbonylu, karbimidoylu,
N-(C₁-C₆)alkylkarbimidoylu, N-hydroxykarbimidoylu a
N-(C₁-C₆)alkoxykarbimidoylu.

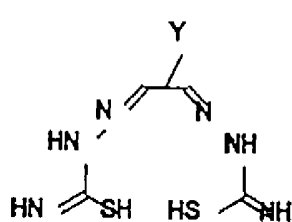
Vhodné příklady N_tP_qS(4-t-q) tetradentálních chelato-
tvorných činidel jsou vybrána ze souboru zahrnujícího
sloučeniny obecného vzorce IV až XIII



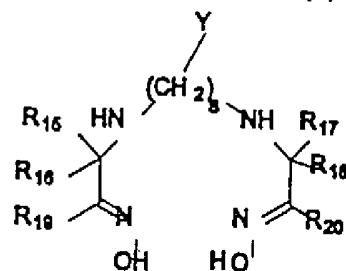
(IV)



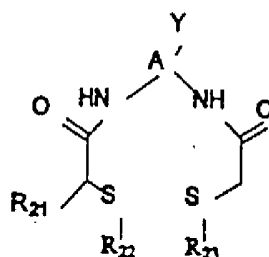
(V)



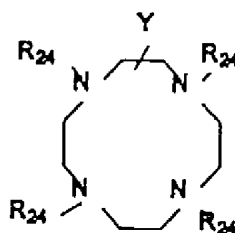
(VI)



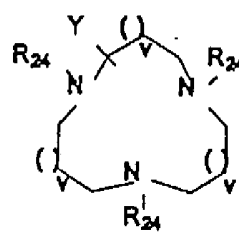
(VII)



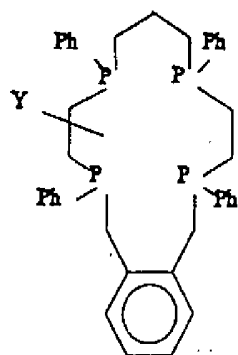
(VIII)



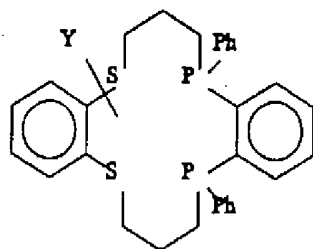
(IX)



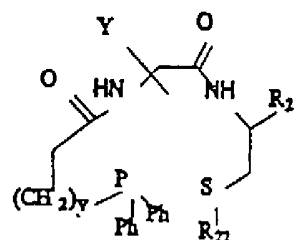
(X)



(XI)



(XII)



(XIII)

ve kterém

R_6 až R_{20} znamenají každý nezávisle na sobě atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, za předpokladu, že alespoň jeden z C_6 až C_9 znamená symbol Y,

R_{21} znamená atom vodíku nebo CO_2 -alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části,

R_{22} a R_{23} jsou každý jednotlivě alkylkarbonylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, benzoylová skupina nebo benzylová skupina,

v znamená 0 nebo 1,

s znamená 2 nebo 3,

R_{24} představuje skupinu vzorce CH_2COOH nebo její funkční derivát,

A znamená alkylenovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, jestliže je žádoucí, substituovanou CO_2 -alkylovou, CH_2CO -alkylovou, $CONH_2$ nebo $CONHCH_2CO_2$ -alkylovou

skupinou, fenylenovou skupinu nebo fenylenovou skupinu substituovanou CO_2 -alkylovou skupinou, přičemž alkylové skupiny obsahují 1 až 4 atomy uhlíku,

- G znamená skupinu NH nebo atom síry,
- Y znamená valenční vazbu nebo funkční skupinu schopnou se vázat s prostorovou skupinou a
- Z znamená atom síry nebo kyslíku.

Pokud Y znamená funkční skupinu, Y výhodně zahrnuje isokyanatoskupinu, isothiokyanatoskupinu, formyl, o-halogennitrofenyl, diazoniovou skupinu, epoxyskupinu, trichlor-sym.-triazinyl, ethyleniminoskupinu, chlorsulfonyl, alkoxykarbimidoyl, (substituovaný nebo nesubstituovaný) alkylkarbonyloxykarbonyl, alkylkarbonylimidazolyl nebo sukcinimidooxykarbonyl, přičemž skupina je výhodně připojena k (C_1 - C_{10})uhlovodíkovému biradikálu.

Vhodnými příklady uhlovodíkových biradikálů jsou biradikály odvozené od benzenu, alkanů s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenů se 2 až 6 atomy uhlíku a alkylbenzenů s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části.

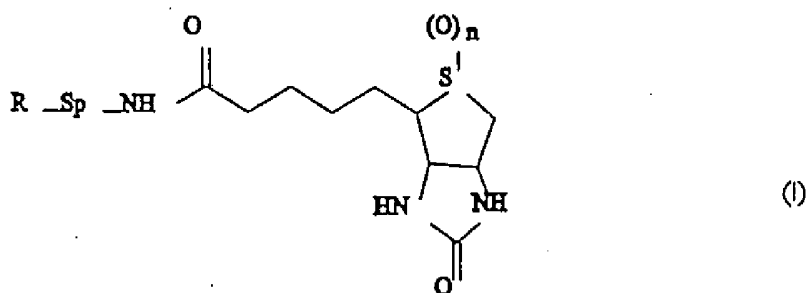
Příklady vhodných chelatorů obecného vzorce III jsou popsány v mezinárodní patentové přihlášce WO 89/07456, stejně jako nesubstituované nebo substituované 2-iminothiolany a 2-iminothiacyklohexanony, obzvláště 2-imino-4-merkaptomethylthiolan.

Výše uvedené značené biotinové sloučeniny byly testovány na řadě vhodných modelových experimentů, které

umožňují předvídat výsledky pro aplikace in vivo. Tyto experimenty jsou popsány v příkladech. Z výsledků těchto experimentů bude zřejmé, že značené biotinové sloučeniny podle tohoto vynálezu mají vlastnosti, které způsobují, že jsou vhodné pro diagnostické a léčebné účely. Pokud je značeno vhodným atomem pro diagnostické účely, značená biotinová sloučenina zůstává dostatečně dlouho neporušena po podání, co dovoluje zobrazit cílový tumor bez presentace porušujícího pozadí. Jestliže je značeno vhodným radioizotopem pro léčebné účely, takto značené biotinové sloučeniny jsou nadějně terapeutické přípravky pro ošetřování řady maligních tumorů.

Nové biotinové sloučeniny značené kovem podle tohoto vynálezu se mohou připravovat způsobem, který je znám jako takový pro příbuzné sloučeniny. K tomuto účelu se biotinová molekula derivatizuje vhodným chelatotvorným činidlem jaké je vymezeno výše, například $N_tP_qS(4-t-q)$ tetradentátním chelatotvorným činidlem nebo EDTA.

DTPA atd., po zavedení prostorové skupiny Sp jako je definována výše, po kterém se dostane sloučenina obecného vzorce I



ve kterém

n znamená 1 nebo 2,

R představuje chelatotvornou skupinu k chelatizaci atomu kovu a

Sp je prostorová skupina, která obsahuje alespoň 4 atomy vytvářející rozestup mezi NH a R,

se nechá reagovat s kovem, jak je zde definován výše, ve formě soli nebo chelatu vázaného k poměrně slabému chelatoru za účelem vytvoření komplexu.

Vhodné příklady solí nebo chelatů požadovaného kovu jsou ^{111}In -citrát a -acetát, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tartrát a podobně. Reakce vedoucí ke vzniku komplexu se může obecně provádět jednoduchým způsobem a za mírných podmínek.

Tento vynález se také týká biotinové sloučeniny obecného vzorce I, jak je definována výše, přičemž tato sloučenina se může používat pro svrchu popsany způsob přípravy značené biotinové sloučeniny.

Přítomný vynález se dále týká farmaceutického přípravku, obsahujícího kromě farmaceuticky přijatelné nosné látky a pokud je žádoucí alespoň jedné farmaceuticky přijatelné pomocné látky jako aktivní látku značenou biotinovou sloučeninu, která je zde vymezena výše.

Vynález se také týká způsobu detekce a lokalizace tumorů v těle teplokrevného žijícího jedince, který spočívá v tom, že se

i) podá tomuto jedinci přípravek obsahující (strept)avidin ve spojení s polypeptidem projevujícím selektivní afinitu

k uvedenému tumoru,

ii) načež se po avidinaci tohoto tumoru podá uvedenému jedinci přípravek obsahující množství dostatečné pro vnější zobrazení značené biotinové sloučeniny, jak je vymezena výše, přičemž biotinová sloučenina je značena

a) radioaktivním kovovým izotopem vybraným ze souboru sestávajícího z ^{99m}Tc , ^{203}Pb , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{72}As , ^{111}In , ^{113m}In , ^{97}Ru , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{52}Fe , ^{52m}Mn a ^{51}Cr nebo

b) paramagnetickým atomem kovu zvoleným ze souboru sestávajícího z Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Pr, Nd, Sm, Yb, Gd, Tb, Dy, Ho a Er, a

iii) konečně podrobí tento jedinec vnějšímu zobrazení cílových míst v těle tohoto jedince ve vztahu k aktivitě pozadí.

Na místo výše popsaného dvoustupňového postupu se může použít svrchu diskutované předem cílené třístupňové metody.

Při této metodě se používá dále popsaného postupu:

i-a) podá se uvedenému jedinci přípravek obsahující biotinylovaný polypeptid, který projevuje selektivní afinitu k tumoru,

i-b) potom se podá přípravek obsahující (strept)avidin, přičemž oba kroky nahrazují výše popsaný krok i).

Tento vynález se také týká způsobu intraoperativní detekce a lokalizace tumorů v těle teplokrevných žijících jedinců, který zahrnuje

i) podání uvedenému jedinci přípravku obsahujícího (strept)-avidin ve spojení s polypeptidem projevujícím selektivní afinitu k uvedenému tumoru,

ii) poté, po avidinaci tohoto tumoru, podání uvedenému jedinci přípravku obsahujícího značenou biotinovou sloučeninu, jak je vymezena výše, v množství dostatečném pro detekci

τ záření sondou, přičemž biotinová sloučenina je značena ^{161}Tb , a

iii) konečně poté, co se ponechá aktivní látka vázat a absorbovat v tumoru a po clearanci krve od radioaktivity, podrobení tohoto jedince radioimunodetekční technice v příslušné oblasti těla tohoto jedince, za použití sondy pro detekci τ záření.

Výše zmíněný radioizotop, tedy ^{161}Tb , dovoluje použít takto značenou peptidovou sloučeninu v technice radioaktivně vedené chirurgie, ve které se relevantní tkáně v těle pacienta mohou detekovat a lokalizovat intraoperativně pomocí sondy pro detekci τ záření. Chirurg může intraoperativně použít této sondy k nalezení poškození, ve kterém se nastává absorpce sloučeniny značené uvedeným radioizotopem, co je emitor τ fotonů o nízké energii.

Je zřejmé, že na místo dvoustupňového postupu se může použít třístupňového postupu, jak je zde rozebráno výše.

Biotinové sloučeniny podle tohoto vynálezu za předpokladu, že jsou radioaktivně značeny izotopy vhodnými k tomuto účelu, se mohou použít pro léčebné ošetřování tumorů. Tak vynález se dále týká způsobu léčebného ošetřování tumorů v těle teplokrevného žijícího jedince, který spočívá v tom, že se

- i) podá tomuto jedinci přípravek obsahující (strept)avidin ve spojení s polypeptidem projevujícím selektivní afinitu k uvedenému tumoru,
- ii) načež se po avidinaci tohoto tumoru podá uvedenému jedinci přípravek obsahující značenou biotinovou sloučeninu, jak je vymezena výše, v množství dostatečném pro boj s tumory nebo pro potlačení tumorů, přičemž značená biotinová

sloučenina odpovídá sloučenině zde definované výše a tato biotinová sloučenina je značena kovovým izotopem zvoleným ze souboru sestávajícího z ^{114m}In , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{77}As , ^{90}Y , ^{66}Ga , ^{67}Cu , ^{169}Er , ^{117m}Sn , ^{121}Sn , ^{127}Te , ^{142}Pr , ^{143}Pr , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{149}Tb , ^{161}Tb , ^{109}Pd , ^{165}Dy , ^{149}Pm , ^{151}Pm , ^{153}Sm , ^{157}Gd , ^{159}Gd , ^{166}Ho , ^{172}Tm , ^{169}Yb , ^{175}Yb , ^{177}Lu , ^{105}Rh a ^{111}Ag .

Bude zřejmé, že místo výše uvedeného dvoustupňového postupu se může použít třístupňový předem cílený způsob, jak je rozebráno výše.

V případě, že se jako diagnostický přípravek používá radioaktivně značná biotinová sloučenina, je často nemožné dát přípravek připravený pro okamžité použití uživateli k jednomu použití v souvislosti s často malým časem skladovatelnosti radioaktivně značené sloučeniny a/nebo krátkým poločasem rozpadu použitého radionuklidu. V takových případech uživatel bude provádět značící reakci s radio-nukleidem v klinické nemocnici nebo v laboratoři. K tomuto účelu se potom nabízí různé reakční složky pro uživatele ve formě tak zvaného "kitu". Je zřejmé, že manipulace nezbytná k provedení požadované reakce má být tak jednoduchá, jak jen je možné, aby umožnila uživateli připravit z kitu radio-aktivně značený přípravek s použitím zručnosti, která je nutná pro jeho jedno použití. Proto tento vynález se také týká kitu pro přípravu radiofarmaceutického přípravku.

Kit podle tohoto vynálezu může obsahovat

- a) přípravek obsahující (strept)avidin ve spojení s polypeptidem projevujícím selektivní afinitu k tumoru,
- b) biotinovou sloučeninu obecného vzorce I znázorněného výše, ve kterém symboly mají svrchu uvedený význam, ke kterémužto

sloučenině, pokud je to žádoucí, je přidána inertní farmaceuticky přijatelná nosná látka a/nebo formulační prostředek a/nebo pomocná látka,

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

d) instrukce pro použití s předpisem pro reakci složek přítomných v kitu.

Výhodně biotinová sloučenina určená k použití jako složka výše uvedeného kitu je modifikována prostorovou skupinou Sp a chelatotvorným činidlem R, jak je uvedeno výše. Výsledná biotinová sloučenina usnadňuje stále připojení radionuklidu jednoduchým způsobem. Vhodná chelatotvorná činidla pro modifikaci biotinové molekuly jsou zde popsána podrobněji výše. $\text{N}_t\text{P}_q\text{S}(4\text{-t-q})$ tetradentátní chelatotvorná činidla, dusík obsahující di- nebo polyoctové kyseliny nebo jejich deriváty, stejně jako sloučeniny uvedené výše, poskytují předem neobyčejně vhodné připojení různých kovových radionuklidů, jako ^{111}In a $^{113\text{m}}\text{In}$, k molekule biotinu. Kit k dodání pro uživatele může také zahrnovat složku (složky) definované pod a) a b) výše, společně s instrukcemi pro použití, zatímco roztok soli nebo chelatu radionuklidu, definovaný pod c) výše, který má omezený poločas skladování, se může dodávat pro uživatele odděleně.

Výše uvedený kit je určen pro použití ve dvoustupňovém předpisu. Pokud na místo toho se má použít třístupňový předem cílený způsob, jak bylo uvedeno výše, je vhodný dále uvedený

kit:

a-i) přípravek obsahující biotinylovaný polypeptid, který projevuje selektivní afinitu k tumoru a

a-ii) přípravek obsahující (strept)avidin, přičemž oba přípravky nahrazují výše uvedený přípravek a).

V případě, že kit slouží k přípravě radiofarmaceutického přípravku, který je značen ^{99m}Tc , ^{186}Re nebo ^{188}Re , takový kit podle tohoto vynálezu může zahrnovat, kromě složky (složek) definovaných pod a) a b) výše,

c) redukční činidlo a pokud je to žádoucí, chelator a

d) instrukce pro použití s předpisem pro reakci složek kitu s ^{99m}Tc ve formě technecistanového roztoku nebo s ^{186}Re nebo ^{188}Re ve formě rhenistanového roztoku.

Jestliže je to žádoucí, určité složky kitu mohou být kombinovány za předpokladu, že jsou kompatibilní. Technecistanový nebo rhenistanový roztok může jednoduše dostat uživatel z vhodného výrobního zařízení.

Pokud radionuklid je sám přítomen v kitu, reakce tvořící komplex s biotinovou sloučeninou obecného vzorce I uvedenou výše se může jednoduše dosáhnout spojením složek v neutrálním nebo pufrovaném prostředí a vyvoláním jejich reakce. Pro tento účel může být radionuklid dodán biotinové sloučenině ve formě chelátové vazby ke srovnatelně slabému chelatoru, jak je zde popsáno výše.

Pokud kit zahrnuje biotinovou sloučeninu, jak je zde vymezena výše, a je určen pro přípravu radiofarmaceutického přípravku, který je značen ^{99m}Tc , ^{186}Re nebo ^{188}Re , radionuklid bude výhodně přidán odděleně ve formě technecistanového nebo rhenistanového roztoku. V tomto případě kit

bude obsahovat vhodné redukční činidlo a pokud je to žádoucí, chelator, přičemž redukční činidlo má redukovat technecistan nebo rhenistan. Jako redukční činidlo se může použít například ditioničitan nebo kovové redukční činidlo. Jako redukční činidlo pro výše uvedené kity se výhodně používá kovové redukční činidlo, například Sn(II) , Ce(III) , Fe(II) , Cu(I) , Ti(III) nebo Sb(III) , přičemž Sn(II) je mimořádně vhodný. Příklady vhodných sloučenin dvojmocného cínu jsou chlorid cínatý, vinan cínatý, fosfonát nebo difosforečnan cínatý a glukohexotonat cínatý. Modifikovaná biotinová složka výše uvedených kitů, to znamená výhodně biotinová sloučenina, se může dodávat jako roztok, například ve formě fyziologického roztoku na bázi chloridu sodného, nebo některého pufovaného roztoku, nebo může být přítomna ve vysušeném stavu, například za lyofilizovaných podmínek. Pokud se používá jako složka pro injekční kapalinu, má být sterilní, přičemž v případě kdy je složka v suchém stavu, uživatel má výhodně použít sterilní fyziologický roztok na bázi chloridu sodného jako rozpouštědlo. Jestliže je to žádoucí, výše zmíněná složka může být stabilizována obvyklým způsobem pomocí vhodných stabilizátorů, například kyseliny askorbové, kyseliny gentisové nebo jejich solí, nebo může obsahovat jiné pomocné prostředky, například plniva, jako je glukóza, laktóza, mannitol a podobně.

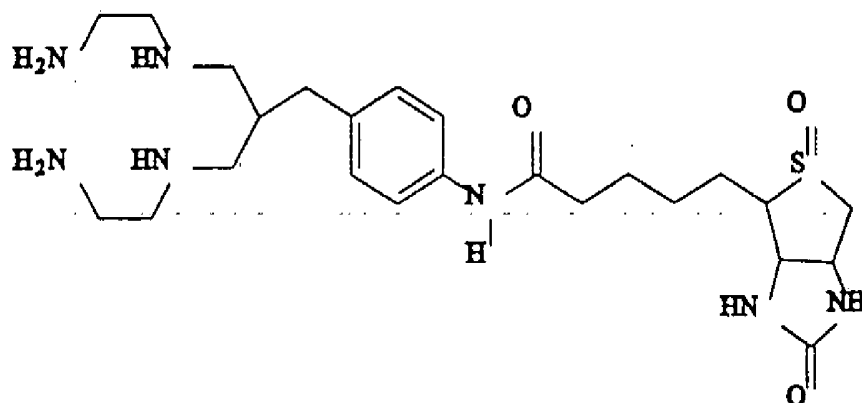
Příklady provedení vynálezu

Vynález bude nyní podrobněji popsán v souvislosti s dále zařazenými zvláštními příklady.

Příklad 1

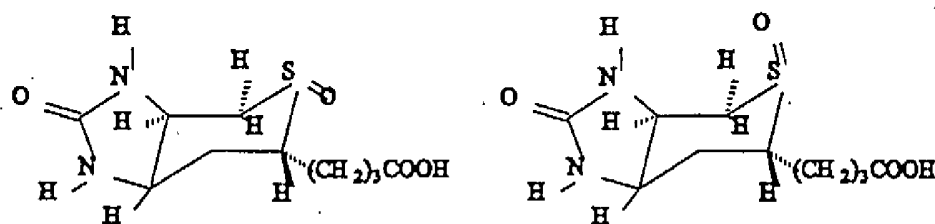
Způsob syntézy 6-[N-(biotinylsulfoxid)-p-aminobenzyl]-

-1,4,8,11-tetraazaundekanu (6)
(obr. 1)



Obr. 1: biotinsulfoxid- N_4

Biotinsulfoxid se syntetizuje jak popsál Melville [D. B. Melville, J. Biol. Chem., 208, 495 (1954)]. Sulfoxid existuje ve dvou izomerních formách: α -(+)-biofinsulfoxid a β -(-)-biofinsulfoxid (obr. 2).



Obr. 2: Dvě izomerní formy biotinsulfoxidu

Tyto izomerní formy se mohou oddělit frakcionovanou krystalizací a/nebo chromatografií na silikagelu.

6-(p-Nitrobenzyl)-1,4,8,11-tetraaza-5,7-dioxoundekan (1)

1,07 g (4 mmol) diethylesteru kyseliny p-nitrobenzylmalonové [G. Ruser a kol., Bioconj. Chem., 2, 345 (1990)] se suspenduje ve 40 ml methanolu a k suspenzi se přidá 5,3 ml (80 mmol) ethylendiaminu. Směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 12 hodin. Rozpouštědlo a přebytek ethylendiaminu se odpaří a surový produkt se čistí chromatografií na silikagelu ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3(25\%) = 5:5:1$, $R_f = 0,3$). Výtěžek odpovídá 1,4 g.

MS (FAB) m/z (relativní intenzita): 324 (MH^+ , 100);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; $\text{d}_6\text{-DMSO}$): 8,14 (d, 2H, o-Ar-H), 8,04 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH-CO}$), 7,46 (d, 2H, m-Ar-H), 3,45 (t, 1H, $\text{CH-CH}_2\text{-Ar}$), 3,15 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 3,05 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-NH-}$), 2,50 (m, 4H, CH-NH_2);

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$): 168,25 (2C, C=O), 147,71 (1C, C(Ar)-NO_2), 145,86 (1C, $\text{CH}_2\text{-C(Ar)}$), 129,95 (2C, Ar), 123,06 (2C, Ar), 54,00 (1C, $\text{CH-CH}_2\text{-Ar}$), 41,93 (2C, $\text{CH}_2\text{-NH(CO)}$), 40,86 (2C, $\text{CH}_2\text{-NH}_2$), 34,48 (1C, $\text{CH}_2\text{-Ar}$).

Elementární analýza odpovídá $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_4$.

6-(p-Nitrobenzyl)-1,4,8,11-tetraazaundekan (2)

480 mg (1,48 mmol) surové sloučeniny (1) se nechá reagovat za teploty místnosti s 30 ml (20 ekvivalentů) 1M boranu v tetrahydrofuranovém roztoku a reakční směs se vaří pod zpětným chladičem po dobu 60 hodin. K rozložení přebytku boranu se opatrně přikape přebytek methanolu k reakční směsi, která se předem ochladila na teplotu 0 °C. Methanol se odpaří za sníženého tlaku a odparek se suspenduje v ethanolu a vystaví působení ultrazvuku během několika minut. Nerozpuštěný podíl se odfiltruje a do filtrátu se zavádí plynný chlorovodík po dobu 20 minut. Vzniklá sraženina se zachytí a dále čistí sloupcovou chromatografií (silikagel,

$\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3(25\%) = 5:5:2$). Výsledný vyčištěný amin se rozpustí v ethanolu a dostane se odpovídající hydrochloridová sůl jako bílá tuhá látka zaváděním plynného chlorovodíku do tohoto roztoku (460 mg). Při jiném provedení se sraženina přímo rekrystaluje z methanolu nasyceného plynným chlorovodíkem, bez předchozího čištění chromatografií.

Výtěžek odpovídá 70 %;

$R_f = 0,36$ (SiO_2 , $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3(25\%) = 5:5:2$);

MS (FAB) m/z (relativní intenzita): 296 (MH^+ , 100);

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, d_6 -DMSO) (hydrochlorid): 8,21 (d, 2H, O-Ar- NO_2), 7,68 (d, 2H, m-Ar- NO_2), 3,50-2,64 (m, 15H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, d_6 -DMSO): 146,29 (2C, $\text{C}(\text{Ar})\text{NO}_2$, CH_2 -Ar), 130,46 (2C, Ar), 123,36 (2C, Ar), 47,56, 44,68, 35,04, 34,97.

Elementární analýza je v souladu s $\text{C}_{14}\text{Cl}_4\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_2$.

N,N,N',N''-Tetabutoxykarbonyl-6-(p-nitrobenzyl)-1,4,8,11-tetraazaundekan (3)

1,5 g (3,5 mmol) sloučeniny (2) se suspenduje v 5 ml dioxanu a k suspenzi se přidává 1N roztok hydroxidu sodného až do hodnoty pH 12. K reakční směsi se při teplotě tání ledu přidá 4,5 ml (21 mmol, 6 ekvivalentů) di-terc.-butyldi-karbonátu ve 30 ml dioxanu a 40 ml 1N roztoku hydroxidu sodného. Směs se míchá za teploty místnosti přes noc. Ke směsi se potom přidá 100 ml diethyletheru a 50 ml vody. Etherová vrstva se oddělí a čtyřikrát extrahuje vždy 30 ml vody, vysuší síranem sodným a odpaří. Výsledný olej se nemůže krystalovat, ale ukazuje strukturu potvrzující FAB-MS (m/z : 696) a je čistý podle chromatografie na tenké vrstvě (silikagel, $R_f = 0,5$, směs ethylacetátu a hexanu v poměru 9:1). Výtěžek 2,2 g, to jest 90 %. FAB-MS: m/z : 696. $^1\text{H-NMR}$

and IČ jsou v souladu se strukturou.

N,N',N'',N'''-Tetrabutoxykarbonyl-6-(p-aminobenzyl)-1,4,8,11-tetraazaundekan (4)

1,3 g (1,9 mmol) sloučeniny (3) se rozpustí ve 40 ml 80% methanolu, k roztoku se přidá 150 mg 10% palladia na uhlí a hydrogenace se provádí po dobu 3 hodin za teploty místnosti. Katalyzátor se odfiltruje, směs se odpaří a chromatografií na silikagelu se dostane čistá látka (Silica gel 60, kolona 32 x 2 cm, eluent: směs hexanu a ethylacetátu v poměru 2:3). Výtěžek odpovídá 0,53 g (43 %). Sloučenina se čistí chromatografií na tenké vrstvě a vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií a je charakterizována FAB-MS (m/z = 666) a $^1\text{H-NMR}$.

6-[N-(Biotinylsulfoxid)-p-aminobenzyl]-N,N'',N'''-tetrabutoxykarbonyl-1,4,8,11-tetraazaundekan (5)

34,4 mg α -(+)-biotinsulfoxidu se rozpustí v 700 μl dimethylformamidu, k roztoku se přidá 42,5 mg O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumhexafluorofosfátu (HATU) a 23 μl diisopropylethylaminu (Hünigova báze) a směs se nechá za teploty místnosti po dobu 10 minut. Poté se přidá 88 mg sloučeniny (4) a 23 μl Hünigovy báze v 1 ml dimethylformamidu. V míchání reakční směsi se pokračuje po dobu 20 minut. Reakční směs se přidá ke 2 ml ethylacetátu a 2 ml 5% roztoku hydrogenuhlíčitanu sodného. Organická vrstva se dvakrát promyje roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a nasyceným roztokem chloridu sodného, vysuší síranem sodným, odpaří a krystaluje ze systému diethylether, isopropylether a hexan. Výtěžek: 96 mg (80 %). Sloučenina se čistí chromatograficky a charakterizuje FAB-MS (m/z = 908).

6-[N-(Biotinylsulfoxid)-p-aminobenzyl]-1,4,8,11-tetraaza-undekan (6)

(Obr. 1)

96 mg sloučeniny (5) se rozpustí ve 2 ml kyseliny trifluoroctové, thioanisolu a vody v poměru 96:2:2 a ponechá po dobu 2 hodin za teploty místnosti. Poté se látka vysráží přidáním 2 ml diethyletheru a vysuší za vysokého vakua. Výtěžek odpovídá 96 mg. K odstranění malého množství nečistot a zbývajících thioanisolu se sloučenina čistí C18-HPLC. FAB-MS: $m/z = 508$.

Příklad 2

^{99m}Tc značení sloučeniny (6)

50 μg sloučeniny (6), získané jak je popsáno v příkladu 1, se rozpustí ve 300 μl vodného roztoku (5 mg) dihydrátu citrátu sodného. K tomuto roztoku se přidá 200 až 400 μl (1000 až 2000 MBq) $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (eluátové vyvíjení) a 20 μl (20 μg) čerstvě připraveného 10 mg roztoku dihydrátu chloridu cínatého profouknutého dusíkem (10 mg/10 ml 0,1M kyseliny chlorovodíkové). Hodnota pH se upraví na 10 roztokem hydroxidu sodného. Reakční směs se udržuje za teploty místnosti po dobu 30 minut. Výtěžek komplexování je vyšší než 97 %. Na koloně Hamilton PRP-1 (10 μm , 4,1 x 150 mm) a při isokratické eluci s 10 mM 100% fosfátového pufru (hodnota pH 7, 0 až 5 minut), s následujícím lineárním gradientem (5 až 10 minut, 20% MeCN a 80% fosfátový pufr) a isokratickou elucí až do 15 minut se dostanou ^{99m}Tc komplexní eluty za 10 min 4 s (průtok: 1,5 ml/min). Za stejných podmínek se eluují (^{99m}Tc)-6-(p-aminobenzyl)-1,4,8,11-tetraazaundekanové eluty

za 8 min 45 s. Komplex je stabilní v citrátu a fosfátovém pufru po dobu alespoň 10 hodin.

Příklad 3

Vázání (^{99m}Tc)-sloučeniny (6) k avidinu

(^{99m}Tc)-sloučenina (6), získaná jak je popsáno v příkladu 2, se umístí na kolonu avidinu kondenzovaného ke kuličkám agarózy, které se předem třikrát zpracovaly vždy s 1,5 ml fosfátového pufru (hodnota pH 8,9). Kolona se pětikrát promyje vždy 1,5 ml pufru. Zůstatková aktivita na koloně činí $97 \pm 3 \%$ ($n = 3$). Pokud se kolona předem nasytí studeným biotinem, zachová se méně než 2 % aktivity. Závěrem tak je, že vázání avidinu je specifické.

Příklad 4

Stabilita (^{99m}Tc)-sloučeniny (6) v lidském seru

Biotinidáza je enzym nacházející se v různých orgánech a v lidském seru, kde funguje jako biotin-amid amidohydroláza, například hydrolýzuje kyselinu N-(d-biotinyl)-p-amino-benzoovou a biocytin. Studuje se stabilita amidové vazby v čerstvém lidském seru. Vše se ponechá během 4 hodin a poté se dostane množství neporušené (^{99m}Tc)-sloučeniny (6), získané v příkladu 2, které pokleslo přibližně o $15 \pm 2 \%$, což je daleko lepší než u odpovídajícího konjugátu s biotinem. Důsledkem toho je skutečnost, že optimální doba scintigrafie s konjugátem biotinu značeným ^{99m}Tc je za 2 hodiny po injekci, přičemž stabilita (^{99m}Tc)-sloučeniny (6) v lidském seru je přiměřená pro studii na lidech.

JUDr. Petr KALENSKÝ
advokát

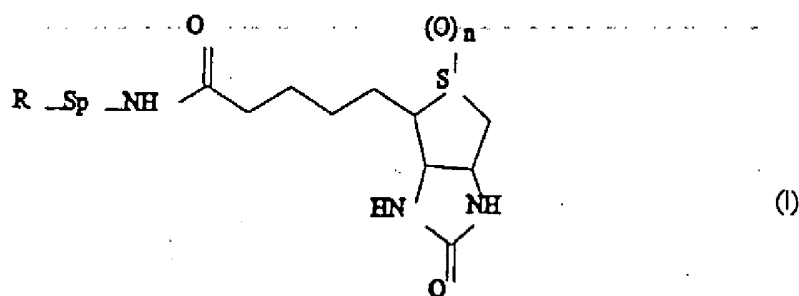
SPOLEČNÁ ADVOKÁTNÍ KANCELÁŘ
VŠETEČKA ZELENÝ ŠVORČÍK KALENSKÝ
A PARTNEŘI

120 00 Praha 2, Hájkova 2
Česká republika



P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Značená biotinová sloučenina, kde tato biotinová sloučenina je představována obecným vzorcem I



ve kterém

n znamená 1 nebo 2,

R představuje chelatotvornou skupinu k chelatizaci atomu kovu a

Sp je prostorová skupina, která obsahuje alespoň 4 atomy vytvářející rozestup mezi NH a R a

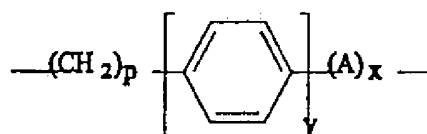
kde tato biotinová sloučenina je značena atomem kovu zvoleným ze

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

Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Pr, Nd, Sm, Yb, Gd, Tb, Dy, Ho a Er,

přičemž uvedený atom kovu je připojen k biotinové sloučenině pomocí zmíněné chelatotvorné skupiny.

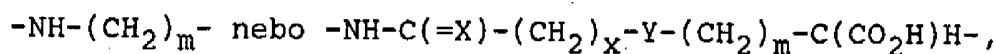
2. Značená biotinová sloučenina podle nároku 1, kde prostorovou skupinou Sp je skupina obecného vzorce II



(II)

ve kterém

A znamená biradikál vzorce



kde

x a y jsou každý nezávisle na sobě 0 nebo 1,

m je celé číslo od 1 do 4,

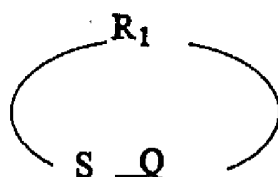
p znamená celé číslo od 0 do 4,

X představuje atom kyslíku nebo síry a

Y znamená skupinu vzorce NH, CO nebo atom síry.

3. Značená biotinová sloučenina podle nároku 1 nebo 2, kde chelatotvorná skupina R je zvolena ze souboru

sestavajícího z $N_tP_qS(4-t-q)$ tetradentátních chelatizačních činidel, kde $t + q = 2 - 4$ nebo ze skupin odvozených od kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA), kyseliny diethylentriaminpentaoctové (DTPA), kyseliny cyklohexyl-1,2-diamintetraoctové (CDTA), kyseliny ethylen-glykol-0,0'-bis(2-aminoethyl)-N,N,N',N'-tetraoctové (EGTA), kyseliny N,N-bis(hydroxybenzyl)ethylendiamin-N,N'-dioctové (HBED), kyseliny triethylentetraminhexaoctové (TTHA), kyseliny 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-N,N',N'',N'''-tri- a -tetraoctové (DO3A a DOTA), kyseliny 1,4,7,10-tetraaza-cyklotridekan-N,N',N'',N'''-tri- a -tetraoctové (TRI3A a TRITA), kyseliny hydroxyethyldiamintriocové (HEDTA), kyseliny 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan-N,N',N'',N'''-tetraoctové (TETA), substituované DTPA, substituované EDTA nebo od deferoxaminu nebo od sloučeniny obecného vzorce III



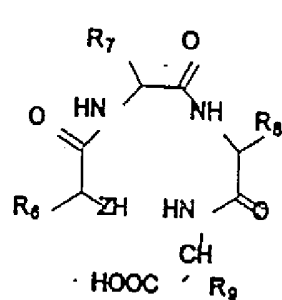
(III)

ve kterém

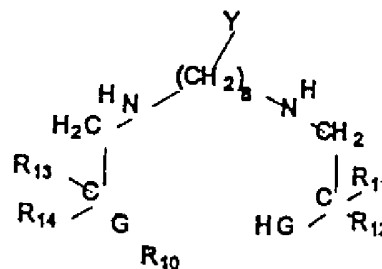
- R_1 znamená popřípadě substituovanou uhlovodíkovou skupinu s rozvětveným nebo nerozvětveným řetězcem, přičemž tato skupina je popřípadě přerušena alespoň jedním heteroatomem zvoleným z atomu dusíku, kyslíku a síry a/nebo alespoň jednou skupinou NH a
- Q znamená skupinu, která je schopna reagovat s amino-skupinou peptidu a která je výhodně vybrána ze souboru sestávajícího z karbonylu, karbimidoylu, N-(C_1-C_6)alkylkarbimidoylu, N-hydroxykarbimidoylu a

N-(C₁-C₆)alkoxykarbimidoylu.

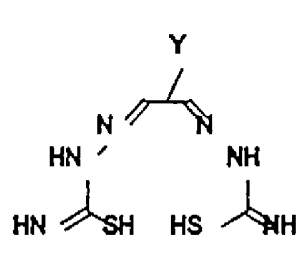
4. Značená biotinová sloučenina podle nároku 3, kde chelatotvorná skupina R je vybrána ze souboru zahrnujícího obecné vzorce IV až XIII



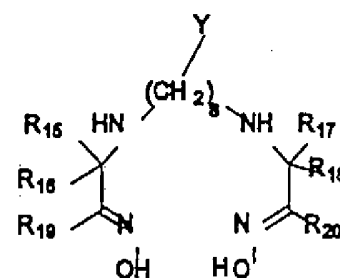
(IV)



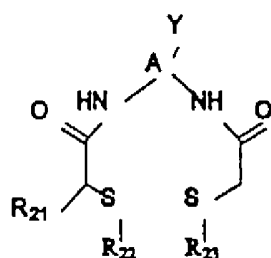
(V)



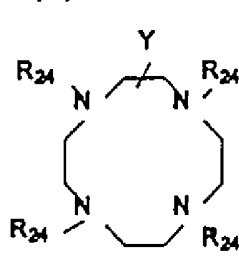
(VI)



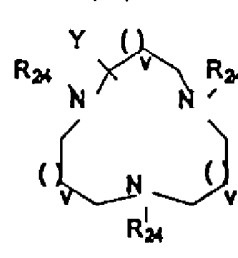
(VII)



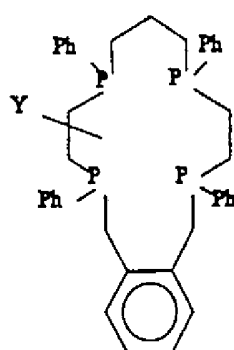
(VIII)



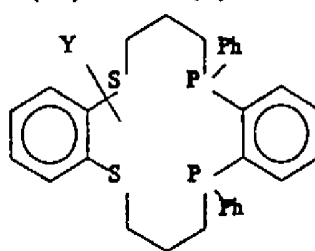
(IX)



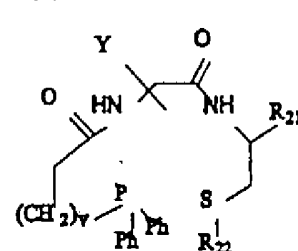
(X)



(XI)



(XII)



(XIII)

ve kterém

R_6 až R_{20} znamenají každý nezávisle na sobě atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, za předpokladu, že alespoň jeden z C_6 až C_9 znamená symbol Y,

R_{21} znamená atom vodíku nebo CO_2 -alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části,

R_{22} a R_{23} jsou každý jednotlivě alkylkarbonylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, benzoylová skupina nebo benzylová skupina,

v znamená 0 nebo 1,

s znamená 2 nebo 3,

R_{24} představuje skupinu vzorce CH_2COOH nebo její funkční derivát,

A znamená alkylenovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, jestliže je žádoucí, substituovanou CO_2 -alkylovou, CH_2CO -alkylovou, $CONH_2$ nebo $CONHCH_2CO_2$ -alkylovou skupinou, fenylenovou skupinu nebo fenylenovou skupinu substituovanou CO_2 -alkylovou skupinou, přičemž alkylové skupiny obsahují 1 až 4 atomy uhlíku,

G znamená skupinu NH nebo atom síry,

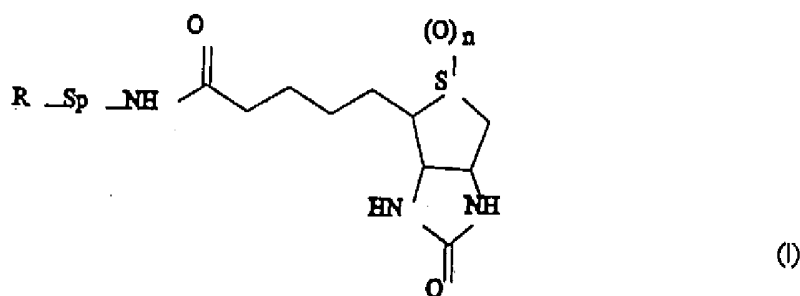
Y znamená valenční vazbu nebo funkční skupinu schopnou

se vázat s prostorovou skupinou a

z znamená atom síry nebo kyslíku.

5. Způsob přípravy značené biotinové sloučeniny podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se biotinová sloučenina obecného vzorce I znázorněného v nároku 1, kde symboly mají význam uvedený v nároku 1, nechá reagovat s atomem kovu, jak je definován v nároku 1, ve formě soli nebo chelatu vázaného k poměrně slabému chelatoru k vytvoření komplexu.

6. Biotinová sloučenina k použití podle nároku 5, která má obecný vzorec I



ve kterém

n znamená 1 nebo 2,

R představuje chelatotvornou skupinu k chelatizaci atomu kovu a

Sp je prostorová skupina, která obsahuje alespoň 4 atomy vytvářející rozestup mezi NH a R.

7. Farmaceutický přípravek, v y z n a č u j í c í

s e t í m, že obsahuje kromě farmaceuticky přijatelné nosné látky a pokud je žádoucí alespoň jedné farmaceuticky přijatelné pomocné látky jako aktivní látku značenou biotinovou sloučeninu podle nároku 1, 2, 3 nebo 4.

8. Způsob detekce a lokalizace tumorů v těle teplokrevného žijícího jedince, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se

i) podá tomuto jedinci přípravek obsahující (strept)avidin ve spojení s polypeptidem projevujícím selektivní afinitu k uvedenému tumoru,

ii) načež se po avidinaci tohoto tumoru podá uvedenému jedinci přípravek obsahující množství dostatečné pro vnější zobrazení značené biotinové sloučeniny podle nároku 1, 2, 3 nebo 4, přičemž biotinová sloučenina je značena

a) radioaktivním kovovým izotopem vybraným ze souboru sestávajícího z ^{99m}Tc , ^{203}Pb , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{72}As , ^{111}In , ^{113m}In , ^{97}Ru , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{52}Fe , ^{52m}Mn a ^{51}Cr nebo

b) paramagnetickým atomem kovu zvoleným ze souboru sestávajícího z Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Pr, Nd, Sm, Yb, Gd, Tb, Dy, Ho a Er, a

iii) konečně podrobí tento jedinec vnějšímu zobrazení ke stanovení cílových míst v těle tohoto jedince ve vztahu k aktivitě pozadí.

9. Způsob detekce a lokalizace tumorů v těle teplokrevného žijícího jedince, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se

i) podá uvedenému jedinci přípravek obsahující biotinylovaný polypeptid, který projevuje selektivní afinitu k tumoru,

ii) potom podá přípravek obsahující (strept)avidin,

iii) načež se po avidinaci tohoto tumoru podá uvedenému jedinci přípravek obsahující množství dostatečné pro vnější

zobrazení značené biotinové sloučeniny podle nároku 1, 2, 3 nebo 4, přičemž biotinová sloučenina je značena

a) radioaktivním kovovým izotopem vybraným ze souboru sestávajícího z ^{99m}Tc , ^{203}Pb , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{72}As , ^{111}In , ^{113m}In , ^{97}Ru , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{52}Fe , ^{52m}Mn a ^{51}Cr nebo

b) paramagnetickým atomem kovu zvoleným ze souboru sestávajícího z Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Pr, Nd, Sm, Yb, Gd, Tb, Dy, Ho a Er, a

iv) konečně podrobí tento jedinec vnějšímu zobrazení ke stanovení cílových míst v těle tohoto jedince ve vztahu k aktivitě pozadí.

10. Způsob intraoperativní detekce a lokalizace tumorů v těle teplokrevných žijících jedinců, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se

i) podá uvedenému jedinci přípravek obsahující (strept)-avidin ve spojení s polypeptidem projevujícím selektivní afinitu k uvedenému tumoru,

ii) poté, po avidinaci tohoto tumoru, podá uvedenému jedinci přípravek obsahující značenou biotinovou sloučeninu podle nároku 1, 2, 3 nebo 4, v množství dostatečném pro detekci záření sondou, přičemž biotinová sloučenina je značena ^{161}Tb , a

iii) konečně poté, co se ponechá aktivní látka vázat a absorbovat v tumoru a po clearanci krve od radioaktivity, podrobí tento jedinec radioimunodetekční technice v příslušné oblasti těla tohoto jedince, za použití sondy pro detekci záření.

11. Způsob intraoperativní detekce a lokalizace tumorů v těle teplokrevných žijících jedinců, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se

i) podá uvedenému jedinci přípravek obsahující biotinylovaný

polypeptid, který projevuje selektivní afinitu k tumoru,
 ii) potom podá přípravek obsahující (strept)avidin,
 iii) poté, po avidinaci tohoto tumoru, podá uvedenému jedinci
 přípravek obsahující značenou biotinovou sloučeninu podle
 nároku 1, 2, 3 nebo 4, v množství dostatečném pro detekci
 záření sondou, přičemž biotinová sloučenina je značena
 ^{161}Tb , a
 iv) konečně poté, co se ponechá aktivní látka vázat
 a absorbovat v tumoru a po clearanci krve od radioaktivity,
 podrobí tento jedinec radioimunodetekční technice v příslušné
 oblasti těla tohoto jedince, za použití sondy pro detekci
 záření.

12. Způsob léčebného ošetřování tumorů v těle
 teplokrevného žijícího jedince, v y z n a č u j í c í s e
 t í m, že se

i) podá tomuto jedinci přípravek obsahující (strept)avidin
 ve spojení s polypeptidem projevujícím selektivní afinitu
 k uvedenému tumoru,
 ii) načež se po avidinaci tohoto tumoru podá uvedenému
 jedinci přípravek obsahující značenou biotinovou sloučeninu
 podle nároku 1, 2, 3 nebo 4, v množství dostatečném pro boj
 s tumory nebo pro potlačení tumorů, přičemž biotinová
 sloučenina je značena kovovým izotopem zvoleným ze souboru
 sestávajícího z $^{114\text{m}}\text{In}$, ^{186}Re , ^{188}Re , ^{77}As , ^{90}Y , ^{66}Ga , ^{67}Cu ,
 ^{169}Er , $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{121}Sn , ^{127}Te , ^{142}Pr , ^{143}Pr , ^{198}Au , ^{199}Au ,
 ^{149}Tb , ^{161}Tb , ^{109}Pd , ^{165}Dy , ^{149}Pm , ^{151}Pm , ^{153}Sm , ^{157}Gd ,
 ^{159}Gd , ^{166}Ho , ^{172}Tm , ^{169}Yb , ^{175}Yb , ^{177}Lu , ^{105}Rh a ^{111}Ag .

13. Způsob léčebného ošetřování tumorů v těle
 teplokrevného žijícího jedince, v y z n a č u j í c í s e
 t í m, že se

i) podá uvedenému jedinci přípravek obsahující biotinylovaný

polypeptid, který projevuje selektivní afinitu k tumoru,
 ii) potom podá přípravek obsahující (strept)avidin,
 iii) načež se po avidinaci tohoto tumoru podá uvedenému
 jedinci přípravek obsahující značenou biotinovou sloučeninu
 podle nároku 1, 2, 3 nebo 4, v množství dostatečném pro boj
 s tumory nebo pro potlačení tumorů, přičemž biotinová
 sloučenina je značena kovovým izotopem zvoleným ze souboru
 sestávajícího z ^{114m}In , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{77}As , ^{90}Y , ^{66}Ga , ^{67}Cu ,
 ^{169}Er , ^{117m}Sn , ^{121}Sn , ^{127}Te , ^{142}Pr , ^{143}Pr , ^{198}Au , ^{199}Au ,
 ^{149}Tb , ^{161}Tb , ^{109}Pd , ^{165}Dy , ^{149}Pm , ^{151}Pm , ^{153}Sm , ^{157}Gd ,
 ^{159}Gd , ^{166}Ho , ^{172}Tm , ^{169}Yb , ^{175}Yb , ^{177}Lu , ^{105}Rh a ^{111}Ag .

14. Kit pro přípravu radiofarmaceutického přípravku,
 v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje
 a) přípravek obsahující (strept)avidin ve spojení s poly-
 peptidem projevujícím selektivní afinitu k tumorům,
 b) biotinovou sloučeninu obecného vzorce I znázorněného
 v nároku 1, kde symboly mají význam uvedený v nároku 1, ke
 kteréžto sloučenině, pokud je to žádoucí, je přidána inertní
 farmaceuticky přijatelná nosná látka a/nebo formulační
 prostředek a/nebo pomocná látka,
 c) roztok soli nebo chelatu kovového izotopu vybraného ze
 souboru sestávajícího z ^{203}Pb , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{72}As ,
 ^{111}In , ^{113m}In , ^{114m}In , ^{97}Ru , ^{62}Cu , ^{99m}Tc , ^{186}Re , ^{188}Re ,
 ^{64}Cu , ^{52}Fe , ^{52m}Mn , ^{51}Cr , ^{77}As , ^{90}Y , ^{67}Cu , ^{169}Er , ^{117m}Sn ,
 ^{121}Sn , ^{127}Te , ^{142}Pr , ^{143}Pr , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{149}Tb , ^{161}Tb ,
 ^{109}Pd , ^{165}Dy , ^{149}Pm , ^{151}Pm , ^{153}Sm , ^{157}Gd , ^{166}Ho , ^{172}Tm ,
 ^{169}Yb , ^{175}Yb , ^{177}Lu , ^{105}Rh a ^{111}Ag , a
 d) instrukce pro použití s předpisem pro reakci složek
 přítomných v kitu.

15. Kit pro přípravu radiofarmaceutického přípravku,
 v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje

- a) přípravek zahrnující biotinylovaný polypeptid, který projevuje selektivní afinitu k tumorům,
- b) přípravek obsahující (strept)avidin,
- c) biotinovou sloučeninu obecného vzorce I znázorněného v nároku 1, kde symboly mají význam uvedený v nároku 1, ke kteréžto sloučenině, pokud je to žádoucí, je přidána inertní farmaceuticky přijatelná nosná látka a/nebo formulační prostředek a/nebo pomocná látka,
- d) roztok soli nebo chelatu kovového izotopu vybraného ze souboru sestávajícího z ^{203}Pb , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{72}As , ^{111}In , $^{113\text{m}}\text{In}$, $^{114\text{m}}\text{In}$, ^{97}Ru , ^{62}Cu , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{186}Re , ^{188}Re , ^{64}Cu , ^{52}Fe , $^{52\text{m}}\text{Mn}$, ^{51}Cr , ^{77}As , ^{90}Y , ^{67}Cu , ^{169}Er , $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{121}Sn , ^{127}Te , ^{142}Pr , ^{143}Pr , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{149}Tb , ^{161}Tb , ^{109}Pd , ^{165}Dy , ^{149}Pm , ^{151}Pm , ^{153}Sm , ^{157}Gd , ^{166}Ho , ^{172}Tm , ^{169}Yb , ^{175}Yb , ^{177}Lu , ^{105}Rh a ^{111}Ag , a
- e) instrukce pro použití s předpisem pro reakci složek přítomných v kitu.

16. Kit pro přípravu radiofarmaceutického přípravku, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje

- a) přípravek obsahující (strept)avidin ve spojení s polypeptidem projevujícím selektivní afinitu k tumorům,
- b) biotinovou sloučeninu obecného vzorce I znázorněného v nároku 1, kde symboly mají význam uvedený v nároku 1, ke kteréžto sloučenině, pokud je to žádoucí, je přidána inertní farmaceuticky přijatelná nosná látka a/nebo formulační prostředek a/nebo pomocná látka,
- c) redukční činidlo a pokud je to žádoucí, chelator a
- d) instrukce pro použití s předpisem pro reakci složek kitu s $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ve formě technecistanového roztoku nebo s ^{186}Re nebo ^{188}Re ve formě rhenistanového roztoku.

17. Kit pro přípravu radiofarmaceutického přípravku,

v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje

- a) přípravek zahrnující biotinylovaný polypeptid, který projevuje selektivní afinitu k tumorům,
- b) přípravek obsahující (strept)avidin,
- c) biotinovou sloučeninu obecného vzorce I znázorněného v nároku 1, kde symboly mají význam uvedený v nároku 1, ke kteréžto sloučenině, pokud je to žádoucí, je přidána inertní farmaceuticky přijatelná nosná látka a/nebo formulační prostředek a/nebo pomocná látka,
- d) redukční činidlo a pokud je to žádoucí, chelator a
- e) instrukce pro použití s předpisem pro reakci složek kitu s ^{99m}Tc ve formě technecistanového roztoku nebo s ^{186}Re nebo ^{188}Re ve formě rhenistanového roztoku.

JUDr. Petr KALENSKY
advokát



SPOLEČNÁ ADVOKÁTNÍ KANCELÁŘ
VŠETEČKA ZELENÝ ŠVORČÍK KALENSKÝ
A PARTNEŘI

120 00 Praha 2, Hájkova 2
Česká republika