

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040260**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.05.13(51) Int. Cl. **A61K 51/10** (2006.01)(21) Номер заявки
201501174(22) Дата подачи заявки
2014.06.05(54) **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В
ЭНДОРАДИОНУКЛИДНОЙ ТЕРАПИИ**(31) **1310028.4**(32) **2013.06.05**(33) **GB**(43) **2016.10.31**(86) **PCT/EP2014/061743**(87) **WO 2014/195423 2014.12.11**(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
БАЙЕР АС (NO)(72) Изобретатель:
**Френвик Янне Олсен, Рюан Улав Б.,
Катбертсон Алан (NO)**(74) Представитель:
**Веселицкая И.А., Кузенкова Н.В.,
Веселицкий М.Б., Каксис Р.А.,
Белоусов Ю.В., Куликов А.В.,
Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)**(56) **WO-A2-2012131378****WO-A1-2004091668**

PURKL S. et al.: "Solid-phase extraction using Empore (TM) Radium Rad Disks to separate radium from thorium", Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 1 June 2003 (2003-06-01), pages 473-480, XP055133922, Dordrecht DOI: 10.1023/A:1024547631964 Retrieved from the Internet: URL:<http://rd.springer.com/article/10.1023%2FA%3A1024547631964> Pages 473-475

PURKL S. et al.: "A rapid method for alpha-spectrometric analysis of radium isotopes in natural waters using ion-selective membrane technology", APPLIED RADIATION AND ISOTOPES, ELSEVIER, OXFORD, GB, vol. 59, no. 4, 1 October 2003 (2003-10-01), pages 245-254, XP004458717, ISSN: 0969-8043, DOI: 10.1016/S0969-8043(03)00172-6 page 245-246

IAEA: "Analytical Methodology for the Determination of Radium Isotopes in Environmental Samples AnAnalytical Methodology for the Determination of Radium Isotopes in Environmental Samples", 1 December 2010 (2010-12-01), XP055133930, Retrieved from the Internet: URL:http://nucleus.iaea.org/rpst/ReferenceProducts/Analytical_Methods/AQ-19.pdf [retrieved on 2014-08-08] Pages 3 and 18

(57) Изобретение относится к способу образования очищенного раствора как минимум одного излучающего α -частицы изотопа тория. Способ по изобретению включает контакт раствора как минимум с одним излучающим α -частицы изотопом тория и как минимум одним изотопом радия, как минимум с одним селективным связующим веществом для изотопа радия и последующую фильтрацию указанного раствора как минимум от одного селективного связующего вещества для удаления как минимум одного изотопа радия. Селективное связующее вещество по изобретению выбирают из группы, состоящей из катионообменных смол и керамического гидроксипатита. Кроме того, изобретение относится к устройству для введения указанного раствора и комплекту для создания фармацевтического препарата с таким раствором. Более того, изобретение относится к способу образования инъекционного раствора комплекса изотопа тория.

B1**040260****040260****B1**

Уровень техники

Изобретение касается области эндорадионуклидной терапии, в частности α -эндорадионуклидной терапии. Более конкретно изобретение касается безопасности и эффективности препаратов для применения в эндорадионуклидной терапии, таких препаратов и способов их приготовления, обработки и безопасного хранения.

Основной принцип эндорадионуклидной терапии состоит в избирательном разрушении нежелательных типов клеток, например, для терапии рака. Радиоактивный распад высвобождает значительное количество энергии, которое переносится высокоэнергетичными частицами и/или электромагнитным излучением. Высвобождаемая энергия вызывает цитотоксическое повреждение клеток, в результате приводящее к прямой или косвенной гибели клетки. Очевидно, что для эффективности в лечении болезни излучение должно быть избирательно нацеленным на больную ткань, таким образом, чтобы эта энергия и повреждение клеток, в первую очередь, удаляла нежелательные опухолевые клетки или клетки, поддерживающие рост опухоли.

Некоторые излучатели β -частиц долгое время считались эффективными в лечении рака. В последнее время излучатели α -частиц стали предназначаться для применения в противоопухолевых средствах. Излучатели α -частиц имеют несколько отличий от излучателей β -частиц: например, они обладают более высокой энергией и меньшей дальностью в тканях. Дальность излучения типичных излучателей α -частиц в физиологическом окружении, как правило, составляет менее 100 мкм, т.е. эквивалентна лишь нескольким диаметрам клетки. Этот относительно короткий диапазон делает излучатели α -частиц особенно подходящими для лечения опухолей, включая микрометастазы, поскольку при эффективном нацеливании и сдерживании относительно малая часть излучаемой энергии проходит мимо клеток-мишеней, таким образом, сводя к минимуму повреждение окружающей здоровой ткани. В отличие от них дальность β -частиц в воде составляет 1 мм или более.

Энергия излучения α -частиц является высокой по сравнению с энергией β -частиц, γ -лучей и рентгеновских лучей, которая обычно составляет 5-8 МэВ или в 5-10 раз выше, чем при излучении β -частиц и как минимум в 20 раз выше, чем при γ -излучении. Обеспечение очень большого количества энергии на очень коротком расстоянии дает α -излучение с исключительно высокой линейной передачей энергии (LET) по сравнению с β - или γ -излучением. Это объясняет исключительную цитотоксичность α -излучающих радионуклидов, а также предъявляет жесткие требования к уровню контроля и изучению распределения радиофармпрепаратов, которые необходимы для избегания неприемлемых побочных эффектов из-за облучения здоровой ткани.

Таким образом, несмотря на сильное действие, важное значение имеет доставка излучающих α -частиц радионуклидов в опухоль с низким поглощением или без поглощения в здоровых тканях. Это может достигаться по аналогии с принципом, продемонстрированным при доставке излучающего β -частицы радионуклида иттрия-90 (Y -90) с использованием моноклонального антитела, конъюгированного с хелатообразующей молекулой ДТРА как носителем, т.е. применяемого в клинической практике радиофармацевтического средства Zevalin® (Goldsmith, S.J, Semin. Nucl. Med. 40: 122 - 35. Radioimmunotherapy of lymphoma: Vexhar and Zevalin). Таким образом, вводят комплекс радионуклида и конъюгата носителя-хелатора. Помимо антител полной длины различного происхождения описывались другие типы белковых носителей, включая фрагменты антител (Adams et al., A single treatment of yttrium-90-labeled CHX-A"-C6.5 diabody inhibits the growth of established human tumor xenografts in immunodeficient mice. Cancer Res. 64: 6200-8, 2004), доменные антитела (Tijink et al., Improved tumor targeting of anti-epidermal growth factor receptor Nanobodies through albumin binding: taking advantage of modular Nanobody technology. Mol. Cancer Ther. 7: 2288 - 97, 2008), липокалины (Kim et al., High-affinity recognition of lanthanide(III) chelate complexes by a reprogrammed human lipocalin 2. J. Am. Chem. Soc. 131: 3565 - 76, 2009), молекулы миметиков антител от компании Affibody (Tolmachev et al., Radionuclide therapy of HER2-positive microxenografts using a ^{177}Lu -labeled HER2-specific Affibody molecule. Cancer Res. 15:2772-83, 2007) и пептиды (Miederer et al., Preclinical evaluation of the alpha-particle generator nuclide ^{225}Ac for somatostatin receptor radiotherapy of neuroendocrine tumors. Clin. Cancer Res. 14: 3555 - 61, 2008).

Распад или "разрушение" многих фармацевтически релевантных излучателей α -частиц в результате приводит к образованию "дочерних" нуклидов, которые также могут разрушаться с высвобождением α -излучения. Разрушение дочерних нуклидов может приводить к образованию третьих видов нуклидов, которые также могут быть излучателями α -частиц, что ведет к непрерывной цепочке радиоактивного распада - "цепочке распада". Таким образом, фармацевтический препарат фармацевтически релевантного излучателя α -частиц часто также содержит продукты распада, которые сами являются излучателями α -частиц. В такой ситуации препарат содержит смесь радионуклидов, состав которой зависит как от времени приготовления, так и от периода полураспада различных радионуклидов в цепочке распада.

Очень высокая энергия α -частицы в сочетании с ее значительной массой приводит к передаче значительного импульса излучаемой частице после ядерного распада. В результате при высвобождении α -частицы равный, но противоположный импульс передается оставшемуся дочернему ядру, приводя к "от-

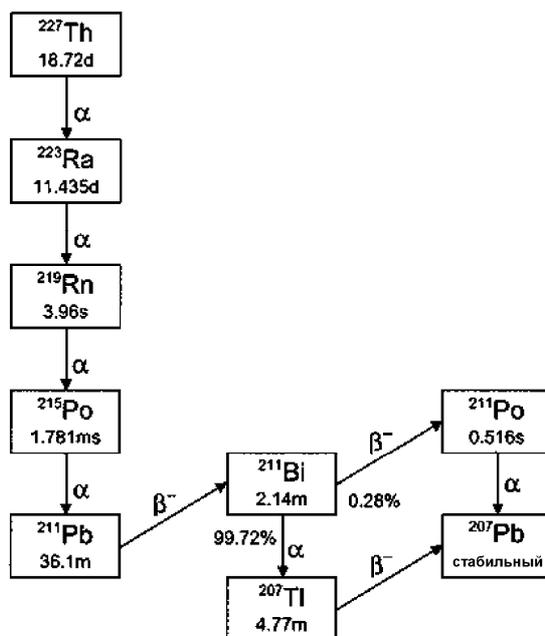
даче ядра". Эта отдача является достаточно мощной для разрушения большинства химических связей и вытеснения новообразованного дочернего нуклида из хелатного комплекса, в котором располагался исходный нуклид при разрушении. Это имеет большое значение в случае, если дочернее ядро само является источником α -излучения или является частью непрерывной цепочки радиоактивного распада.

Из-за вышеупомянутых эффектов отдачи и изменения в химических свойствах после радиоактивного распада дочерние нуклиды, образованные таким образом в результате радиоактивного распада первоначально включенного радионуклида, могут не образовывать комплекса с хелатором. Таким образом, в отличие от исходного нуклида дочерние нуклиды и последующие продукты в цепочке распада могут не присоединяться к носителю. Таким образом, хранение излучающего α -частицы радиоактивного фармацевтического препарата, как правило, ведет к накоплению "вращения" свободных дочерних нуклидов и последующих радионуклидов в цепочке распада, которые утратили способность к эффективному связыванию или хелатообразованию. Несвязанные радиоизотопы не контролируются нацеливающими механизмами, включенными в нужный препарат, и таким образом, желательно удалить свободные дочерние нуклиды перед введением дозы пациенту.

Поскольку радиоизотоп торий-227 образуется и очищается на специальном производственном объекте, неизбежно требуется определенный период хранения между образованием, транспортировкой, комплексообразованием и введением дозы, и желательно, чтобы фармацевтический препарат был максимально очищенным от дочерних нуклидов, насколько это возможно. Значительная проблема в связи с вышеупомянутым способом связана с введением воспроизводимой композиции целевого α -радионуклида, которая не содержит изменчивого количества нецелевых α -радионуклидов (например, свободных дочерних нуклидов) относительно целевого количества. Также желательно уменьшить подверженность органических компонентов, таких как связывающие/нацеливающие компоненты и/или лиганды, ионизирующему α -излучению. Удаление свободных радиоизотопов из раствора способствует снижению радиолитических повреждений таких компонентов и, таким образом, помогает сохранить качество фармацевтического препарата или исходного раствора.

Хотя распад нужного нуклида во время хранения и при перевозке может быть рассчитан и на него делается поправка, это не позволяет избежать образования нецелевых дочерних продуктов, которые делают композицию более токсичной и/или сокращают период безопасного хранения и/или изменяют терапевтическое окно в неблагоприятную сторону. Кроме того, таким образом, предпочтение отдается композициям, по возможности не включающим дочерних нуклидов, и организации процесса производства дозированных медикаментов, который бы гарантировал безопасность состава вводимой путем инъекции дозы.

События, происходящие вследствие распада тория-227, могут рассматриваться как иллюстрация проблемы.



Цепочка распада тория-227

При периоде полураспада приблизительно 18,7 дней торий-227 распадается на радий-223 после высвобождения α -частиц. Радий-223, в свою очередь, имеет период полураспада приблизительно 11,4 дней и распадается на радон-219, образующий полоний-215, который образует свинец-211. Каждый из этих этапов вызывает α -излучение, и периоды полураспада радона-219 и полония-215 составляют менее 4 с и менее 2 мс соответственно. Конечный результат состоит в том, что радиоактивность в свежеприготов-

ленном растворе, например, хелатного тория-227, возрастает в первые 19 дней, а затем начинает снижаться. Очевидно, что количество тория-227, доступного для нацеливания на опухоль, постоянно снижается, и, таким образом, доля общей радиоактивности, которая приходится на торий-227, в течение этих 19 дней снижается, когда достигается ситуация равновесия. Если бы дочерние нуклиды могли быть специально удалены с применением простой процедуры, следовало бы рассматривать лишь количество тория-227 (например, в комплексе с биомолекулой носителем), и терапевтическое окно - соотношение между терапевтическим эффектом и неблагоприятным воздействием не было связано со временем хранения до удаления дочерних изотопов. Этот процесс может быть непрерывным во время хранения продукта или может происходить незадолго до введения, например во время рецептирования и комплексирования, обеспечивающего лекарственный продукт.

Таким образом, существует постоянная значительная потребность в улучшенных радиотерапевтических композициях (в частности, для излучающих α -частицы радионуклидов) и процедурах изготовления готового для инъекций раствора, биологическое воздействие которого может определяться воспроизводимым способом, без необходимости учета "вросших" радионуклидов, образуемых в цепочке радиоактивного распада. Кроме того, существует потребность в радиотерапевтических способах и комплектах, позволяющих легко изготавливать конечную радиоактивную композицию в стерильных условиях непосредственно перед введением пациенту. Кроме того, с точки зрения производства высококачественных коммерческих продуктов, отвечающих строгим стандартам принципов Современной надлежащей производственной практики (cGMP), желательнее, чтобы производственный процесс поддавался автоматизации с минимальным ручным вмешательством во время приготовления дозы.

Настоящее изобретение может относиться к композициям, способам и процедурам удаления катионных дочерних нуклидов из радиофармацевтического препарата, содержащего исходный радионуклид, который может быть предусмотрен в форме раствора или может быть устойчиво хелатирован в форму, включающую лиганд и нацеливающий компонент, т.е. образуется или может быть образован комплекс исходного радионуклида с лигандом, который сам является конъюгированным с нацеливающим компонентом (таким как антитело). В частности, авторами настоящего изобретения неожиданно было установлено, что дочерние радионуклиды могут безопасным и надежным способом захватываться на различные селективные связывающие вещества непрерывно во время хранения радиоизотопа и/или незадолго до введения радиоизотопа в форме радиофармацевтического средства. В частности, радионуклиды, захваченные селективными связывающими веществами, являются излучающими α -частицы радионуклидами или генераторами для излучающих α -частицы радионуклидов, которые обычно образуются во время распада исходного излучающего α -частицы радионуклида и/или путем дальнейшего распада образовавшихся в результате дочерних нуклидов. Типичная цепочка распада для ^{227}Th описывается авторами, и изотопы, указанные в этой цепочке, образуют предпочтительные дочерние изотопы, которые в различных аспектах настоящего изобретения могут быть удалены и/или захвачены. Готовые терапевтические композиции, получаемые в результате применения изобретения, являются подходящими для применения в лечении раковых и нераковых заболеваний.

В альтернативном варианте можно обеспечить композицию, позволяющую удалять радиоактивные дочерние нуклиды во время хранения и/или непосредственно перед введением (например, инъекцией), в которой "вросшие" продукты радиоактивного распада удалены. В результате сводится к минимуму сопутствующее введение дочерних нуклидов и, таким образом, минимизируется доза облучения и радиационное поражение нормальных тканей и тканей, не являющихся мишенями.

Таким образом, только концентрацию и период полураспада исходного радионуклида и дочерних нуклидов, образуемых *in vivo*, следует учитывать при расчете радиоактивной дозы, получаемой пациентом. Самым важным является то, что это ведет к воспроизводимой ситуации, касающейся соотношения между эффективностью и неблагоприятными эффектами. Таким образом, имеющееся терапевтическое окно не меняется в процессе хранения фармацевтического препарата.

Другими словами, при применении изобретения соотношение между желательным противоопухолевым эффектом и неблагоприятным воздействием может быть напрямую связано с измеряемой концентрацией первичного нуклида и становится независимым от времени хранения фармацевтического препарата. В ситуациях, в которых концентрация первичного излучающего α -частицы радионуклида может определяться путем измерения одного или нескольких параллельных излучений γ -частиц, достаточно разделенных с γ -частицами от дочерних излучений, это может выполняться с применением стандартного оборудования при радиофармакологии. Фактически, если лекарственный продукт является чистым в отношении исходного нуклида, соответствующая доза фармацевтического препарата зависит только от времени после изготовления и может быть протабулирована. В принципе, отпадает потребность в дальнейших измерениях в клинике, и обращение с соответствующим радиофармацевтическим средством может быть аналогичным обращению с другими токсичными фармацевтическими средствами (хотя такая процедура должна бы противоречить действующей практике, которая основывается на том, что радиоактивность может быть легко измерена). Обеспечение возможности выполнения этой новой и упрощенной процедуры для клинического применения нацеленных излучающих α -частицы радиотерапевтических

средств является важным аспектом изобретения.

В еще одном варианте осуществления изобретение касается обеспечения комплекта для фармацевтического препарата. Комплекты обычно поставляются в больничную аптеку или радиофармакологический центр и могут приготавливаться для введения незадолго (например, менее чем за 6 ч) или непосредственно (например, менее чем за 1 ч) до введения. Значительным преимуществом является возможность выполнения очистки нужного излучающего α -частицы радионуклида во время подготовки фармацевтического препарата к введению. Еще одним преимуществом является возможность осуществления очистки без лишних усилий и сложных операций, поскольку обращение с радиоактивными материалами желательнее сводить к минимуму.

Комплект согласно изобретению может быть предусмотрен в форме устройства, например кассетной лаборатории, к которой прилагаются пробирки или флаконы, содержащие различные реагенты, а также шприц, содержащий готовую лекарственную форму предназначенного для инъекций фармацевтического препарата. Устройство выполняет операции, которые в иных условиях приходилось бы выполнять вручную.

Авторами настоящего изобретения было установлено, что некоторые селективные связывающие материалы, в частности, в форме твердого вещества или геля или иммобилизованные на них, в высокой степени удерживают катионные дочерние нуклиды после распада исходного нуклида. Селективность этих материалов обеспечивает возможность удерживания дочерних изотопов, но позволяет комплексам исходных радионуклидов (например, изотопа тория, такого как ^{227}Th , в комплексе с лигандом, необязательно присоединенным к биомолекуле) беспрепятственно проходить сквозь фильтр или оставаться в растворе, в то время как дочерние задерживаются. Это обеспечивает значительное преимущество при изготовлении и доставке высококачественных радиофармацевтических средств, которые могут приготавливаться непосредственно или незадолго до введения, но доставляются с относительно низким уровнем загрязнения от несвязанных дочерних радионуклидов.

Краткое описание изобретения

В первом аспекте изобретение, таким образом, обеспечивает фармацевтический процесс, позволяющий получать комплексный излучающий α -частицы радионуклид (необязательно в форме конъюгата биомолекулы). Предпочтительно вышеупомянутый процесс включает в качестве ключевого компонента селективное связывающее вещество (такое как твердофазный смоляной фильтр), способное выборочно поглощать, связывать, образовывать комплексы или иным образом удалять из раствора несвязанные дочерние нуклиды, образуемые во время распада тория-227. Ими могут быть прямые дочерние нуклиды или последующие нуклиды в цепочке радиоактивного распада. В частности, ^{223}Ra и его общеизвестные продукты распада (включая ^{219}Rn , ^{215}At , ^{215}Po , ^{211}Po , ^{211}Bi , ^{211}Pb , ^{207}Pb и ^{207}Tl) являются типичными дочерними изотопами, которые подлежат удалению, как и любые из показанных в этом описании в цепочке распада тория.

Ключевым аспектом настоящего изобретения, таким образом, является способ образования очищенного раствора как минимум одного комплексного излучающего α -частицы радионуклида, вышеупомянутый способ включает контакт раствора, включающего вышеупомянутый как минимум один излучающий α -частицы радионуклидный комплекс и как минимум один дочерний нуклид как минимум с одним селективным связывающим веществом для вышеупомянутого как минимум одного дочернего нуклида и последующее отделение вышеупомянутого раствора как минимум одного излучающего α -частицы радионуклидного комплекса от вышеупомянутого как минимум одного селективного связывающего вещества.

Во всех аспектах настоящего изобретения дочерние нуклиды, как правило, являются несвязанными. Это может быть результатом кинетической отдачи, которая создается после α -распада и/или в результате различий в свойствах комплексообразования между исходным нуклидом и дочерним. Все радионуклиды, применяемые согласно настоящему изобретению, как правило, представляют собой радионуклиды "тяжелых металлов", обладающие, например, атомной массой более 150 а.е.м. (например, от 210 до 230). К типичным излучающим α -частицы радионуклидам тяжелых металлов относятся At , ^{212}Bi , ^{223}Ra , ^{224}Ra , ^{225}Ac и ^{227}Th . К предпочтительным излучающим α -частицы (исходным) радионуклидам относятся излучающие α -частицы радионуклиды тория, такие как ^{227}Th , который является наиболее предпочтительным.

Авторами изобретения неожиданно было установлено, что подходящие селективные связывающие материалы (описываемые авторами, например, твердофазные смоляные материалы) являются высокоэффективными для поглощения нежелательных несвязанных дочерних ионов в присутствии связанного тория, необязательно конъюгированного с целевыми компонентами (такими как биомолекулы). Таким образом, во втором аспекте настоящее изобретение обеспечивает способ создания инъекционного раствора, включающего как минимум один связанный излучающий α -частицы радионуклид, практически свободный от дочерних нуклидов, причем вышеупомянутый способ включает контакт образца с подходящим селективным связывающим веществом, причем предпочтительно этот контакт происходит с выполнением простого этапа очистки/фильтрации, обеспечивая на выходе радиохимически высокоочищенные фармацевтические препараты, имеющие высокий уровень необходимого излучающего α -частицы (на-

пример, торий) комплекса (необязательно конъюгированного с нацеливающим компонентом). Как правило, непосредственно после отделения меченого комплекса тория (и, необязательно, конъюгата) выполняют стерильную фильтрацию. Особенно целесообразна она в качестве конечного этапа перед введением.

Согласно настоящему изобретению излучающий α -частицы радионуклид, который требуется для введения (исходный радионуклид) описывается здесь далее и должен быть "связанным" или "в форме комплекса". Общее значение этих терминов состоит в том, что излучающий α -частицы радионуклид предусмотрен в форме координационного комплекса, включающего катион радионуклида тяжелого металла и как минимум связанный с ним лиганд. Подходящие лиганды, включая описанные авторами, хорошо известны специалистам в данной области.

Поскольку фармацевтические препараты могут быть созданы из растворов согласно настоящему изобретению, изобретение обеспечивает такие фармацевтические препараты. Они включают раствор излучающего α -частицы радионуклида и практически не содержат дочерних нуклидов, как указывается авторами. В фармацевтическом препарате согласно изобретению излучающий α -частицы радионуклид должен быть связанным как минимум одним лигандом, и лиганд должен быть конъюгирован с нацеливающим (специфично связывающим) компонентом, как описывается авторами. Растворы согласно изобретению могут быть предусмотрены непосредственно в устройстве для введения (таком как шприц, картридж или цилиндр шприца) в готовом для введения виде, причем изобретение обеспечивает возможность очистки раствора до фармацевтического препарата во время введения и даже через процесс введения (например, путем введения через подходящее специфичное связующее вещество в форме шприцевого фильтра). Таким образом, устройства согласно изобретению могут быть устройствами для введения, такими как шприцы. Таким образом, изобретение в другом аспекте обеспечивает устройство для введения, включающее раствор, как описывается авторами. Такое устройство дополнительно может включать, например, фильтр, такой как стерильный фильтр. Шприцевые фильтры являются подходящими для шприцов и других подобных устройств.

Таким образом, изобретение обеспечивает устройство для введения, включающее раствор как минимум одного связанного излучающего α -частицы радионуклида и как минимум одного дочернего нуклида, причем вышеупомянутое устройство также включает фильтр, содержащий как минимум одно селективное связующее вещество для вышеупомянутого дочернего нуклида. Другие устройства согласно изобретению, которые также включают раствор излучающего α -частицы радионуклида, лиганда, нацеливающего компонента и селективного связующего вещества, предусмотрены в форме (предпочтительно одноразовых) картриджей, кассет, роторов, флаконов, ампул и т.п., которые могут использоваться в соответствии со способами согласно изобретению, путем выполнения ручных этапов и/или автоматизированных процедур в автоматическом устройстве.

Еще один ключевой аспект настоящего изобретения касается комплекта, при помощи которого может быть создан фармацевтический препарат. Таким образом, в еще одном аспекте изобретение обеспечивает комплект для создания фармацевтического препарата как минимум одного излучающего α -частицы радиоизотопа, причем вышеупомянутый комплект включает:

- i) раствор вышеупомянутого как минимум одного излучающего α -частицы радиоизотопа и как минимум одного дочернего изотопа;
- ii) как минимум один лиганд;
- ii) специфичный связующий компонент;
- iii) как минимум одно селективное связующее вещество для вышеупомянутого как минимум одного дочернего изотопа.

При этом вышеупомянутый излучающий α -частицы радиоизотоп является связанным или может быть связанным вышеупомянутым лигандом, который конъюгирован или может быть конъюгирован с вышеупомянутым специфичным связующим компонентом.

В одном варианте осуществления излучающий α -частицы радионуклид связывается с лигандом, но не может быть конъюгирован со специфичным связующим (нацеливающим) компонентом. В альтернативном варианте лиганд может быть устойчиво конъюгированным с нацеливающим компонентом и находиться в отдельном от радиоизотопа сосуде. Нахождение органических молекул комплекса (лиганда и/или нацеливающего компонента) отдельно от излучателя α -частиц уменьшает радиационное поражение (например, окисление) органического материала из-за воздействия α -излучения во время хранения.

В одном варианте осуществления комплект может быть предусмотрен в виде двух флаконов. Такой комплект включает флакон с радиоизотопом (например, торием-227) и второй флакон, содержащий буферный раствор конъюгата биомолекулы, соответствующим образом конъюгированной с лигандом (хелатом), который связывается с торием-227. Непосредственно перед приготовлением лекарственного продукта содержимое флакона с торием-227 смешивают с раствором конъюгата биомолекулы.

Захват (несвязанных) радионуклидов, в частности свободных дочерних радионуклидов, из раствора, содержащего как минимум один связанный излучающий α -частицы радиоизотоп (такой как исходный радиоизотоп) и как минимум один органический компонент (такой как комплексообразующий агент

и/или нацеливающий агент) служит для снижения воздействия на органический компонент ионизирующего излучения от дальнейшего распада свободных радионуклидов (например, дочерних). Во всех соответствующих аспектах настоящего изобретения "дочерний" радионуклид (то же, что и радиоизотоп) обычно является "свободным" в растворе. Это означает, что радионуклид предусмотрен в форме растворенного иона и не является (или не является в значительной мере) образующим комплекс или связанным лигандами в растворе. Дочерний радионуклид очевидно может связываться со специфичным связующим веществом, но, как правило, это происходит не в растворе (как описывается авторами). В контексте данного описания термин "дочерний" радионуклид имеет общепринятое среди специалистов значение, в том смысле, что такие нуклиды образуются прямо или косвенно от распада другого радиоизотопа. В данном случае как минимум один "дочерний" радионуклид, присутствующий в растворах, который упоминается в любом и каждом аспекте изобретения, является прямым (первой генерации) или косвенным (второй, третьей или последующей генераций) продуктом распада радионуклида, присутствующего в излучающем α -частицы радионуклидном комплексе. Предпочтительно как минимум продукт распада радионуклида первой генерации, включенный в излучающий α -частицы радионуклидный комплекс, должен присутствовать в таких растворах и должен быть связан селективным связующим веществом.

Подробное описание изобретения

Как было описано выше, степень присутствия "вросших" дочерних радионуклидов во флаконе с торием во время комплексообразования зависит от времени хранения и перевозки. Однако дочерние нуклиды не влияют на комплексообразование излучающего α -частицы радионуклида (тория-227) с конъюгатом биомолекулы, поскольку хелат выбирают таким образом, чтобы нужный радионуклид (например, торий) обладал значительно более высокой аффинностью к хелату по сравнению с дочерними. Во втором, периодическом процессе дочерние нуклиды отделяют от теперь меченной торием биомолекулы путем фильтрации через специфичное связующее вещество. Оно может быть предусмотрено в форме твердофазного фильтрующего картриджа.

Этот процесс отделения излучающего α -частицы материала от органического лиганда и/или нацеливающего компонента имеет дополнительное преимущество снижения скорости радиолиза (например, носителя биомолекулы и/или хелатного компонента) радиофармацевтического средства и может применяться ко всем аспектам изобретения. Поскольку радиоактивный продукт производится ближе к постели больного по сравнению с другими применяемыми в настоящее время стратегиями, материал должен обладать более высокой степенью радиохимической чистоты и/или чистоты органического материала (лигандный и/или нацеливающий компоненты). Это дает преимущества с точки зрения соблюдения требований к сроку годности.

Инъекционные растворы, которые образуются или могут быть образованы с применением способов согласно изобретению, являются очень подходящими для применения в терапии, в частности для применения в лечении гиперпластических заболеваний или опухолей. Фармацевтические препараты, которые образуются или могут быть образованы различными способами согласно изобретению, представляют другие аспекты настоящего изобретения.

В контексте данного описания термин "фармацевтический препарат" означает препарат радионуклида с фармацевтически приемлемыми носителями, формообразующими и/или разбавителями. Однако фармацевтический препарат не обязательно должен быть в форме его конечного введения. Например, фармацевтический препарат может требовать добавления как минимум еще одного компонента перед введением и/или может требовать заключительных этапов приготовления, таких как стерильная фильтрация. Другим компонентом может быть, например, буферный раствор, применяемый для того, чтобы сделать готовый раствор приемлемым для инъекции *in vivo*. В контексте настоящего изобретения фармацевтический препарат может содержать значительный уровень несвязанных радионуклидов в результате цепочки радиоактивного распада нужного радионуклидного комплекса, которые перед введением предпочтительно подлежат удалению в значительной степени с применением способа согласно настоящему изобретению. Такой способ может включать периодическое удаление (например, селективное связывание, хелатообразование, комплексообразование или поглощение) таких несвязанных дочерних радионуклидов в течение значительной части периода хранения препарата или может выполняться на конечной стадии, непосредственно перед введением.

В отличие от фармацевтического препарата применяемые авторами термины "инъекционный раствор" или "готовая композиция" означают медикамент, готовый к введению. Такая композиция также включает препарат связанного радионуклида с фармацевтически приемлемыми носителями, формообразующими и/или разбавителями, но при этом должна быть стерильной, обладать надлежащей тоничностью и не должна содержать неприемлемого уровня несвязанных продуктов радиоактивного распада. Более подробно эти уровни обсуждаются ниже. Очевидно, что инъекционный раствор не должен включать никакого биополимерного компонента, хотя такой биополимер предпочтительно должен будет применяться при приготовлении обсуждаемого в данном описании раствора.

Инъекционные растворы, которые образуются или могут быть образованы любым из способов согласно настоящему изобретению, составляют еще один аспект изобретения.

Изобретение обеспечивает простой способ или процесс очистки и приготовления стерильной готовой композиции радиоактивного препарата, готового к введению, с применением специфических связывающих веществ в форме поглощающих материалов и/или фильтров для поглощения нежелательных продуктов радиоактивного распада, обеспечивая в результате быстрое отделение нежелательных нуклидов во время хранения и/или непосредственно перед введением пациенту. После отделения может следовать стерильная фильтрация, которая выполняется при набирании готовой композиции в шприц, который затем используется для введения пациенту, или даже может выполняться в рамках введения.

В описываемом осуществлении изобретение обеспечивает простой комплект (как описывается авторами) для очистки и готовую композицию радиоактивного медикамента для применения в терапии. Комплекты согласно изобретению могут включать, например, сосуд с торием (такой как флакон, шприц или цилиндр шприца), содержащий раствор радиоактивной соли тория (например, соли ^{227}Th), сосуд (например, флакон) с фармацевтическим раствором (например, лигандом, конъюгированным с нацеливающим компонентом, таким как антитело или рецептор), фильтр, содержащий как минимум одно специфичное связывающее вещество для дочернего(их) нуклида(ов), обязательно стерильный фильтр и шприц. Компоненты комплекта могут быть отдельными или могут соединяться в одну единицу или проточную ячейку, образуя закрытую систему, таким образом, снижая вероятность включения нежелательных побочных продуктов во время производства. Избегание этапов, во время которых может возникать радиохимическое загрязнение, представляет явное преимущество комплектов, включающих компоненты, полностью или частично запечатанные вместе, таким образом, чтобы материал оставался в пределах комплекта в течение как можно большего количества этапов процесса.

Изобретение предусматривает применение процедуры приготовления готовой композиции для инъекции, например, с использованием компонентов, обеспечиваемых в форме комплекта. Процедура согласно любому из способов и/или применению в соответствии с изобретением может включать этап инкубации, при котором раствор или фармацевтический препарат смешивают, например, путем осторожного встряхивания для обеспечения возможности оптимального образования комплекса тория с конъюгатом биомолекулы-хелата с последующей фильтрацией для удаления нежелательных дочерних нуклидов.

Один пример процедуры образования инъекционного раствора α -радионуклида включает этапы:

а) комбинирование первого раствора, включающего растворенную соль излучающего α -частицы изотопа тория и как минимум один изотоп радия, со вторым раствором, включающим как минимум один хелатор, конъюгированный как минимум с одним нацеливающим компонентом антителом;

б) инкубация комбинированных растворов при подходящей температуре от 0 до 50°C , предпочтительно от 20 до 40°C , в течение периода, обеспечивающего возможность образования комплекса между вышеупомянутым хелатором и вышеупомянутым излучающим α -частицы изотопом тория, что обеспечивает образование раствора как минимум одного связанного излучающего α -частицы изотопа тория;

в) контактирование вышеупомянутого раствора как минимум одного связанного излучающего α -частицы изотопа тория как минимум с одним селективным связывающим веществом для как минимум одного из вышеупомянутых изотопов радия;

г) отделение вышеупомянутого раствора как минимум одного связанного излучающего α -частицы изотопа тория от вышеупомянутого как минимум одного селективного связывающего вещества.

Согласно способу образования инъекционного раствора этапы в) и г) представляют способ очистки, который может выполняться в соответствии с любым из соответствующих вариантов осуществления изобретения, как описывается авторами. В этом варианте осуществления нуклиды, связывающие вещества, лиганды и все соответствующие аспекты являются такими, как указывается в данном описании.

Фармацевтические препараты согласно изобретению вместе с очищенными растворами, образуемыми с применением способов согласно изобретению, и инъекционными растворами, образуемыми с применением способов согласно изобретению, предпочтительно имеют низкую концентрацию несвязанных дочерних ионов металлов. Как правило, например, концентрация раствора дочерних нуклидов предпочтительно должна составлять не более 10% от общего показателя радиоактивного распада за единицу времени (из раствора), а остальное приходится на распад связанного (например, тория) α -радионуклида. Предпочтительно этот показатель составляет не более 5% от общего показателя, более предпочтительно не более 3%.

В оптимальном варианте конъюгаты α -радионуклидов согласно настоящему изобретению содержат торий-227, причем процесс наиболее эффективен предпочтительно при удалении Ra. Также могут удаляться и другие дочерние изотопы, как указано в данном описании. В фармацевтических препаратах согласно изобретению и, соответственно, в образуемых в результате растворах для инъекций, а также во всех аспектах изобретения радионуклид является связанным или может быть связанным при помощи подходящего комплексобразующего/хелатирующего образования (в целом указываемого в данном описании как лиганд). Известно много подходящих лигандов для разных подходящих излучающих α -частицы радионуклидов, например, на основе DOTA (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетракарбоновой кислоты) и других макроциклических хелаторов, например, содержащих хелатную группу гидроксифталевую кислоту или гидроксиизофталевую кислоту, а также различные варианты DTPA (ди-

этиленetriаминпентауксусной кислоты), или содержащих октадентатгидроксипиридинон хелаторов. Предпочтительными примерами являются хелаторы, включающие гидроксипиридиноновый компонент, такой как 1,2 гидроксипиридиноновый компонент и/или 3,2-гидроксипиридиноновый компонент. Они очень хорошо подходят для применения в комбинации с ^{227}Th . В одном варианте осуществления изобретения излучающий α -частицы радионуклидный комплекс представляет собой комплекс октадентата 3,2-НОРО иона ^{227}Th .

В фармацевтических препаратах согласно изобретению и, соответственно, в образуемых в результате растворах для инъекции и всех остальных аспектах изобретения как минимум один связанный излучающий α -частицы радионуклид предпочтительно является конъюгированным или может быть конъюгирован как минимум с одним нацеливающим компонентом (также описываемым здесь как специфичный связующий компонент). Многие такие компоненты хорошо известны специалистам в данной области, и может использоваться любой подходящий нацеливающий компонент, отдельно или в комбинации. К подходящим целевым компонентам относятся поли- и олигопептиды, белки, фрагменты ДНК и РНК, аптамеры и т.п. К предпочтительным компонентам относятся пептидные и белковые связующие вещества, например авидин, стрептавидин, поликлональное или моноклональное антитело (включая антитела типа IgG и IgM) или смесь белков или фрагментов или конструкторов белков. Антитела, конструкторы антител, фрагменты антител (например, Fab-фрагменты, Fab'-фрагменты, однодоменные антитела, одноцепочечные фрагменты вариабельного домена (scFv) и т.п.), конструкторы, содержащие фрагменты антител, или их смесь являются особенно предпочтительными.

Антитела, конструкторы антител, фрагменты антител (например, Fab-фрагменты или любой фрагмент, включающий как минимум один антигенсвязывающий участок), конструкторы фрагментов (например, одноцепочечные антитела) или их смесь являются особенно предпочтительными. К подходящим фрагментам, в частности, относятся Fab, F(ab')₂, Fab' и/или scFv. Конструкторы антител могут относиться к любому антителу или фрагменту из указанных в этом описании.

Помимо различных указанных в этом описании компонентов фармацевтические препараты могут содержать любые подходящие фармацевтически совместимые компоненты. В случае радиофармацевтических средств они, как правило, должны включать как минимум один стабилизатор. Акцепторы радикалов, такие как аскорбат, р-АВА и/или цитрат, являются особенно подходящими. Альбумин сыворотки, такой как BSA, также является подходящей добавкой, в частности, для защиты белковых и/или пептидных компонентов, таких как антитела и/или их фрагменты.

В соответствии со способами применения согласно настоящему изобретению контакт между раствором фармацевтического препарата и селективным связующим агентом (например, твердофазным смоляным фильтром) может происходить в течение длительного периода времени (например, как минимум 30 мин, например, как минимум один 1 ч или как минимум 1 день). В этом варианте осуществления селективное связующее вещество может присутствовать с раствором излучающего α -частицы радионуклида во время хранения. Однако в альтернативном варианте осуществления вышеупомянутый контракт происходит быстро (например, в течение менее чем 30 мин, менее чем 10 мин или менее чем 5 мин (например, менее 1 мин или не более 30 с). В таком варианте осуществления селективное связующее вещество, как правило, предусмотрено в форме твердого материала или связывается с твердым материалом (как описывается авторами) и может быть в форме разделительной колонки, прокладки или фильтра для прохождения раствора. Такое прохождение может происходить самотеком или под действием центростремительной силы, может быть вызвано всасыванием или наиболее предпочтительно вызывается избыточным давлением, например, путем приложения давления к цилиндру шприца. В таком случае контакт происходит при проталкивании раствора через фильтр/прокладку/колонку. Хотя быстрое отделение является наиболее предпочтительным способом, в альтернативном варианте этап контакта и фильтрации может происходить в течение более длительных периодов времени (например, от 3 до 20 мин) для обеспечения максимальной радиохимической чистоты.

В альтернативном варианте осуществления вышеупомянутый контакт/фильтрация происходит в течение не более 30 с, предпочтительно не более 1 мин, с последующей стерильной фильтрацией, и, таким образом, также образует стерильный раствор, подходящий для инъекции. Соответственно, комплекты согласно изобретению необязательно и предпочтительно могут дополнительно включать фильтр (например, с размером пор 0,45 мкм или размером пор приблизительно 0,22 мкм). Во всех случаях предпочтение отдается фильтрации через фильтр с размером пор не более 0,45 мкм, предпочтительно не более 0,22 мкм. Такой фильтр может служить для удерживания селективного связующего вещества, применяемого в различных аспектах изобретения.

В различных аспектах настоящего изобретения лигандный компонент, как правило, является конъюгированным или может быть конъюгирован как минимум с одним компонентом специфичного связывания (нацеливания). Такая конъюгация может происходить через ковалентную связь (такую как углерод-углеродная, амидная, сложноэфирная, эфирная или аминная связь) или может происходить путем сильного нековалентного взаимодействия, такого как связывание пары специфично связывающихся компонентов, например биотина с авидином/стрептавидином. В наиболее предпочтительном варианте ли-

ганд конъюгируется с нацеливающим компонентом при помощи ковалентной связи, необязательно при помощи линкера (такого как C₁-C₁₀-алкильная группа, независимо замещенная на каждом конце спиртовой, кислотной, аминной, амидной, сложноэфирной или эфирной группой).

Во всех аспектах настоящего изобретения селективное связующее вещество, как правило, предусмотрено в форме твердого вещества или геля или является иммобилизованным на твердой или гелевой матрице (такой как пористая матрица или мембрана). Это обеспечивает легкость в обращении и отделении, а также облегчает контакт селективного связующего вещества с излучающим α -частицы радиоизотопным комплексом и последующее отделение. В качестве "твердого" материала может быть взят материал, сохраняющий свою форму при легком механическом давлении, включая давление, оказываемое ручным применением шприца, или давление, предусмотренное в автоматическом устройстве. Как правило, селективное связующее вещество предусмотрено в форме пористого материала или иммобилизовано на нем, таким образом, чтобы раствор мог проходить через поры материала. Подходящие матрицы для поддержки селективных связующих веществ обсуждаются в данном описании и хорошо известны специалистам в данной области. К ним относятся оксиды металлов (например, кремнезем, глинозем, диоксид титана), стекло, металл, пластмассы и т.п. Селективные связующие вещества могут быть иммобилизованы на поверхности таких матриц или могут образовывать собственные пористые матрицы. Любой из указанных материалов может образовывать основу в форме мембран, смоляных гранул, гелевых гранул, самоорганизующихся липидных структур (например, липосом), микрочастиц, наночастиц, порошков, кристаллов и полимерных структур, в зависимости от ситуации. Очевидно, что могут использоваться несколько подобных структур.

В качестве селективного связующего материала выбирают как минимум одно вещество, обладающее большей аффинностью к дочернему(им) радионуклиду(ам) в растворе по сравнению с излучающим α -частицы радионуклидным комплексом. К таким материалам, подходящим для селективных связующих веществ, относятся как минимум одна из катионообменных смол, эксклюзионные смолы, цеолиты, молекулярные сита, альгинаты, липосомы, фосфонаты, полифосфонаты, фосфолипиды, гликолипиды, липопротеины, олигосахариды, ферритин, трансферрин, фитиновая кислота и соосадители. К наиболее предпочтительным селективным связующим веществам относятся катионообменные смолы, гидроксиапатит и цеолиты.

Указанные селективные связующие вещества согласно настоящему изобретению не включают полисахарид. Указанные селективные связующие вещества также не включают альгинат. Указанное связующее вещество включает, главным образом состоит или состоит из как минимум одного неорганического материала, например, как минимум одного керамического материала. Неорганические смолы (например, неорганические ионообменные смолы), оксиды металлов (такие как кремнезем, глинозем, диоксид титана, в особенности, если они являются пористыми, например среднепористыми), гидроксиапатит (включая замещенные гидроксиапатиты), молекулярные сита и цеолиты являются наиболее предпочтительными неорганическими связующими материалами.

Детали некоторых материалов, подходящих для применения в качестве селективных связующих агентов, представлены ниже в табл. 1. Примеры, приведенные в колонке описания, представляют предпочтительный выбор материалов для применения в качестве селективных связующих веществ согласно настоящему изобретению.

| Материал | Описание |
|---|--|
| Катионообменные смолы | Нерастворимая матрица, как правило, в форме малых гранул, обычно белых или желтоватых, изготовленных из органической полимерной основы. Материал имеет высокоразвитую структуру пор, на поверхности которой находятся участки с легко захватываемыми и высвобождаемыми ионами. Захват ионов происходит лишь с одновременным высвобождением других ионов; таким образом, процесс называется ионообменным. |
| Эксклюзионные / гель-фильтрационные смолы | Эксклюзионная хроматография (SEC) представляет собой хроматографический способ, при котором молекулы в растворе разделяются по их размеру и, в некоторых случаях, по молекулярной массе. |
| Молекулярные сита | Материал, включающий мельчайшие поры точного и одинакового размера, который используют в качестве адсорбента |
| Альгинат | (= соли альгиновой кислоты) линейный сополимер с гомополимерными блоками (1-4)-связанного β -D-маннуроната (M) и остатки его C-5 эпимера α -L-гулуроната (G), соответственно, ковалентно связанные между собой в различных последовательностях или блоках |
| Липосомы (стерически стабилизированные) | искусственно полученная везикула, состоящая главным образом из липидного бислоя. Липосомы состоят из природных фосфолипидов и также могут содержать смешанные липидные цепи со свойствами поверхностно-активных веществ. Структура липосом может включать поверхностные лиганды. |
| (Поли-)фосфонат | Фосфонаты или фосфоновые кислоты являются органическими соединениями, содержащими C-PO(OH) ₂ или C-PO(OR) ₂ группы (где R = алкил, арил). Фосфоновые кислоты известны как эффективные хелатирующие агенты. Включение аминной группы в молекулу для получения -NH ₂ -C-PO(OH) ₂ повышает металлосвязывающую способность фосфоната. |
| Наночастицы | Наночастицы имеют размер от 100 до 1 нанометра. Высокое соотношение площади поверхности и объема. Липосомы |

| | |
|--|---|
| | являются примером наночастиц. |
| Фосфолипиды | Класс липидов, которые представляют главный компонент всех клеточных мембран, поскольку они способны образовывать липидные бислои. Большинство фосфолипидов содержат диглицерид, фосфатную группу и простую органическую молекулу как холин. |
| Гликолипиды | Липиды с присоединенным углеводом |
| Соосаждение | Снос с осадком веществ, которые обычно являются растворимыми в применяемых условиях. Поскольку следовой элемент является слишком разведенным (иногда составляет менее одной триллионной части) для осаждения традиционными средствами, его, как правило, осаждают совместно с носителем – веществом, имеющим подобную кристаллическую структуру, которая может включать нужный элемент. Происходит путем включения, адсорбции или окклюзии. |
| Ферритин / апоферритин, трансферрин / апотрансферрин | Ферритин представляет собой глобулярный белковый комплекс, сохраняющий железо в растворимой и нетоксичной форме. Ферритин, который не комбинируется с железом, называется апоферритином. Трансферрины являются железосвязывающими гликопротеинами плазмы крови, регулирующими уровень свободного железа в биологических жидкостях. |
| Липопротеины | Биохимическая структура, содержащая белки и липиды |
| Циклодекстрины | Циклические олигосахариды |
| Фитиновая кислота (фитат в случае солевой формы) | Фосфорное соединение с хелатирующим действием. Встречается в природе в растениях в виде нерастворимой кальциево-магниево-соли и является главным источником фосфата в рационе, хотя ее биодоступность остается спорной. Избыточное потребление фитата связано с дефицитом таких элементов, как кальций, железо и цинк. |
| Поверхностные модификации | Агенты с возможной аффинностью к 223-Ra: Фитиновая кислота Фосфолипиды Фосфонаты Носители: Липосомы Микрочастицы / наночастицы / смолы / альгинат / полимерные гранулы / циклодекстрины |

В одном аспекте селективное(ые) связующее(ие) вещество(а) предусмотрено(ы) в форме колонки или фильтра. В этом и других соответствующих вариантах осуществления средством контактирования является поток раствора сквозь или через селективное связующее вещество. В альтернативном варианте, когда селективное связующее вещество иммобилизовано на основе, поток может проходить сквозь или через эту основу. Предпочтение отдается дальнейшему прохождению сквозь мембрану для стерильной фильтрации (как описывается авторами).

Инъекционный раствор, получаемый из композиций, или фармацевтические препараты согласно изобретению являются подходящими для лечения ряда заболеваний и особенно подходящими для лечения болезней, связанных с нежелательной пролиферацией клеток, таких как гиперпластические заболевания и опухоли. Например, метастатические и неметастатические раковые заболевания, такие как мелкоклеточный и немелкоклеточный рак легких, злокачественная меланома, рак яичника, рак молочной железы, рак костей, рак толстой и прямой кишки, рак поджелудочной железы, рак мочевого пузыря, рак шейки матки, саркомы, лимфомы, лейкозы, опухоли предстательной железы и опухоли печени - все они являются подходящими мишенями. "Субъектом" лечения может быть человек или животное, в частности млекопитающие, более конкретно приматы, собаки, кошки или грызуны.

В еще одном аспекте изобретение охватывает устройство, комплект, как описывается авторами. Такие комплекты включают излучающий α -частицы радионуклид, лиганд, нацеливающий компонент и селективный связующий материал для связывания дочерних нуклидов. Как правило, при применении излучающий α -частицы радионуклид либо присутствует как излучающий α -частицы радионуклидный комплекс, либо формируется в такой комплекс путем контакта между первым раствором вышеупомяну-

того комплекта (включающего излучающий α -частицы радионуклид и любые дочерние нуклиды) и вторым раствором вышеупомянутого комплекта (включающим лиганд, конъюгированный с нацеливающим компонентом). После конъюгации излучающий α -частицы радионуклидный комплекс приводят в контакт с селективным связующим веществом. Контакт может происходить любым описанным здесь способом, но предпочтение отдается пропусканию раствора излучающего α -частицы радионуклидного комплекса через колонку, прокладку, фильтр, мембрану или пробку из селективного связующего материала.

Комплекты согласно настоящему изобретению, как правило, включают селективный связующий материал в форме фильтра или колонки. Излучающий α -частицы радионуклид раствор обычно присутствует в первом сосуде, однако и этот, и все упомянутые в данном описании сосуды могут быть в форме флакона, шприца, цилиндра шприца, картриджа, кассеты, чашки, ампулы или могут быть любым приемлемым сосудом, а также частью такого сосуда, например одной лункой в планшете или одной полостью в многореагентном картридже или кассете. Первый и второй сосуды, при их наличии, могут образовывать одно устройство (например, могут быть отдельными лунками в многокомпонентном планшете или кассете) и могут пребывать в жидкостном соединении друг с другом, которое необязательно обеспечивается путем снятия крышки, пробки или открывания крана или устранения ограничения, зажима и т.п., для обеспечения возможности смешивания растворов. Такое смешивание может быть запущено вручную или может быть результатом манипуляции в автоматическом устройстве.

Один вариант осуществления комплектов согласно изобретению предусмотрен в форме картриджей автоматического устройства, например автоматического синтезатора. Такое автоматическое устройство позволяет осуществлять способы согласно изобретению с минимальным ручным вмешательством для обеспечения соблюдения принципов cGMP. Таким образом, типичное устройство включает автоматический синтезатор, такой как GENC FastLab или TracerLab, который содержит или в который загружается комплект или устройство согласно настоящему изобретению. Автоматическое устройство, включающее комплект или устройство согласно изобретению, таким образом, составляет еще один аспект изобретения. Комплект согласно изобретению может быть предусмотрен в форме устройства, картриджа, ротора, набора реагентов и т.п. для любых из этих или подобных устройств. Автоматическое устройство может применяться для полностью автоматизированного процесса, включающего образование комплекса радионуклида (например, тория-227) с конъюгат лиганда/биомолекулы, удаление дочерних нуклидов путем фильтрации на селективном связующем веществе (например, твердофазной смоле), стерильной фильтрации и помещения в флакон для лекарственного продукта. Таким образом, могут выполняться различные способы согласно изобретению при помощи автоматического устройства, такого как устройство, включающее комплект или устройство, как описывается авторами.

В подобном варианте осуществления изобретение обеспечивает устройство для введения. Такое устройство может содержать раствор комплекса излучающего α -частицы радионуклида и дочерних нуклидов и включает селективное связующее вещество для вышеупомянутых дочерних нуклидов. При применении такое устройство для введения может параллельно удалять дочерние нуклиды путем пропускания раствора сквозь или через селективное связующее вещество, а также доставлять полученный в результате очищенный раствор в организм субъекта.

Инъекционные растворы, которые образуются и могут быть образованы из фармацевтических композиций согласно изобретению, и те, которые образуются путем использования комплектов согласно изобретению, очевидно составляют еще один аспект изобретения. Такими растворами могут быть, например, инъекционный раствор, включающий раствор как минимум одного связанного излучающего α -частицы радионуклида и как минимум один фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, причем концентрация раствора любых несвязанных ионов, образуемых в результате цепочки радиоактивного распада вышеупомянутого как минимум одного связанного излучающего α -частицы радионуклида составляет не более 10% от концентрации раствора вышеупомянутого как минимум одного связанного излучающего α -частицы радионуклида.

Далее изобретение поясняется со ссылкой на представленные ниже неограничивающие примеры и чертеж.

Чертеж показывает образование перекиси водорода путем радиолиза воды в присутствии или в отсутствие селективного связующего вещества.

Пример 1. Поглощение радия-223 на гравитационных колонках с использованием керамического гидроксипатита.

100 мг керамического гидроксипатита взвешивали и переносили на колонки. HEPES буфер (5 мМ, pH 8) использовали для уравнивания колонки (3×1 мл). Затем 1 мл HEPES буфера добавляли к колонке, которую оставляли на сутки перед загрузкой 140 кБк радия-223 в 1 мл. Сразу после этого происходило поглощение. Затем колонку промывали HEPES буфером (3×1 мл) перед определением поглощения радия-223 на материале колонки с применением HPGe-детектора (Ortec, Oak Ridge, TN).

Материал удалял 98,9% радия-223 и дочерних нуклидов (табл. 2).

Таблица 2

| Средний процент удерживания радия-223 для керамического гидроксиапатита (n=3) | |
|---|--|
| Образцы | Средний показатель удерживания радия-223 (%) |
| Керамический гидроксиапатит | 98,9 |

Пример 2. Очистка целевого конъюгата тория в фосфатном буфере на центрифужных колонках с катионообменной смолой на основе пропиласульфоновой кислоты и кремнезема.

Конъюгат трастузумаб-хелатор, приготовленный, как описывалось ранее (WO 2011/098611 A), метили торием-227 (с образованием целевого конъюгата тория, ТТС) с использованием тория-227, который хранился в течение 5 дней в HCl после очистки и поэтому содержал "вросший" радий-223 и дочерние продукты распада радия-223. Каждый образец содержал 0,21 мг ТТС, 520 кБк тория-227 и 160 кБк радия-223 в 300 мкл фосфатно-буферного раствора, pH 7,4 (Biochrome PBS Dulbecco, Cat no L1825). Образец добавляли в колонку с 15 мг катионообменной смолы на основе пропиласульфоновой кислоты и кремнезема. Колонки центрифугировали (10000 gcf, 1 мин) и элюат собирали. Распределение тория-227 (ТТС) и радия-223 между колонкой и элюатом определяли с применением HPGe-детектора (Ortec, Oak Ridge, TN).

Удерживание ТТС (представленного торием-227) и радия-223 на колонке составляло 5,5 и 99,1% соответственно (табл. 3).

Таблица 3

Удерживание целевого конъюгата тория (ТТС) и радия-223 после очистки на центрифужных колонках с катионообменной смолой

| Количество катионообменной смолы (мг) | ТТС на колонке (%) | радий-223 на колонке (%) |
|---------------------------------------|--------------------|--------------------------|
| 15 | 5,5 | 99,1 |

Пример 3. Удаление радия-223 в цитратном и фосфатном буфере на центрифужных колонках с катионообменной смолой на основе пропиласульфоновой кислоты и кремнезема 160 кБк радия-223 в 300 мкл 50 мМ цитратного буфера, pH 5,5, с 0,9% хлорида натрия или фосфатно-буферного раствора, pH 7,4 (Biochrome PBS Dulbecco, Cat no L1825) добавляли в колонку с 60 мг катионообменной смолы на основе пропиласульфоновой кислоты и кремнезема. Затем колонки центрифугировали (10 000 gcf, 1 мин) и элюат собирали. Распределение радия-223 между колонкой и элюатом определяли с применением HPGe-детектора (Ortec, Oak Ridge, TN).

Удерживание радия-223 на колонке составляло 96,5% для цитратного буфера и 99,6% для фосфатного буфера соответственно (табл. 4).

Таблица 4

Удерживание радия-223 после очистки на центрифужных колонках с катионообменной смолой

| Тип буфера | Средний показатель радия-223 на колонке (%) |
|------------|---|
| Цитратный | 96,5 |
| Фосфатный | 99,6 |

Пример 4. Дальнейшее сравнение материалов селективных связывающих веществ.

Гелевые гранулы альгината стронция и кальция, DSPG липосомы, керамический гидроксиапатит, Zeolite UOP типа 4A и две катионообменные смолы (AG50WX8 и SOURCE 30 S) выбирали в качестве материалов для исследования на поглощение радия-223. Пассивное диффузионное поглощение нуклидов испытывали на материалах в форме суспензий в композиции. Измерения производили при помощи германиевого детектора после 1-часового уравнивания при 25°C со встряхиванием. Также исследовали удаление свободных нуклидов на гравитационных колонках.

Поглощение радия-223.

Все материалы в определенной степени удаляли радий-223 и дочерние продукты путем пассивного диффузионного поглощения в диапазоне поглощения от 30,8±5,8 до 95,4±2,5% при выбранных экспериментальных условиях. Все испытываемые материалы удаляли радий-223 и дочерние продукты на гравитационной колонке, установленной на почти полное поглощение. Результаты были значительно выше (~100%) и с минимальными отклонениями (<1%) по сравнению с пассивным диффузионным поглощением радия-223 для всех испытываемых материалов, за исключением альгината гелевых гранул (см. табл. 5).

Таблица 5

| Образцы | Среднее поглощение радия-223 путем пассивной диффузии (%) | Относительное стандартное отклонение поглощения радия-223 путем пассивной диффузии (%) | Среднее поглощение радия-223 на гравитационной колонке (%) | Относительное стандартное отклонение поглощения радия-223 на гравитационной колонке (%) |
|------------------------------------|---|--|--|---|
| Липосомы | 95,4 | 2,5 | - | - |
| SOURCE 30S катионообменные смолы | 78,7 | 15,8 | 99,5 | 0,1 |
| Керамический гидроксипатит | 77,8 | 20,1 | 98,9 | 0,7 |
| Гелевые гранулы альгината кальция | 71,9 | 9,7 | 8,2 | 20,7 |
| Гелевые гранулы альгината стронция | 68,2 | 16,7 | - | - |
| Цеолит UOP типа 4A | 49,7 | 7,4 | - | - |
| Гелевые гранулы альгината кальция | 33,1 | 1,7 | - | - |
| AG50WX8 катионообменные смолы | 30,8 | 5,8 | 99,8 | 0,2 |

Были определены различные материалы, подходящие для захвата дочерних изотопов радия-223. Испытывали гелевые гранулы альгината стронция и кальция, DSPG липосомы, керамического гидроксипатита, Zeolite UOP типа 4A и две катионообменные смолы (AG50WX8 и SOURCE 30 S), и было обнаружено, что все материалы удаляют радий-223 и дочерние продукты.

DSPG липосомы показали превосходные результаты при испытании пассивного диффузионного поглощения, тогда как другие материалы были субоптимальными при использовании в форме суспензий и для поглощения путем пассивной диффузии. Однако катионообменные смолы и керамический гидроксипатит отлично проявили себя при использовании на гравитационных колонках.

Пример 5. Уменьшение радиолиза.

Образование перекиси водорода (H_2O_2) в водной фазе композиции исследовали как меру радиолиза в присутствии и в отсутствие керамического гидроксипатита, который был одним из материалов, проявляющим эффективность в связывании с радионуклидами из раствора. Радиолиз и образование свободных радикалов в водной фазе может разрушать радионуклидный комплекс и, таким образом, желательной является минимизация образования и количества присутствующей H_2O_2 . Через 3 дня концентрация H_2O_2 в образцах с керамическим гидроксипатитом была значительно ниже, чем в контрольных образцах, и поглощение ^{223}Ra и ^{227}Th из раствора было почти полным.

Способ.

Использовали однолучевой спектрофотометр UVmini-1240 (190-1100 нм) от Shimadzo (Киото, Япония) и светопропускание записывали при 730 нм для анализов концентрации H_2O_2 . Фотометрический режим применяли при измерении поглощающей способности образца при фиксированной длине волны ($n=3$). Применяемые кюветы были одноразовыми полумикрокюветами Plastibrand по 1,5 мл ($12,5 \times 12,5 \times 45$ мм), изготовленными из полистирола.

0,5 мг/мл раствора пероксидазы хрена и 2 мг/мл раствора субстрата пероксидазы (диаммониевой соли 2,2'-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты)) получали путем растворения в не содержащей металла воде. Фермент пероксидаза превращает субстрат пероксидазы из бесцветного в зеленый с H_2O_2 в качестве субстрата. Стандарты H_2O_2 при 1,765, 0,882, 0,441, 0,221 и 0,110 ммоль/л H_2O_2 получали путем разведения 30% (мас./мас.) H_2O_2 в не содержащей металла воде ($n=3$). Линейность стандартной кривой составляла $R^2=0,9995$.

Образцы состояли из 100 мг/мл керамического гидроксипатита в 250 мкл 9 мг/мл хлорида натрия, в который добавляли свежеприготовленный раствор ^{227}Th до концентрации 0,5 кБк/мкл ($n=3$).

Анализировали два типа контрольных образцов; один отрицательный контроль только с ^{227}Th и без связующего материала и один положительный контроль со связующим материалом, но без радиоактивного источника ($n=3$). Отрицательные контрольные образцы анализировали для проверки гомогенности радионуклидов в растворе хлорида натрия и количества H_2O_2 , образуемого в отсутствие связующего материала, а положительные контрольные образцы анализировали, чтобы проверить, развивается ли значительный уровень H_2O_2 без присутствия радиоактивности.

Для расчета процента поглощения радионуклидов в образцах керамического гидроксипатита и гомогенности радионуклидов в отрицательных контрольных образцах каждый образец или контроль изме-

ряли на HPGe-детекторе перед удалением 60 мкл супернатанта. Образцы, контрольные и стандартные образцы далее подготавливали для анализа H_2O_2 путем смешивания 900 мкл 9 мг/мл хлорида натрия с 50 мкл раствора субстрата пероксидазы, 25 мкл раствора пероксидазы хрена и 25 мкл соответствующего супернатанта из образца, контроля и стандарта. Образцы, контроль или стандарт тщательно смешивали и сразу после этого измеряли путем спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой области спектра. Для радиоактивных образцов и контрольных образцов оставшийся объем образца окончательно измеряли на HPGe-детекторе. Поглощение радионуклидов в керамическом гидроксиапатите или гомогенность радиоактивности в растворе хлорида натрия рассчитывали при помощи HPGe-спектров.

Концентрацию H_2O_2 в образцах, стандартных и контрольных образцах анализировали путем спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой области спектра при 730 нм в момент начала отсчета времени, через 3, 7, 10 и 14 дней.

Результаты.

Измеренный уровень H_2O_2 , образовавшейся в течение 14 дней хранения в образцах суспендированного керамического гидроксиапатита и свежеприготовленного ^{227}Th , был значительно ниже по сравнению с отрицательными контрольными образцами без керамического гидроксиапатита (см. чертеж). Положительные контрольные образцы, содержавшие керамический гидроксиапатит без радиоактивности, не демонстрировали образования H_2O_2 за пределами статистической погрешности способа (см. чертеж). Пассивное диффузионное поглощение свежеприготовленного ^{227}Th в суспензии керамического гидроксиапатита составляло $81 \pm 3\%$ за 90 мин реакции. Последующее поглощение ^{227}Th и образуемого ^{223}Ra керамическим гидроксиапатитом составляло $99 \pm 5\%$ и $102 \pm 12\%$, соответственно, при измерении после 14 дней инкубации.

Измеренное уменьшение H_2O_2 демонстрирует уменьшенное образование радикалов и окислительных агентов вследствие радиолитического содержания раствора.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ образования очищенного раствора как минимум одного излучающего α -частицы изотопа тория, предназначенного для применения в эндорадионуклидной терапии, включающий контакт раствора, включающего как минимум один излучающий α -частицы изотоп тория и как минимум один изотоп радия, как минимум с одним селективным связующим веществом для изотопа радия и последующую фильтрацию раствора как минимум одного излучающего α -частицы изотопа тория как минимум от одного селективного связующего вещества для удаления как минимум одного изотопа радия, причем селективное связующее вещество выбирают из группы, состоящей из катионообменных смол и керамического гидроксиапатита.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что излучающий α -частицы изотоп тория предусмотрен в форме комплекса с хелатором, причем хелатор конъюгирован со специфичным связующим компонентом - антителом.

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что селективное связующее вещество предусмотрено в форме твердого вещества или геля или прикрепляется к твердой или гелевой основе.

4. Способ по п.3, отличающийся тем, что твердая или гелевая основа предусмотрена в форме как минимум одного материала, выбранного из группы, состоящей из мембран, смоляных гранул, гелевых гранул, самоорганизующихся липидных структур, таких как липосомы, микрочастиц, наночастиц, порошков, кристаллов, керамики и полимерных структур или прикрепляется к ним.

5. Способ по п.1, отличающийся тем, что раствор приводят в контакт с селективным связующим веществом при помощи потока раствора, пропускаемого сквозь или через селективное связующее вещество или сквозь или через основу, на которой иммобилизовано селективное связующее вещество.

6. Способ по п.5, отличающийся тем, что контакт обеспечивают путем фильтрации, причем раствор пропускают сквозь или через селективное связующее вещество или сквозь или через основу, на которой иммобилизовано селективное связующее вещество.

7. Способ по п.6, дополнительно включающий пропускание потока вышеупомянутого раствора через стерильную фильтрующую мембрану после фильтрации.

8. Способ по любому из пп.1-7, отличающийся тем, что контакт происходит в течение периода менее чем 30 мин, менее чем 10 мин, менее чем 5 мин или не более чем 30 с.

9. Способ по любому из пп.1-4, отличающийся тем, что раствор приводят в контакт с селективным связующим веществом путем добавления селективного связующего вещества и раствора в сосуд, такой как запечатанный или частично запечатанный сосуд.

10. Способ по п.9, отличающийся тем, что контакт происходит в течение 30 мин, более чем 1 ч, более чем 1 день или более.

11. Комплект для создания фармацевтического препарата как минимум одного излучающего α -частицы комплекса изотопа тория, предназначенного для применения в эндорадионуклидной терапии, причем вышеупомянутый комплект включает:

i) раствор как минимум одного излучающего α -частицы изотопа тория и как минимум одного изо-

топа радия;

- ii) как минимум один хелатор;
- ii) специфичный связующий компонент, представляющий собой антителио;
- iii) как минимум одно селективное связующее вещество как минимум для одного изотопа радия;

причем излучающий α -частицы изотоп тория является связанным или может быть связанным хелатором, который конъюгирован или может быть конъюгирован со специфичным связующим компонентом, причем селективное связующее вещество выбирают из группы, состоящей из катионообменных смол и керамического гидроксипатита.

12. Комплект по п.11, отличающийся тем, что раствор как минимум одного излучающего α -частицы изотопа тория и как минимум одного изотопа радия находится в первом сосуде, таком как флакон, шприц и т.п., и хелатор, конъюгированный со специфичным связующим компонентом, находится во втором сосуде.

13. Комплект по п.11 или 12, отличающийся тем, что селективное связующее вещество предусмотрено в форме как минимум одного фильтра, такого как шприцевой фильтр, через который раствор излучающего α -частицы изотопа тория может пропускаться после образования комплекса хелатором и, необязательно, после конъюгации со специфичным связующим компонентом.

14. Комплект по п.11 или 12, отличающийся тем, что селективное связующее вещество предусмотрено в форме как минимум одной твердой или гелевой основы или прикрепляется к ней.

15. Комплект по п.14, отличающийся тем, что селективное связующее вещество находится в первом сосуде.

16. Комплект по любому из пп.11-15, отличающийся тем, что селективное связующее вещество приспособлено для отделения от раствора в процессе введения указанного раствора.

17. Комплект по любому из пп.11-16, отличающийся тем, что дополнительно включает фильтр и/или устройство для введения раствора.

18. Комплект по любому из пп.11-17, отличающийся тем, что включает фильтр с размером пор не более 0,22 мкм.

19. Комплект по любому из пп.11-18, отличающийся тем, что включает устройство для введения, включающее раствор как минимум одного связанного излучающего α -частицы изотопа тория и как минимум одного изотопа радия, причем комплект также включает селективное связующее вещество для изотопа радия в форме фильтра.

20. Устройство в форме одноразового шприца и шприцевого фильтра для введения раствора как минимум одного излучающего α -частицы комплекса изотопа тория и как минимум одного изотопа радия, причем устройство содержит фильтр как минимум с одним селективным связующим веществом, предназначенным для изотопа радия, и селективное связующее вещество выбрано из группы, состоящей из катионообменных смол и керамического гидроксипатита.

21. Способ образования инъекционного раствора комплекса изотопа тория, включающий этапы:

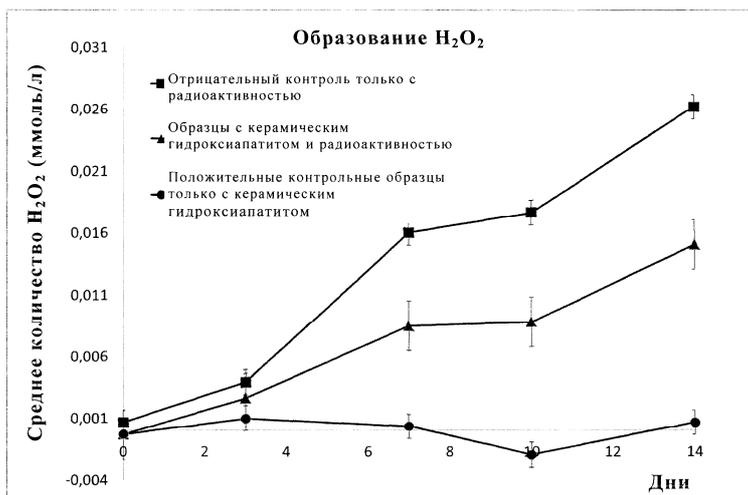
а) комбинирование первого раствора, включающего растворенную соль излучающего α -частицы изотопа тория и как минимум один изотоп радия, со вторым раствором, включающим как минимум один хелатор, конъюгированный как минимум с одним антителио;

б) инкубация комбинированных растворов при подходящей температуре от 0 до 50°C в течение периода, обеспечивающего возможность образования комплекса между хелатором и излучающим α -частицы изотопом тория с образованием, таким образом, раствора как минимум одного связанного излучающего α -частицы изотопа тория;

в) контактирование раствора как минимум одного связанного излучающего α -частицы изотопа тория как минимум с одним селективным связующим веществом как минимум для одного из изотопов радия, причем селективное связующее вещество выбирают из группы, состоящей из катионообменных смол и керамического гидроксипатита;

д) отделение раствора как минимум одного излучающего α -частицы комплекса изотопа тория как минимум от одного селективного связующего вещества.

22. Способ по п.21, отличающийся тем, что этапы в) и д) проводят согласно способу образования очищенного раствора по любому из пп.1-10.



Образование перекиси водорода путем радиолиза воды в присутствии или в отсутствие селективного связывающего вещества



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2