

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 486 845**

51 Int. Cl.:

**A61K 51/04** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.04.2004 E 04727587 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.05.2014 EP 1617876**

54 Título: **Torio-227 para ser usado en radioterapia de enfermedad de partes blandas**

30 Prioridad:

**15.04.2003 GB 0308731**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**19.08.2014**

73 Titular/es:

**ALGETA ASA (100.0%)  
P.O.Box 54, Kjelsås  
0411 Oslo, NO**

72 Inventor/es:

**LARSEN, ROY y  
BRULAND, OYVIND**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 486 845 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Torio-227 para ser usado en radioterapia de enfermedad de partes blandas

**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un procedimiento de radioterapia, más en particular a un procedimiento que implica el uso de torio-227 para el tratamiento de enfermedad de partes blandas.

**Antecedentes de la invención**

La muerte de determinadas células puede ser esencial para el tratamiento satisfactorio de una serie de enfermedades en los sujetos mamíferos. Los ejemplos típicos de esto están en el tratamiento de enfermedades malignas tales como sarcomas y carcinomas. Sin embargo, la eliminación selectiva de determinados tipos de células también puede desempeñar una función importante en el tratamiento de otras enfermedades, en especial las enfermedades hiperplásicas y neoplásicas.

Los procedimientos más habituales de tratamiento selectivo son en la actualidad la intervención quirúrgica, la quimioterapia y la radioterapia externa. El tratamiento selectivo con radionúclidos es, no obstante, un área prometedora y en desarrollo con el riesgo potencial de administrar una radiación muy citotóxica a tipos celulares que no deberían recibirla. Las formas más habituales de sustancias radiofarmacéuticas que en la actualidad están autorizadas para el uso en los humanos emplean radionúclidos que emiten  $\beta$  y/o  $\gamma$ . Sin embargo, ha habido cierto interés en el uso de radionúclidos de emisión  $\alpha$  para los tratamientos debido a su capacidad para destruir células con más especificidad.

El margen de radiación de los emisores  $\alpha$  típicos en los entornos fisiológicos es de generalmente menos de 100  $\mu\text{m}$ , el equivalente a tan solo unos pocos diámetros de célula. Esto hace que estas fuentes sean muy apropiadas para el tratamiento de los tumores, incluidas las micrometástasis, porque poca energía radiada traspasará más allá de las células diana y, por lo tanto, se podría disminuir al mínimo el daño al tejido sano circundante (véase Feinendegen et al., *Radiat. Res.* 148: 195-201 (1997)). En cambio, una partícula  $\beta$  tiene una penetración de 1 mm o más en el agua (véase Wilbur, *Antibody Immunocon Radiopharm* 4: 85-96 (1991)).

La energía de radiación de las partículas  $\alpha$  es alta en comparación con las partículas  $\beta$ , los rayos  $\gamma$  y los rayos X, que típicamente están entre 5 y 8 MeV, o 5 a 10 veces la de una partícula  $\beta$  y 20 o más veces la energía de un rayo  $\gamma$ . Así pues, la llegada de una gran cantidad de energía a muy corta distancia da a la radiación  $\alpha$  una transferencia energética lineal (LET, por su nombre en inglés) excepcionalmente alta, una eficacia biológica relativa (RBE, por su nombre en inglés) alta y un índice de realce del oxígeno (OER, por su nombre en inglés) bajo, en comparación con la radiación  $\beta$  y la  $\gamma$  (véase Hall, *Radiobiology for the radiologist*, quinta edición, Lippincott Williams & Wilkins, Filadelfia PA, EE.UU, 2000). Esto explica la citotoxicidad excepcional de los radionúclidos de emisión  $\alpha$  y también impone unas rigurosas exigencias sobre el nivel de control y el estudio de la distribución de los radionúclidos de emisión  $\alpha$  que se necesitan para evitar los efectos secundarios inaceptables.

Muy pocos radionúclidos de emisión  $\alpha$  se consideran útiles en la actualidad para el tratamiento con moléculas de acción selectiva (véase, por ejemplo, Feinendegen, más arriba y Wilbur, más arriba). Para establecer la adecuación de un núclido concreto, los candidatos se deben evaluar cuidadosamente en función de sus características físicas, propiedades químicas y también las propiedades del producto o productos de desintegración (a saber, sus núclidos derivados). Es frecuente el caso de que los núclidos derivados formados tras la desintegración de los radionúclidos de emisión  $\alpha$  potencialmente terapéuticos sean también emisores  $\alpha$  y/o den lugar a otros isótopos de emisión  $\alpha$  cuando, a su vez, se desintegran. Por lo tanto, es esencial considerar las propiedades de los posibles núclidos derivados cuando se valora la viabilidad terapéutica de un emisor  $\alpha$ .

La tabla 1 que viene a continuación muestra las propiedades de desintegración física de los emisores  $\alpha$  que hasta ahora se había propuesto ampliamente en la bibliografía que tenían posiblemente eficacia terapéutica.

Tabla 1

Núclido candidato	$T_{1/2}^*$	Clínicamente comprobado para
$^{225}\text{Ac}$	10,0 días	Sin comprobar
$^{211}\text{At}$	7,2 horas	Glioblastoma
$^{213}\text{Bi}$	46 minutos	Leucemia

Núcleo candidato	T <sub>1/2</sub> *	Clínicamente comprobado para
<sup>223</sup> Ra	11,4 días	Metástasis esqueléticas
<sup>224</sup> Ra	3,66 días	Espondilitis anquilosante

\*Semivida

Hasta ahora, la atención se ha centrado principalmente en el <sup>211</sup>At y en el <sup>213</sup>Bi, y estos dos núclidos se han explorado en ensayos de inmunoterapia clínica.

5 Varios de los radionúclidos que se ha propuesto se ha visto que tienen una vida breve, a saber, tiene una semivida de menos de 12 horas. Tal brevedad de la semivida hace difícil producir y distribuir sustancias farmacéuticas radiactivas que contengan estos radionúclidos de una manera comercial. La administración de un núcleo de vida breve también incrementa la proporción de la dosis de radiación que se emitirá en el cuerpo antes de que se alcance el sitio de destino.

10 Los dos núclidos de vida más larga, el <sup>223</sup>Ra y el <sup>225</sup>Ac, tienen una semivida más favorable en este sentido. Estos dos radionúclidos generan derivados de vida breve (los productos original y derivado emiten el conjunto un total de cuatro α), lo que podría crear una fuerte cascada α si la desintegración del producto original y del derivado tiene lugar en el mismo sitio. Sin embargo, si los núclidos derivados no quedan contenidos en el área de destino, entonces estos núclidos tienen la posibilidad de liberar grandes cantidades de radiación dañina en los tejidos sanos. También está el problema fundamental e importante de que el retroceso del núcleo derivado tras la desintegración α es muy  
15 energético (la liberación de un núcleo de helio a aproximadamente el 2 % de la velocidad de la luz imparte al núcleo derivado restante una cantidad de movimiento muy considerable).

La energía de retroceso de la emisión α en muchos casos provocará la liberación de los núclidos derivados desde la posición de desintegración del original. Esta energía de retroceso es suficiente para descomponer muchos núcleos derivados del entorno químico que podrían haber sujetado al original, p. ej., cuando el original estaba formando un  
20 complejo con un ligando tal como un quelante. Esto se producirá incluso cuando el derivado sea químicamente compatible, esto es, que puede formar un complejo con el mismo ligando. De igual forma, cuando el núcleo derivado es un gas, en particular un gas noble como el radón, o es químicamente incompatible con el ligando, este efecto de liberación será incluso más grande. Cuando los núclidos derivados tienen una semivida de más de unos pocos segundos, pueden llegar por difusión al torrente circulatorio sin que se lo impida el complejante que sujeta al original.  
25 Estos derivados radioactivos libres pueden provocar a continuación una toxicidad sistémica indeseada.

Recientemente, el actinio 225 ha despertado cierto interés; sin embargo, la investigación sobre este núcleo ha estado dificultada por la poca disponibilidad de una fuente del material. Se ha demostrado que el <sup>225</sup>Ac se puede  
30 conjugar a anticuerpos monoclonales que lo enviarán selectivamente a los tejidos que contienen el antígeno. En particular, la patente internacional WO 01/66155 describe el uso de complejos de <sup>225</sup>Ac emisor α-quelante-anticuerpo para el tratamiento del cáncer. Sin embargo, hasta ahora los estudios indican que los anticuerpos marcados con <sup>225</sup>Ac son muy tóxicos en los experimentos con animales.

Otros núclidos que se han mencionado que serían candidatos para el tratamiento médico con emisores α incluyen el <sup>224</sup>Ra y el <sup>226</sup>Ra (T<sub>1/2</sub> = 1600 años) que se ha utilizado con profusión a principios del siglo pasado, pero más tarde se  
35 abandonó debido a los efectos negativos a largo plazo, entre ellos el cáncer de huesos. Estos dos núclidos de radio producen derivados de radón que son gaseosos y que se difunden con rapidez desde el sitio ocupado por el núcleo original. Hay también una ausencia general de conectores adecuados para la conjugación del radio a una molécula de direccionamiento. Adicionalmente, la semivida extremadamente prolongada del <sup>226</sup>Ra es muy problemática desde el punto de vista de la seguridad de la radiación y del riesgo de contaminación.

Así pues, la mayoría de los radionúclidos de emisión α se consideran por lo general inadecuados debido a su  
40 semivida inapropiada o debido a que sus productos de desintegración se consideran incompatibles con el uso médico, p. ej., porque los núclidos derivados son osteótrofos (véase Mausner, *Med Phys* 20, 503-509 (1993)). Así pues, por ejemplo, el radio, que es un análogo del calcio, es un osteótropo particularmente fuerte y, si se libera del <sup>227</sup>Th *in vivo*, se sabe que el <sup>223</sup>Ra, el núcleo derivado (véase Müller, *Int. Radiat. Biol.* 20: 233-243 (1971)), se acumula de forma indeseable en los huesos, donde cabe esperar una mielotoxicidad significativa.

45 Según Feinendegen et al. (*Alpha-emitters for medical therapy*, segundo taller bianual, Toronto, junio de 1998, Departamento de Energía de los EE.UU. n.º DOE/NE-0116), hay dos radionúclidos candidatos en terapéutica que se desintegran mediante al menos tres progenies de emisión α. Son el <sup>225</sup>Ac y el <sup>223</sup>Ra. Los estudios terapéuticos en modelos animales con radioinmunoconjugados del actinio 225 (T<sub>1/2</sub> = 10,0 días) han indicado que las dosis  
50 inyectadas de 6,3 kBq (aproximadamente 250 kBq/kg, suponiendo que el peso medio de los animales es de 25 g) podrían mejorar claramente la supervivencia de los ratones que llevan xenoinjertos de linfoma diseminados. La serie del actinio 225 libera cuatro partículas α, en donde los primeros tres emisores α de la serie tienen semividas de

menos de 5 minutos, mientras que el último emisor  $\alpha$  de la serie, el bismuto 213, tiene una semivida de 46 minutos.

Los datos *in vivo* que demuestran los efectos antitumorales del  $^{223}\text{Ra}$  aún no se han presentado en la bibliografía. La ventaja de este núclido son los derivados de vida breve, a saber, los derivados del  $^{219}\text{Rn}$  ( $T_{1/2} = 3,96$  s) liberan dos  $\alpha$  más en cuestión de segundos, mientras que el último emisor  $\alpha$  de la serie, el  $^{211}\text{Bi}$ , además de estar precedido por el  $^{211}\text{Pb}$  ( $T_{1/2} = 36,1$  minutos), tiene una semivida de 2,17 min y puede alejarse del  $^{223}\text{Ra}$  por difusión. Sin embargo, tres de los cuatro emisores  $\alpha$  se desintegrarán cerca del núclido original con  $^{223}\text{Ra}$  así como  $^{225}\text{Ac}$ . Esto es muy distinto de lo que le ocurre al  $^{227}\text{Th}$ , cuya progenie emite cuatro partículas  $\alpha$ , todas precedidas por el  $^{223}\text{Ra}$  derivado con una semivida de 11,4 días. Esta larga semivida del  $^{223}\text{Ra}$  derivado es probable que provoque una translocalización casi completa de las progenies en comparación con el núclido  $^{227}\text{Th}$  original y así pues plantee dificultades considerables para controlar el sitio de estas cuatro emisiones  $\alpha$  y, como resultado, es muy probable que aparezcan efectos secundarios indeseados.

Sin embargo, recientemente se ha propuesto que el torio-227 ( $T_{1/2} = 18,7$  días) (véase las patentes internacionales WO 01/60417 y WO 02/05859) es un radionúclido terapéutico siempre y cuando se utilice un sistema portador que permita que los núclidos derivados queden retenidos en un entorno cerrado. En un caso, el radionúclido se dispone dentro de un liposoma y el tamaño considerable del liposoma (en comparación con la distancia de retroceso) ayuda a mantener los núclidos derivados dentro del liposoma. En el segundo caso se utilizan complejos osteótrofos del radionúclido que se incorporan en la matriz del hueso y, por lo tanto, limitan la liberación de los núclidos derivados. Son procedimientos muy ventajosos en potencia, pero la administración de los liposomas no es deseable en algunas circunstancias y hay muchas enfermedades de partes blandas en las que los radionúclidos no pueden estar rodeados por una matriz mineralizada que retenga los isótopos derivados. Conjugados de receptores con un anticuerpo o folato y un radionúclido tal como  $^{227}\text{Th}$  se describen en la patente de los EE.UU. US 2001/008625 y se consideran adecuados para ser usados en el tratamiento de formas de cáncer de partes blandas.

En ausencia de tales medios específicos que retengan los núclidos de radio derivados del torio 227, la información disponible públicamente referente a la toxicidad del radio deja claro que no es posible utilizar el torio-227 como agente terapéutico ya que las dosis requeridas para conseguir un efecto terapéutico de la desintegración del torio-227 darían lugar a una dosis muy tóxica y posiblemente mortal de radiación por la desintegración del radio derivado, esto es, no hay una ventana terapéutica.

Por lo tanto, sigue existiendo una considerable necesidad de desarrollar más tratamientos con radionúclidos para las partes blandas que permitan el tratamiento curativo de la enfermedad maligna y no maligna con emisores  $\alpha$  sin que provoquen efectos secundarios inaceptables, en particular mielotoxicidad.

Los presentes inventores han hallado inesperadamente que existe una ventana para el tratamiento terapéutico en la que una cantidad terapéuticamente eficaz de un radionúclido de torio-227 dirigido a un sitio concreto se puede administrar a un sujeto (típicamente un mamífero) sin generar una cantidad de radio-223 suficiente para causar una mielotoxicidad inaceptable.

### 35 **Compendio de la invención**

Visto desde un aspecto, la presente invención da por lo tanto a conocer el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un complejo de torio-227 y complejante que se dirige a las partes blandas en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de partes blandas en un sujeto mamífero, en donde dicha cantidad eficaz es de tal forma que la desintegración nuclear del torio-227 administrado genera *in vivo* una cantidad de radio-223 aceptablemente no mielotóxica, y en donde el torio-227 está conjugado a un resto de direccionamiento con bioafinidad, excluidos los osteótrofos, liposomas y anticuerpos o fragmentos de anticuerpo conjugados a folato, y en donde la cantidad terapéuticamente eficaz de torio-227 es de al menos 25 kBq/kg.

Visto desde otro aspecto, la invención da a conocer una composición farmacéutica que comprende un complejo de torio-227 y complejante que se dirige a las partes blandas, junto con al menos un portador o excipiente farmacéutico.

45 Visto desde otro aspecto más, la invención también da a conocer un complejo de torio-227 y complejante que se dirige a las partes blandas según se define en las reivindicaciones.

Por lo tanto, para distinguir entre los complejos de torio no radiactivo, se debe saber que los complejos de torio y las composiciones del mismo reivindicados en la presente memoria incluyen torio-227 a una abundancia mayor que la abundancia relativa natural, p. ej., al menos un 20% mayor. Esto no afecta a la definición del procedimiento de la invención, en donde se necesita explícitamente una cantidad terapéuticamente eficaz de torio 227.

Visto desde aún otro aspecto más, la invención también da a conocer un kit para ser usado en un procedimiento de acuerdo con la invención, en donde dicho kit comprende una solución de un complejo de torio-227 y complejante que se dirige a las partes blandas junto con las instrucciones para el uso de dicha solución en un procedimiento de acuerdo con la invención.

## Breve descripción de los dibujos acompañantes

La figura 1 es un gráfico que muestra la caída de la radioactividad con el tiempo debido a la desintegración del torio-227 y el incremento de radioactividad resultante con el tiempo debido a la desintegración del radio-223 después de la administración de un complejo de torio-227 de acuerdo con la invención.

## 5 Descripción detallada de la invención

Mediante «que se dirige a las partes blandas» se quiere decir en la presente memoria que la sustancia en cuestión, cuando está en forma de un complejo de torio, sirve para llevar el torio al sitio de partes blandas en el cual se desea que ocurra la desintegración radiactiva. Esto puede ser en virtud de un componente del complejo que se fija a los marcadores de la superficie celular (p. ej., receptores) presentes en las células afectadas por la enfermedad o las células cercanas a las células afectadas por la enfermedad (p. ej., las proteínas que se expresan con más fuerza en la superficie de las células enfermas que en la superficie de las células sanas, o que se expresan con más fuerza en la superficie de las células durante periodos de crecimiento o replicación que durante las fases inactivas) o debido a un componente que se fija a otro agente de fijación a las partes blandas (en cuyo caso el otro agente se administraría primero para que haga de «explorador» para el complejo de torio). Otra posibilidad sería que se dirija selectivamente a un antígeno que está asociado a las células destinatarias, pero que no está directamente unido a éstas. Tales antígenos típicamente estarán en la matriz entre las células destinatarias y, por lo tanto, estarán rodeados por el tejido enfermo. Ejemplos de esto son los antígenos de la matriz tal como la tenascina, que está asociado a los tumores cerebrales, pero que se expresa en la matriz que hay entre las células. Sobre tales antígenos de la matriz se puede actuar directamente o con un agente de fijación preliminar, tal como se explica más arriba.

La terminología «partes blandas» se utiliza en la presente memoria para indicar tejidos que no tienen una matriz mineralizada «dura». En particular, las partes blandas tal y como se utilizan en la presente memoria pueden ser cualquier tejido que no sea el tejido óseo. Como corresponde, «enfermedad de partes blandas» tal y como se utiliza en la presente memoria indica una enfermedad que se produce en una «parte blanda» tal y como se utiliza en la presente memoria. La invención es particularmente adecuada para el tratamiento de cánceres y de «enfermedad de partes blandas», con lo que abarca carcinomas, sarcomas, mielomas, leucemias, linfomas y cánceres de tipo mixto que se producen en cualquier tejido «blando» (a saber, sin mineralizar), así como otras enfermedades no cancerosas de tal tejido. «Enfermedad de partes blandas» cancerosa incluye tumores sólidos que se producen en las partes blandas, así como tumores metastásicos y micrometastásicos. De hecho, la enfermedad de partes blandas puede comprender un tumor sólido primario de partes blandas y al menos un tumor metastásico de partes blandas en el mismo paciente. Otra posibilidad sería que la «enfermedad de partes blandas» consistiera en solo un tumor sólido o solo metástasis, en donde el tumor primario es una enfermedad ósea.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, la terminología «aceptablemente no mielotóxico» se utiliza para indicar que, lo más importante, la cantidad de radio generada no suele ser suficiente para ser directamente letal al sujeto. Sin embargo, el experto en la técnica tendrá claro que la cantidad de médula ósea dañada (y la probabilidad de una reacción letal) que sea un efecto secundario aceptable de tal tratamiento variará significativamente con el tipo de enfermedad a tratar, los objetivos de la pauta terapéutica y el pronóstico para el sujeto. Aunque los sujetos preferidos para la presente invención son los humanos, otros mamíferos, en particular los perros, se beneficiarán del uso de la invención, y el nivel de daño aceptable en la médula ósea puede también depender de la especie del sujeto. El nivel de daño aceptable en la médula ósea solerá ser más grande en el tratamiento de la enfermedad maligna que para la enfermedad no maligna. Una medida bien conocida del nivel de mielotoxicidad es el número de neutrófilos y, en la presente invención, una cantidad aceptablemente no mielotóxica de  $^{223}\text{Ra}$  típicamente será una cantidad controlada de tal manera que la fracción de neutrófilos en su punto más bajo (nadir) es de no menos del 10 % del número que había antes del tratamiento. Preferiblemente, la cantidad aceptablemente no mielotóxica de  $^{223}\text{Ra}$  será una cantidad de tal forma que la fracción de neutrófilos sea de al menos el 20 % en el nadir y más preferiblemente de al menos el 30 %. Lo más preferido es una fracción de neutrófilos en nadir de al menos el 40 %.

Además, se pueden usar compuestos que contienen  $^{227}\text{Th}$  en los tratamientos con pautas de dosis altas en las que la mielotoxicidad del  $^{223}\text{Ra}$  generado sería normalmente intolerable cuando se incluye la complementación con células madre o un procedimiento de recuperación comparable. En tales casos, el número de neutrófilos se puede reducir por debajo del 10 % en el nadir y excepcionalmente se reducirá un 5 % o si es necesario por debajo del 5 %, siempre y cuando se tomen las precauciones adecuadas y se complemente posteriormente con células madre. Tales procedimientos se conocen bien en la técnica.

El torio-227 es relativamente fácil de producir y se puede preparar indirectamente del  $^{226}\text{Ra}$  irradiado con neutrones, que contendrán el núclido original de  $^{227}\text{Th}$ , a saber, el  $^{227}\text{Ac}$  ( $T_{1/2} = 22$  años). El actinio 227 se puede separar muy fácilmente del  $^{226}\text{Ra}$  deseado y se puede utilizar de generador del  $^{227}\text{Th}$ . Este proceso se puede llevar a escala industrial si fuera necesario y, de esta forma, se puede evitar el problema del suministro que se ha visto en la mayoría de los emisores  $\alpha$  considerados candidatos para la radioterapia selectiva molecular.

El torio-227 se desintegra a través del radio 223. En este caso, el derivado principal tiene una semivida de 11,4 días.

A partir de una fuente de  $^{227}\text{Th}$  pura sólo se producen cantidades moderadas de radio durante los primeros días. Sin embargo, la toxicidad potencial del  $^{223}\text{Ra}$  es más alta que la del  $^{227}\text{Th}$ , ya que a la emisión de una partícula  $\alpha$  desde el  $^{223}\text{Ra}$  le siguen en cuestión de minutos otras tres partículas  $\alpha$  desde los derivados de vida breve (véase la tabla 2 a continuación que establece la serie de desintegración para el torio 227).

5 Tabla 2

Núclido	Modo de desintegración	Energía media de las partículas (MeV)	Semivida
$^{227}\text{Th}$	$\alpha$	6,02	18,72 días
$^{223}\text{Ra}$	$\alpha$	5,78	11,43 días
$^{219}\text{Rn}$	$\alpha$	6,88	3,96 segundos
$^{215}\text{Po}$	$\alpha$	7,53	1,78 ms
$^{211}\text{Pb}$	$\beta$	0,45	36,1 minutos
$^{211}\text{Bi}$	$\alpha$	6,67	2,17 minutos
$^{207}\text{Tl}$	$\beta$	1,42	4,77 minutos
$^{207}\text{Pb}$			Estable

En parte porque genera productos de desintegración potencialmente perjudiciales, el torio-227 ( $T_{1/2} = 18,7$  días) no se ha considerado ampliamente para el tratamiento con partículas  $\alpha$ .

10 Los presentes inventores han establecido por primera vez que el torio-227 se puede administrar en cantidades suficientes que proporcionen los efectos terapéuticos deseables sin generar demasiado radio-223 en lo que respecta a que provoque una supresión intolerable de la médula ósea.

Si se supone que el efecto destructor de las células tumorales se deberá principalmente al torio-227 y no a sus derivados, la dosis terapéutica probable de este isótopo se puede establecer por comparación con otros emisores  $\alpha$ . Por ejemplo, para el astato 211, las dosis terapéuticas para los animales han estado típicamente entre 2 y 10 MBq/kg. Al corregirla por la semivida y la energía, la dosis correspondiente para el torio-227 sería al menos de 36-200 kBq/kg de masa corporal. Esto establecería un límite inferior para la cantidad de  $^{227}\text{Th}$  que se podría administrar de forma útil con la esperanza de tener un efecto terapéutico. Este cálculo supone que se retienen cantidades similares de astato y de torio. Sin embargo, está claro que la semivida de 18,7 días del torio es muy probable que dé lugar a una eliminación mayor de este isótopo antes de su desintegración. Por lo tanto, esta dosis calculada normalmente debe considerarse que es la cantidad eficaz mínima. La dosis terapéutica expresada en términos de  $^{227}\text{Th}$  totalmente retenido (a saber, el  $^{227}\text{Th}$  que no se elimina del cuerpo) será típicamente de al menos 25 kBq/kg, preferiblemente al menos de 36 kBq/kg y más preferiblemente de al menos 75 kBq/kg, por ejemplo, 100 kBq/kg o más. Se esperaría que cantidades más grandes de torio tengan un efecto terapéutico mayor, pero no se pueden administrar si se producen efectos secundarios intolerables. De igual forma, si el torio se administra en una forma que tiene una semivida biológica breve (a saber, la semivida antes de la eliminación del cuerpo que todavía lleva el torio), entonces se necesitará una cantidad mayor de radioisótopo para obtener un efecto terapéutico porque la mayor parte del torio se eliminará antes de que se desintegre. Sin embargo, habrá una disminución correspondiente de la cantidad de radio-223 generada. Las cantidades anteriores de torio-227 a administrar cuando el isótopo queda totalmente retenido se pueden relacionar fácilmente con dosis equivalentes con semividas biológicas más breves. Tales cálculos se dan en los ejemplos 1 y 2 que vienen a continuación.

A modo de ejemplo, el cálculo de la cantidad de  $^{227}\text{Th}$  que es equivalente a una dosis totalmente retenida concreta se puede calcular suponiendo una retención insignificante en el sitio de destino. En este caso:

$$D_{\text{ret}} = \frac{D_{\text{add}}}{T_{\text{Th}}((T_{\text{Bio}})^{-1} + (T_{\text{Th}})^{-1})}$$

en donde

$D_{add}$  es la dosis administrada;

$D_{ret}$  es la dosis totalmente retenida equivalente;

$T_{Th}$  es la semivida física del  $^{227}\text{Th}$  (18,7 días); y

5  $T_{Bio}$  es la semivida biológica del complejo de torio administrado.

Así pues, se puede estimar con facilidad la dosis eficaz mínima de un complejo de torio. Además, la semivida biológica se puede determinar sin tener que utilizar una forma radiactiva del complejo de torio.

Si un compuesto radiomarcado libera núclidos derivados, es importante saber el destino, si es aplicable, de estos núclidos derivados radiactivos. Con el  $^{227}\text{Th}$ , el principal producto derivado es el  $^{223}\text{Ra}$ , que está en evaluación  
10 clínica debido a sus propiedades osteótropas. El radio-223 se elimina de la sangre con mucha rapidez y se concentra en los huesos o bien se excreta por las vías intestinal y renal (véase Larsen, *J. Nucl. Med.* 43 (5, Suplemento): 160P (2002)). El radio-223 liberado *in vivo* del  $^{227}\text{Th}$  puede, por lo tanto, no afectar mucho a las partes blandas sanas. En el estudio de Müller en *Int. J. Radiat. Biol.* 20: 233-243 (1971) sobre la distribución del  $^{227}\text{Th}$  como la sal de citrato disuelta, se encontró que el  $^{223}\text{Ra}$  generado del  $^{227}\text{Th}$  en las partes blandas se redistribuía con  
15 facilidad al hueso o se excretaba. La toxicidad conocida del  $^{223}\text{Ra}$ , en particular sobre la médula ósea, probablemente se debe al factor limitante cuando se utiliza el  $^{227}\text{Th}$  *in vivo*.

Los presentes inventores han establecido que los complejos del  $^{227}\text{Th}$  (p. ej., complejos con quelatos) liberan el  $^{223}\text{Ra}$  tras la desintegración del  $^{227}\text{Th}$  (véase el ejemplo 6 que viene a continuación). Esto puede ser el resultado de un retroceso nuclear, o una quelación incompatible, o una combinación de factores. Esto está en contra de lo que  
20 está aceptado en la técnica como una propiedad deseable para un emisor  $\alpha$  (véase, por ejemplo, Feinendegen et al., 1998, más arriba) por el hecho de que una característica de seguridad importante es que el compuesto emisor  $\alpha$  debe retener cualquier núclido derivado radiactivo en el quelato original.

De acuerdo con los datos disponibles en la técnica en la actualidad, la dosis máxima tolerable de radio-223 se puede esperar que esté en el intervalo de 39 a 113 kBq/kg (véase el ejemplo 7 que viene a continuación). Se acepta en la  
25 técnica que se debe adoptar una estimación realista y conservadora de los efectos secundarios tóxicos que tienen los isótopos derivados (véase por ejemplo Feinendegen (1998) más arriba) y así se podría considerar aceptable una máximo de 39 kBq/kg de radio 223. Cualquier dosis más grande que ésta podría hacer que el radio se vuelva letal para el sujeto, lo cual, por supuesto, se tiene que considerar inaceptable.

La generación del  $^{223}\text{Ra}$  *in vivo* variará con el tiempo de residencia del  $^{227}\text{Th}$ . En el caso de una retención del 100 %, 30 1 kBq de  $^{227}\text{Th}$  generaría un número de átomos de  $^{223}\text{Ra}$  equivalente a una dosis inyectada de 1,6 kBq de  $^{223}\text{Ra}$ , completamente retenido. Así pues, una dosis máxima tolerable de 39 kBq/kg de radio-223 es equivalente a una administración de 24,4 kBq/kg de  $^{227}\text{Th}$  completamente retenido. Esto está considerablemente por debajo de la dosis terapéutica mínima esperada de 36 kBq/kg, que también se estimó sobre la base de una retención completa (véase la explicación más arriba). Si la retención del torio disminuye, se generará menos radio por unidad de torio  
35 administrado, pero la eficacia del torio se reducirá correspondientemente, con lo que se deberá incrementar la dosis. Así pues, la expectativa a partir de los datos disponibles en la técnica era que la cantidad mínima de  $^{227}\text{Th}$  suficiente para proporcionar algún beneficio terapéutico sería más grande que la cantidad que se esperaba que ocasionara una mielotoxicidad letal. Por lo tanto, no se habría visto que existiera ninguna ventana terapéutica para la administración del  $^{227}\text{Th}$ .

40 Resulta significativo que los presentes inventores hayan establecido ahora que, de hecho, a los sujetos humanos se les pueda administrar una dosis de al menos 200 kBq/kg de  $^{223}\text{Ra}$  y la toleren. Estos datos se presentan a continuación en el ejemplo 8. Por lo tanto, ahora se puede observar que, bastante inesperadamente, existe una ventana terapéutica en la que una cantidad terapéuticamente eficaz de  $^{227}\text{Th}$  (tal como más de 36 kBq/kg) se puede administrar a un sujeto mamífero sin la expectativa de que tal sujeto padezca un riesgo inaceptable de  
45 mielotoxicidad grave o incluso letal.

La cantidad de  $^{223}\text{Ra}$  generada por una sustancia farmacéutica con  $^{227}\text{Th}$  dependerá de la semivida biológica del compuesto radiomarcado. La situación ideal sería utilizar un complejo que los tumores capten con rapidez, lo que incluye la entrada en la célula tumoral, la firme retención tumoral y una semivida biológica breve en los tejidos  
50 normales. Sin embargo, los complejos con una semivida biológica por debajo de la ideal pueden ser útiles siempre y cuando la dosis del  $^{223}\text{Ra}$  se mantenga dentro del nivel tolerable. La cantidad de radio-223 generada *in vivo* será proporcional a la cantidad de torio administrado y a la duración de la retención biológica del complejo de torio. La cantidad de radio-223 generada en cualquier caso concreto la puede calcular con facilidad el experto en la técnica, y en los ejemplos 1 y 2 que vienen a continuación se ofrecen cálculos de ejemplo. La cantidad administrable máxima de  $^{227}\text{Th}$  se determinará mediante esta cantidad de radio generada *in vivo* y debe ser más pequeña que la cantidad  
55 que producirá un nivel intolerable de efectos secundarios, en particular mielotoxicidad. Esta cantidad será por lo

general de menos de 300 kBq/kg, particularmente de menos de 200 kBq/kg y más preferiblemente de menos de 170 kBq/kg (p. ej., menos de 130 kBq/kg).

Así pues, en el procedimiento de la invención es deseable administrar el complejo de torio a una dosis de torio-227 de 18 a 400 kBq/kg de masa corporal, preferiblemente de 36 a 200 kBq/kg (tal como de 50 a 200 kBq/kg), más preferiblemente de 75 a 170 kBq/kg, en especial de 100 a 130 kBq/kg. La dosis de torio, el complejante y la vía de administración serían además deseablemente tales que consigan que la dosis de radio-223 generada *in vivo* sea de menos de 300 kBq/kg, más preferiblemente de menos de 200 kBq/kg, aún más preferiblemente de menos de 150 kBq/kg, especialmente de menos de 100 kBq/kg. Los niveles de dosis anteriores son preferiblemente la dosis completamente retenida de <sup>227</sup>Th, pero puede ser la dosis administrada que tiene en cuenta que parte del <sup>227</sup>Th se eliminará del cuerpo antes de que se desintegre.

Cuando la semivida biológica del complejo de <sup>227</sup>Th es breve (p. ej., de menos de 7 días, en especial de menos de 3 días), se puede necesitar la administración de dosis significativamente más grandes para proporcionar la dosis retenida equivalente. Así pues, por ejemplo, una dosis completamente retenida de 150 kBq/kg es equivalente a un complejo con una semivida de 5 días administrado a una dosis de 711 kBq/kg de acuerdo con la ecuación establecida en la presente memoria más arriba. Mediante el uso de esta ecuación, la dosis administrada equivalente para cualquiera de las dosis retenidas anteriores se puede calcular a partir de la velocidad de eliminación biológica del complejo.

Ya que la desintegración de un núcleo de <sup>227</sup>Th proporciona un átomo de <sup>223</sup>Ra, la retención y la actividad terapéutica del <sup>227</sup>Th estará directamente relacionada con la dosis de <sup>223</sup>Ra que soporta el paciente.

En un cálculo simplificado, la generación *in vivo* de <sup>223</sup>Ra podría estar relacionada con la cantidad de <sup>227</sup>Th administrada si se supone que no hay ninguna retención significativa en el tejido diana. La dosis tolerable máxima de <sup>227</sup>Th se puede expresar entonces como:

$$\frac{1,65 \times D_{\text{add}}}{T_{\text{Th}} \left( (T_{\text{Bio}})^{-1} + (T_{\text{Th}})^{-1} \right)} < \text{Max Ra}$$

donde:

$T_{\text{Bio}}$  es la semivida biológica del complejo <sup>227</sup>Th;

$T_{\text{Th}}$  es la semivida física del <sup>227</sup>Th (18,7 días);

$D_{\text{add}}$  es la actividad del complejo de <sup>227</sup>Th administrado (kBq/kg); y

Max Ra es la cantidad aceptablemente no mielotóxica de <sup>223</sup>Ra (kBq/kg) según se explica en la presente memoria.

En una realización preferida, por lo tanto, la presente invención da a conocer un procedimiento para el tratamiento de la enfermedad de partes blandas en un sujeto mamífero, en donde dicho procedimiento comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un complejo de torio-227 y complejante que se dirige a las partes blandas, en donde dicha cantidad es  $D_{\text{add}}$  según se calcula a partir de la fórmula I que viene a continuación, de tal forma que se genera *in vivo* una cantidad aceptablemente no mielotóxica  $D_{\text{Ra}}$  de radio-223 por la desintegración nuclear del torio-227 administrado;

$$D_{\text{add}} = \frac{D_{\text{Ra}} \times T_{\text{Th}} \left( (T_{\text{Bio}})^{-1} + (T_{\text{Th}})^{-1} \right)}{1,65} \quad (I)$$

en donde:

$T_{\text{Bio}}$  es la semivida biológica de dicho complejo de torio-227 y complejante que se dirige a las partes blandas;

$T_{\text{Th}}$  es la semivida física del <sup>227</sup>Th (18,7 días);

$D_{\text{add}}$  es la actividad del complejo de <sup>227</sup>Th administrado (kBq/kg); y

$D_{\text{Ra}}$  es la cantidad aceptablemente no mielotóxica de <sup>223</sup>Ra de, por ejemplo, 75 a 200 kBq/kg.

La semivida biológica de cualquier complejo concreto de torio-227 y complejante que se dirige a las partes blandas se puede medir con las técnicas conocidas mediante el uso de torio no radiactivo o mediante la medición de, por ejemplo, emisiones y características con niveles muy bajos de torio-227 en combinación con torio no radiactivo. A partir de esta fórmula, por ejemplo, se puede observar que se genera una dosis no mielotóxica de 100 kBq/kg de



$^{223}\text{Ra}$  a partir de un complejo de torio-227 y complejante que se dirige a las partes blandas que tiene una semivida biológica de 10 días mediante la administración de una dosis de  $[100 \times 18,7 \times (10^{-1} + 18,7^{-1})]/1,65 = 173 \text{ kBq/kg}$ .

Obviamente es deseable disminuir al mínimo la exposición de un sujeto al isótopo derivado  $^{223}\text{Ra}$ , a menos que las propiedades de éste se empleen de manera útil. Para permitir que se administre suficiente  $^{227}\text{Th}$ , sin embargo, es necesario que se genere una determinada cantidad de radio. Esta cantidad será una que es suficiente para permitir una administración terapéuticamente eficaz de  $^{227}\text{Th}$  y por lo general será más grande que la cantidad que previamente se habría tomado como el máximo aceptable en vistas de la mielotoxicidad esperada del  $^{223}\text{Ra}$  (véanse los ejemplos 7 y 8 que vienen a continuación y la explicación más arriba). En particular, la cantidad de radio-223 generada *in vivo* será típicamente mayor de 40 kBq/kg, p. ej. mayor de 60 kBq/kg. En algunos casos será necesario que el  $^{223}\text{Ra}$  generado *in vivo* sea de más de 80 kBq/kg, p. ej. mayor de 100 o 115 kBq/kg.

Los complejos marcados con torio-227 en soluciones de portador adecuadas se pueden administrar por vía intravenosa, intracavitaria (p. ej., intraperitoneal), subcutánea, oral o tópica, como una posología de aplicación única o de aplicaciones fraccionadas. Preferiblemente, los complejos se administrarán como soluciones por una vía parenteral, en especial intravenosa, o mediante una vía intracavitaria. Preferiblemente, las composiciones de la presente invención se formularán en una solución estéril para la administración parenteral.

El torio-227 de los procedimientos y productos de la presente invención se pueden utilizar solos o en combinación con otras modalidades de tratamiento, entre ellas intervención quirúrgica, radioterapia externa, quimioterapia, otros radionúclidos o ajuste de la temperatura del tejido, etc. Esto forma otra realización preferida del procedimiento de la invención.

De acuerdo con esta invención, el  $^{227}\text{Th}$  puede estar formando un complejo con complejantes direccionadores. Típicamente, éstos tendrán una masa molecular de 100 g/mol a varios millones de g/mol y preferiblemente tendrán afinidad por un receptor relacionado con la enfermedad y/o un receptor adecuado administrado previamente (p. ej., biotina o avidina) fijado a una molécula que se ha enviado a la enfermedad antes de administrar el  $^{227}\text{Th}$ . Los restos de direccionamiento adecuados incluyen poli- y oligopéptidos, proteínas, fragmentos de ADN y ARN, aptámeros, etc., preferiblemente una proteína, p. ej., avidina, estreptavidina, un anticuerpo policlonal o monoclonal (entre ellos anticuerpos de tipo IgG e IgM), o una mezcla de proteínas o fragmentos o construcciones de proteína. Se prefieren en particular anticuerpos, construcciones de anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (p. ej., fragmentos Fab), construcciones de fragmentos (p. ej., anticuerpos monocatenarios) o una mezcla de los mismos.

También son adecuados para ser usados en la presente invención los conjugados terapéuticos del  $^{227}\text{Th}$  con un péptido, aminoácido, hormona esteroidea o no esteroidea, estrógeno, testosterona, biotina u otros compuestos de fijación específica con una masa molecular típicamente por debajo de 10.000 g/mol.

Así pues, se apreciará que el complejante que dirige a las partes blandas es un agente bifuncional: un resto debe servir para formar complejo con el ion de torio, preferiblemente en un complejo quelato, a saber, uno en el que el torio está complejado muchas veces; y otro resto debe servir de vector para dirigir el complejo a las partes blandas que hay que tratar. El resto complejante puede consistir en uno o varios grupos funcionales presentes en el resto de direccionamiento o que se pueden introducir en el resto de direccionamiento mediante un tratamiento químico. Sin embargo, de forma más general, el resto complejante está conjugado directa o indirectamente (p. ej., mediante un resto conector) al resto de direccionamiento. Se conocen bien en los campos de las sustancias radiofarmacéuticas de acción selectiva y de los contrastes de acción selectiva tales construcciones de metal activo (p. ej., terapéutica o diagnósticamente activo)—resto complejante—resto conector optativo—resto direccionador, y se pueden seleccionar y construir para el torio de una forma análoga. En este sentido, se puede hacer referencia a, por ejemplo, *Handbook of Targeted Delivery of Imaging Agents*, ed. Torchilin, CRC Press, 1995.

El torio-227 de la presente invención se conjugará preferiblemente a una molécula direccionadora mediante el uso de quelantes bifuncionales. Estos podrían ser quelantes cíclicos, lineales o ramificados. Se puede hacer referencia en particular a los quelantes poliaminopoliácidos que comprenden un esqueleto de poliazaalcano ramificado, cíclico o lineal con grupos ácidos (p. ej., carboxialquilo) unidos a nitrógenos del esqueleto. Ejemplos de quelantes adecuados incluyen derivados de DOTA tales como ácido p-isotiocianatobencil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético (p-SCN-Bz-DOTA) y derivados de DTPA tales como el ácido p-isotiocianatobencil-dietilentiainopentaacético (p-SCN-Bz-DTPA), en donde el primero es quelante cíclico y el último quelante lineal.

Los derivados del ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético son quelantes particularmente preferidos para el torio en la presente invención, pero no se conocen por su capacidad para coordinarse con los metales tetravalentes tales como el torio. Ha sido el hallazgo sorprendente de los presentes inventores de que, aunque los procedimientos estándares no se pueden utilizar fácilmente para quelar el torio con derivados de DOTA, al calentar el derivado de DOTA con el metal proporciona el quelato con eficacia, como se indica en los ejemplos que vienen a continuación. En otro aspecto, la presente invención da así a conocer un procedimiento para formar un complejo de la invención o adecuado para ser usado en los procedimientos de la invención que comprende el calentamiento del torio-227 con un derivado del ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético para formar un quelato de torio-227 y posteriormente unir el torio-227 quelado a un resto direccionador. Se puede utilizar

cualquier resto direccionador, tales como los indicados en la presente memoria (p. ej., a continuación).

La metalación del resto complejante se puede realizar antes o después de la conjugación del resto complejante al resto direccionador. Sin embargo, cuando se utiliza el procedimiento de calentamiento indicado anteriormente, es preferible que el metal se coordine antes de la unión del resto direccionador.

- 5 Los quelantes serán preferiblemente moléculas que no son fosfonatos y en la presente invención el  $^{227}\text{Th}$  no estará preferiblemente fijado a ningún fosfonato ni a otro grupo osteótrofo.

Los tipos de compuestos de direccionamiento que se pueden unir al torio-227 mediante un quelante incluyen anticuerpos monoclonales o policlonales, factores de crecimiento, péptidos, hormonas y análogos de hormonas, folato y derivados del folato, botina, avidina y estreptavidina o análogos de los mismos. Otros portadores posibles  
10 podrían ser RNA, ADN o fragmentos de los mismos, oligonucleótidos, glúcidos, lípidos o compuestos hechos por combinación tales grupos con o sin proteínas, etc.

El torio-227 se conjuga con un resto de direccionamiento con bioafinidad, excluidos los osteótropos, liposomas y anticuerpos o fragmentos de anticuerpos conjugados a folato, para irradiar las partes blandas con propósitos terapéuticos.

- 15 Las moléculas marcadas con torio-227 de la invención se pueden utilizar para el tratamiento de enfermedades cancerosas o no cancerosas al dirigirse selectivamente a los receptores relacionados con la enfermedad. Típicamente, tal uso médico de  $^{227}\text{Th}$  será mediante radioinmunoterapia basándose en unir el  $^{227}\text{Th}$  mediante un quelante a un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo o una construcción de anticuerpo o fragmentos de anticuerpo para el tratamiento de enfermedades cancerosas o no cancerosas. La utilización del  $^{227}\text{Th}$  en los procedimientos y  
20 las sustancias farmacéuticas de acuerdo con la presente invención es particularmente adecuado para el tratamiento de cualquier forma de cáncer y enfermedad reumática, en especial cáncer de piel, de próstata, de cuello de útero o de mama, o enfermedades inflamatorias tales como artritis o fibrositis.

- Los experimentos *in vitro* con anticuerpos monoclonales marcados con torio que se presentan en la presente memoria han demostrado que el torio-227 se puede fijar a través de un quelante bifuncional a una molécula portadora. También se ha demostrado que tales inmunoconjugados del  $^{227}\text{Th}$  mostraron una capacidad de fijación específica hacia la línea celular DAUDI de linfoma humano que expresa el antígeno CD20, y que se podría fijar por célula un número relevante de átomos de  $^{227}\text{Th}$ . Con esto se demostró por primera vez que con una molécula marcada con  $^{227}\text{Th}$  se podía actuar selectivamente sobre los receptores.  
25

- Una característica interesante del uso del torio-227 es que la intensidad de la radiación se incrementará con el tiempo ya que la invasión de los radionúclidos derivados, a saber, la dosis administrada a los órganos normales, se pudo mantener baja durante la captación y las fases de eliminación. Esto se ilustra mediante la figura 1 de los dibujos acompañantes. Si la retención fuera alta en el tumor, el ritmo de la dosis se incrementaría ahí con el tiempo debido a la invasión de los núclidos derivados, según la retención tumoral del núclido derivado. No obstante, debido a las dificultades de las energías de retroceso, la retención eficaz de los derivados en el sitio deseado suele requerir  
30 unos procedimientos muy específicos de administración, tal como en liposomas, o de tal forma que el radionúclido se incorpore en el hueso mineralizado.  
35

- La cantidad de  $^{223}\text{Ra}$  liberado se podría reducir si la molécula que lleva el  $^{227}\text{Th}$  tiene un semivida de retención biológica breve *in vivo* ya que el radionúclido se eliminará principalmente antes de que una proporción elevada del  $^{227}\text{Th}$  se haya desintegrado en  $^{223}\text{Ra}$ . Sin embargo, habrá que incrementar la cantidad de  $^{227}\text{Th}$  para permanecer  
40 terapéuticamente eficaz, de acuerdo con la presente invención. La semivida biológica preferida *in vivo* es de menos de 7 días, preferiblemente de menos de 4 días y particularmente de menos de 2 días. Si se selecciona el complejante para que administre el  $^{227}\text{Th}$  al interior de las células destinatarias, esto incrementará además la citotoxicidad específica y reducirá el efecto tóxico sistémico de los derivados radiactivos debido al menos a la retención parcial de los isótopos derivados en el sitio del tumor. Estas dos características amplían la ventana  
45 terapéutica del  $^{227}\text{Th}$  y forman así realizaciones preferidas de la invención.

- En una realización más de la invención, los pacientes con una enfermedad de partes blandas y osteopatía se pueden tratar con el  $^{227}\text{Th}$  y con el  $^{223}\text{Ra}$  generado *in vivo* mediante la administración de torio. En este aspecto particularmente ventajoso, un componente terapéutico extra para el tratamiento procede de la cantidad aceptablemente no mielotóxica de  $^{223}\text{Ra}$  al enviarlo selectivamente a la osteopatía. En este procedimiento  
50 terapéutico, el  $^{227}\text{Th}$  se utiliza típicamente para tratar el cáncer primario y/o metastásico de las partes blandas mediante el envío selectivo adecuado a éste, y el  $^{223}\text{Ra}$  generado de la desintegración del  $^{227}\text{Th}$  se utiliza para tratar la osteopatía relacionada en el mismo sujeto. Esta osteopatía pueden ser metástasis en el hueso que son resultado de un cáncer primario de partes blandas, o puede ser la enfermedad primaria en donde el tratamiento de las partes blandas es luchar contra el cáncer metastásico. Ocasionalmente, las enfermedades de partes blandas y osteopatías  
55 pueden no estar relacionadas (p. ej., el tratamiento adicional de una osteopatía en un paciente con una enfermedad reumática de partes blandas).

La invención se ilustrará a continuación mediante los ejemplos no limitantes que siguen.

## Ejemplos

### Suposición fundamental

- 5 Por lo general, el peso del tejido tumoral de un sujeto será más bajo que la masa corporal e incluso si se obtiene una concentración y una retención significativas del complejo de torio en el tumor, típicamente el 1 % o menos del torio alcanzará el tejido tumoral en los humanos. Por lo tanto, la exposición de las partes blandas se podría estimar basándose en la eliminación del complejo de torio de todo el cuerpo. Así pues, el efecto del envío selectivo al tumor se despreciará en los ejemplos 1 y 2, que muestran la influencia de la semivida biológica sobre la cantidad de  $^{223}\text{Ra}$  generado *in vivo* respecto a la cantidad de  $^{227}\text{Th}$  administrado.

### 10 Material

- El acetato de amonio (AmAc), el ácido L-ascórbico (AscA), el ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), el ácido etilendiaminetetraacético (EDTA), el carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), el hidrogenocarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ), y el acetato de tetrametilamonio (TMAA, pureza del 90 %) se obtuvieron de Aldrich (Milwaukee, WI, EE.UU) y a menos que se mencione, la pureza era de más del 99 %. El 2-(p-isotiocianatobencil)-1,4,7-10-tetraazaciclododecano (NCS-DOTA) se obtuvo de Macrocyclics, Dallas, TX, EE.UU. La seroalbúmina bovina (SAB) y la fracción V de la albúmina bovina se obtuvieron de Sigma, St Louis, MO, EE.UU. La disolución salina tamponada con fosfato (PBS), el suero bovino fetal (SBF) y el medio RPMI 1640 con glutamax se obtuvieron de Gibco, Paisley, Escocia, GB. El medio RPMI 1640 se complementó con SBF al 15 %, penicilina y estreptomycin. El material de intercambio de aniones se obtuvo de Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EE.UU. El Mabthera (rituximab) se obtuvo de F. Hoffmann-La Roche
- 15 AG, Basilea, Suiza. La línea celular utilizada fue el linfoma positivo para CD20 DAUDI adquirido a la Colección Europea de Cultivos Celulares (ECACC, por su nombre en inglés), Salisbury, GB.

Ejemplo 1. Estimación de la generación *in vivo* del  $^{223}\text{Ra}$  tras la administración de un compuesto marcado con torio con una semivida de retención en el cuerpo de 12 horas.

- La semivida eficaz para el  $^{227}\text{Th}$  (suponiendo en el tumor se retiene una fracción insignificante de  $^{227}\text{Th}$ ) sería de
- 25  $1/T_{1/2\text{eficaz}} = 1/T_{1/2\text{fis}} + 1/T_{1/2\text{biol}} \rightarrow T_{1/2\text{eficaz}} = 0,487$  días. La fracción de  $^{227}\text{Th}$  que se desintegra en el cuerpo sería equivalente a  $T_{1/2\text{eficaz}}/T_{1/2\text{fisica}} = 0,0262$ , que correspondería a la generación de  $6,1 \times 10^9$  átomos de  $^{223}\text{Ra}$  por 100 kBq de  $^{227}\text{Th}$  inyectado. El componente tóxico de los núclidos derivados debe ser aproximadamente equivalente a una dosis del radio-223 de 4,3 kBq de  $^{223}\text{Ra}$  por 100 kBq (inicial) de  $^{227}\text{Th}$ . La desintegración de 0,0262 del torio administrado equivalente a 2,6 kBq de  $^{227}\text{Th}$  completamente retenido por cada 100 kBq administrados.

- 30 Ejemplo 2. Estimación de la generación *in vivo* de  $^{223}\text{Ra}$  tras la administración de un compuesto marcado con torio con una semivida de retención en el cuerpo de 4 días.

- La  $T_{1/2\text{eficaz}} = 3,3$  días para la eliminación del cuerpo se calcula como en el ejemplo 1. Esto es equivalente a una fracción de 0,176 de los átomos de Th que se desintegran en el cuerpo. Esto corresponde a  $4,1 \times 10^{10}$  átomos de  $^{223}\text{Ra}$  generados por 100 kBq de  $^{227}\text{Th}$ . El componente tóxico de los núclidos derivados debe ser aproximadamente
- 35 equivalente a una dosis inyectada de 29 kBq de  $^{223}\text{Ra}$  por 100 kBq de  $^{227}\text{Th}$  inyectado. Con esta semivida biológica, la administración de 100 kBq de  $^{227}\text{Th}$  equivale a 17,6 kBq totalmente retenido.

Ejemplo 3: Preparación del  $^{227}\text{Th}$

- El torio-227 se aisló selectivamente de una mezcla de  $^{227}\text{Ac}$ , que había estado acumulando derivados durante dos semanas, mediante la adición de 0,25 ml de  $\text{HNO}_3$  a 7 M a la mezcla de Ac (que se había evaporado hasta secarla)
- 40 y la elución de la solución a través de una columna de intercambio aniónico. La columna tenía un diámetro interno de 2 mm y una longitud de 30 mm y contenía aproximadamente 70 mg de la resina de intercambio aniónico AG-1 X 8 (Biorad Laboratories, Hercules, CA, EE.UU) (forma de nitrato). La columna se lavó con 2 a 4 ml de  $\text{HNO}_3$  a 7 M para despegar los derivados  $^{227}\text{Ac}$ ,  $^{223}\text{Ra}$  y Ra al mismo tiempo que se retiene el  $^{227}\text{Th}$ . Posteriormente, el  $^{227}\text{Th}$  se despegó de la columna con unos pocos mililitros de HCl a 12 M. Finalmente, el HCl se evaporó hasta secarlo y el
- 45  $^{227}\text{Th}$  se volvió a disolver en HCl a 0,2 M.

Ejemplo 4. Marcación del quelante bifuncional NCS-DOTA con torio-227

- A menos que se mencione de otra manera, las sustancias químicas utilizadas eran de Aldrich (Milwaukee, WI, EE.UU.) y tenían una pureza del 99 % o más. A 100  $\mu\text{l}$  de  $^{227}\text{Th}$  en una solución de HCl a 0,2 M en un vial de medio gramo se le añadió una solución que contenía 25  $\mu\text{l}$  de p-SCN-Bencil-DOTA (10 mg/ml) (Macrocyclics Inc., Dallas, TX, EE.UU.), 20  $\mu\text{l}$  de ácido L-ascórbico (150 mg/ml) y 50  $\mu\text{l}$  de acetato de tetrametilamonio (300 mg/ml) (pureza del
- 50 90 %) hasta un pH de aproximadamente 5,5. La mezcla de reacción se hizo reaccionar en un agitador/incubador (Thermomixer Comfort, Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania) a 55 °C durante 1 hora (esto típicamente ocasionaría una elución cuantitativa del  $^{227}\text{Th}$  a través de una columna de Sephadex C-25 de 0,5 ml mediante el uso de una solución de 2,5 ml de NaCl al 0,9 %, mientras que el  $^{223}\text{Ra}$  (sin formar complejos) quedaría retenido casi

cuantitativamente en la columna. También se verificó en un experimento de control con  $^{227}\text{Th}$  en una solución de «reacción» sin el quelante que en la columna quedaban retenidos a > 90 % tanto el  $^{227}\text{Th}$  como el  $^{223}\text{Ra}$ ). El producto de reacción sin purificar de  $^{227}\text{Th}$ -p-SCN-bencil-DOTA se utilizó para la marcación del rituximab.

Ejemplo 5: Preparación de un radioinmunoconjugado (RIC) con  $^{227}\text{Th}$

- 5 La marcación se realizó mediante un procedimiento en dos etapas, en donde la primera etapa es la combinación del  $^{227}\text{Th}$  y el quelante (descrito en el ejemplo 4). La segunda etapa es la conjugación del quelante radiactivo al anticuerpo. La solución de la reacción (ejemplo 4) se añadió a 200  $\mu\text{l}$  de rituximab (10 mg/ml, Mabthera®, F. Hoffmann-La Roche AG, Basilea, Suiza) y la solución de la reacción se ajustó a pH 9 aproximadamente por la adición de aproximadamente 100  $\mu\text{l}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$  a 1 M. La solución de la reacción se mezcló suavemente en un agitador (Thermomixer Comfort, Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania) a 35 °C durante 1 h. Después se añadieron 50  $\mu\text{l}$  de ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA, Fluka Chemie AG Buchs, Neu-Ulm, Alemania) a 10 mM y 200  $\mu\text{l}$  de glicina a 0,2 M en borato saturado (decahidrato de tetraborato de sodio, de Fluka) y se continuó incubando durante 5 minutos más. A continuación, la mezcla de reacción se transfirió a una columna de Sephadex G-25 PD 10 y se eluyó con SAB al 1 % (albúmina, fraction V bovina, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EE.UU.) en PBS (Gibco, Paisley, Escocia, GB). El eluido se recogió en fracciones de aproximadamente 0,6 ml que se habían contado en un calibrador de dosis (CRC-127R, Capintec, Ramsey, NJ, EE.UU.) y las fracciones que corresponden al eluido de proteínas se analizaron mediante espectroscopia  $\gamma$  (detector GEM15-P y programa informático Gammavision 5.20, ambos de EG & G Ortec, Oak Ridge, TN, EE.UU.) para determinar los  $\gamma$  de  $^{227}\text{Th}$  frente a los  $\gamma$  de  $^{223}\text{Ra}$  en cada fracción antes de cualquier otro uso. Se utilizaron siguientes picos  $\gamma$ :  $^{227}\text{Th}$ ; 236,0 keV (abundancia de 11,6%), 256,3 keV (7,4 %), 329,9 keV (2,8%);  $^{223}\text{Ra}$ ; 154,2 keV (6,0 %), 269,4 keV (13,6%), 323,9 keV (3,7%), respectivamente. Las fracciones 6 y 7 que corresponden a aproximadamente el 50 % del eluido de proteínas (como se verificó al eluir el rituximab marcado con  $^{125}\text{I}$  a través de columnas PD-10) se utilizaron al estar esencialmente libres de  $^{223}\text{Ra}$ . Las fracciones 8 y 9 contenían una mayor cantidad de  $^{223}\text{Ra}$ , lo que indica un solapamiento significativo entre proteínas y moléculas más pequeñas en estas fracciones (cuando estas dos fracciones se volvieron a purificar en una columna PD-10, produjeron aproximadamente el 50% del  $^{227}\text{Th}$  en las fracciones 6 y 7 a partir del nuevo eluido, lo que verifica la presencia del  $^{227}\text{Th}$ -rituximab). Basándose en la medición de las fracciones del eluido de PD-10 sobre el detector de Ge, se estima que el rendimiento global de la marcación era aproximadamente del 12 %. También se demostró con una preparación de 5 días almacenada a 8 °C que un anticuerpo conjugado al  $^{227}\text{Th}$  se podría purificar con facilidad en una columna PD-10 para retirar el  $^{223}\text{Ra}$  generado por la desintegración del  $^{227}\text{Th}$ . Así pues, se demostró que el  $^{227}\text{Th}$  se podía fijar a una molécula de acción selectiva mediante un quelante bifuncional y se podía purificar entre los productos derivados. Cuando está almacenado, el producto derivado que se genera, el  $^{223}\text{Ra}$ , se liberaría del quelante y, mediante una purificación por filtración en gel/exclusión por tamaños, era posible regenerar un conjugado puro de  $^{227}\text{Th}$  y anticuerpo.

Ejemplo 6: fijación del anticuerpo marcado con  $^{227}\text{Th}$  a las células DAUDI de linfoma humano

- 35 Se compraron las células DAUDI a la Colección Europea de Cultivos Celulares (ECACC, por su nombre en inglés), Salisbury, GB, y se hicieron crecer de acuerdo con las instrucciones del proveedor con el medio de cultivo y el complemento de Gibco (Paisley, Escocia, GB) en matraces de cultivo de 500 ml (Cell Star, Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Alemania). Las células DAUDI ( $2 \times 10^7$  células en 0,7 ml de PBS) se utilizaron para estudiar la fijación del rituximab marcado con  $^{227}\text{Th}$  *in vitro*. Como control de fijación inespecífica se utilizaron las células DAUDI saturadas (bloqueadas) previamente con 40  $\mu\text{g}$  de rituximab sin marcar durante 15 minutos. A los tubos de ensayo (tubos de ensayo de cultivo de poliestireno, 12 x 75 mm, Elkay, Shrewsbury, MA, EE.UU) se les añadió rituximab marcado con  $^{227}\text{Th}$  que corresponde a 1,3, 5,3 o 26  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , respectivamente. El experimento se realizó por duplicado en cada nivel de concentración con células bloqueadas y sin bloquear. La incubación se realizó durante 2 horas a 8 °C. Tras la incubación, se contó la radioactividad (multidetector Crystal II, Packard Instrument Company Inc., Downers Grove, IL, EE.UU.) de las suspensiones celulares y las células se lavaron con 2 ml de SAB al 1% (albúmina, fracción V bovina, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EE.UU.) en PBS (Gibco, Paisley, Escocia, GB) y se centrifugaron (centrífuga 5810 R, Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania) a 200 rpm durante 5 minutos. El lavado/centrifugación se repitió dos veces. A continuación se contó la radioactividad de los sedimentos celulares. Los resultados (cada uno es la media de un duplicado) se presentan en la tabla 3 que viene a continuación.

50

Tabla 3

Conc. en µg/ml del RIC añadido	Media de cpm fijadas por sedimento celular		Átomos de torio-227 fijados por célula		
	Sin bloquear	Bloqueadas	Sin bloquear	Bloqueadas	Fijación específica neta
1,3	226	25	1,9	0,2	1,7
5,3	1186	97	10,1	0,8	9,3
26,0	4141	315	35,2	2,7	32,5

Los resultados demuestran que el rituximab marcado con <sup>227</sup>Th se fijó específicamente a las células DAUDI. De media, el RIC se fijó aproximadamente 12 veces más a las células sin bloquear que a las células bloqueadas.

5 Además, se fijó un número terapéuticamente relevante de átomos de <sup>227</sup>Th por célula.

Así pues, con el uso de un quelante bifuncional útil para la conjugación a los anticuerpos, péptidos y vitaminas, etc., fue posible preparar un RIC marcado con <sup>227</sup>Th con la capacidad de fijarse específicamente a un número relevante y terapéutico de átomos de <sup>227</sup>Th en las células tumorales.

Ejemplo 7: estimación de la toxicidad del <sup>223</sup>Ra según la técnica anterior

- 10 Debido a la ausencia de datos humanos sobre la toxicidad del radio-223 y del radio 224, se puede deducir una supuesta radiotoxicidad para el <sup>223</sup>Ra como sigue, a partir de los datos publicados para el radio 224 en los perros. La serie de desintegración (que incluye la desintegración de los núclidos derivados) tanto del <sup>224</sup>Ra como del <sup>223</sup>Ra provoca la emisión de cuatro partículas α por átomo de radio. Las dosis de partículas α totales de <sup>223</sup>R y <sup>224</sup>Ra en equilibrio con los derivados son aproximadamente de 26,3 y 27,1 MeV por transformación, respectivamente y, por lo tanto, son casi equivalentes. La semivida del <sup>224</sup>Ra es de 3,62 días y la del <sup>223</sup>Ra es de 11,43 días. Esto significa que, por unidad de actividad inyectada, la dosis ósea del <sup>223</sup>Ra sería aproximadamente 3,1 veces la del <sup>224</sup>Ra, si se tiene en cuenta la energía de α y la diferencia entre las semividas, y si suponemos una retención biológica a largo plazo del radionúclido (a saber, la eliminación está gobernada por la semivida física del radionúclido). Esto es una suposición válida porque el Ra es un análogo del Ca y se incorpora con facilidad en los huesos.
- 15
- 20 El tipo de célula sanguínea que se ve afectada con más fuerza tras el tratamiento con <sup>224</sup>Ra o <sup>223</sup>Ra resultan ser los neutrófilos. Los datos de un estudio publicado sobre los efectos biológicos del <sup>224</sup>Ra en los perros adultos (véase Muggenburg, *Radiat Res*, 146: 171-186, (1996)), administrado como una sola inyección intravenosa, muestran que el número de neutrófilos se redujo fuertemente a 120 e incluso más a 350 kBq/kg de masa corporal, como se indica en la tabla 4 que viene a continuación.

25 Tabla 4

Actividad administrada (kBq/kg)	Días para el nadir	% de la referencia en el nadir	Número de sujetos
13	30	60	12
40	10	70	12
120	10	20	6
350	10	4	8

A 350 kBq/kg, en algunos sujetos (3 perros de 8) se produjo la muerte, ocasionada por una discrasia hemática de resultados de la destrucción de la médula ósea. Por lo tanto, se puede suponer que la dosis tolerable máxima de <sup>224</sup>Ra está entre 120 y 350 kBq/kg en los perros. Traducido al <sup>223</sup>Ra, según se describe más arriba, esto correspondería a 39-113 kBq/kg de <sup>223</sup>Ra. Si se supone una toxicidad hemática similar en los perros y en los humanos, cabría esperar que se alcance una dosis máxima tolerable dentro del intervalo de 39 a 113 kBq/kg de <sup>223</sup>Ra en los humanos. Por lo general, conviene ser cuidadoso al comparar los datos de dos especies diferentes. Sin embargo, los perros y los

30

humanos son muy similares con respecto a la toxicidad de la médula ósea debida a la irradiación (véase Hall, *Radiobiology for the radiologist*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, EE.UU, 2000) y se esperaría que este cálculo diera una estimación eficaz de la dosis tolerable máxima del  $^{223}\text{Ra}$  en los humanos.

Ejemplo 8: estudio de laboratorio del  $^{223}\text{Ra}$  en los humanos

- 5 En un estudio de fase I, a los pacientes con cáncer de mama o de próstata se les dió una dosificación de 37, 74, 130, 170 y 200 kBq/kg de  $^{223}\text{Ra}$  en una única dosis. Las fracciones de neutrófilos se vigilaron sistemáticamente a modo de medición sensible de la toxicidad hemática. Los resultados se presentan en la tabla 5 que viene a continuación.

Tabla 5

Actividad administrada (kBq/kg)	Días para el nadir	% aproximado de la referencia en el nadir	Número de sujetos
37	14	60	5
74	14	60	5
130	28	50	5
170	21	40	5
200	21	30	5

10

Así pues, fue sorprendente hallar que las dosis altas eran tolerables en los humanos y esto indica que es posible administrar una radiación significativamente más alta a las superficies óseas con  $^{223}\text{Ra}$  de lo que se había previsto, sin ocasionar ninguna toxicidad hemática adversa.

Ejemplo 9: otro estudio de laboratorio del  $^{223}\text{Ra}$  en los humanos

- 15 El experimento del ejemplo 8 se llevó a cabo con un medidor de dosis calibrado con gran exactitud. Las dosis medidas a 46, 93, 163, 213 y 250 kBq/kg de  $^{223}\text{Ra}$  se dieron como dosis únicas y también se introdujo una pauta de dosis múltiples.

Pacientes y criterios de estudio

- 20 A los ensayos de fase I A y de fase I B se incorporaron 31 pacientes con metástasis en los huesos, 10 desde el cáncer de mama y 21 desde el cáncer de próstata. Los pacientes con cáncer de próstata tenían de 60 a 85 años de edad y tenían una masa corporal que oscilaba de 50 a 120 kg. Todos ellos tenían una enfermedad progresiva que se consideraba resistente a las hormonas. Las pacientes con cáncer de mama tenían de 40 a 70 años, y la masa corporal era de 50 a 95 kg. Todas ellas estaban progresando a una segunda hormona y/o quimioterapia. El objetivo principal era evaluar la seguridad y la tolerancia del  $^{223}\text{Ra}$ .

- 25 Seguimiento

El periodo de seguimiento fue de 8 semanas.

Nivel de las dosis y pautas de tratamiento

- 30 En el ensayo con una única inyección se utilizaron las siguientes dosis medias; 46, 93, 163, 213 y 250 kBq kg<sup>-1</sup> de masa corporal (m.c.). Se incluyeron 5 pacientes en cada nivel de dosis. Se incluyeron 15 pacientes con cáncer de próstata y 10 pacientes con cáncer de mama.

En la pauta de varias inyecciones se incluyeron 6 pacientes, todos con cáncer de próstata. A 3 pacientes se les programó que recibieran 5 dosis, cada una de 50 kBq kg<sup>-1</sup> m.c. en intervalos de tres semanas, y otros 3 pacientes para que recibieran 2 dosis, cada una de 125 kBq kg<sup>-1</sup> m.c. en intervalos de seis semanas.

Eliminación desde la sangre

- 35 Se extrajo aproximadamente 1 ml de sangre en diferentes momentos temporales tras la inyección y se utilizó para las mediciones de la radioactividad para determinar los perfiles de eliminación en la sangre de los 25 pacientes

incluidos en una pauta de una única inyección. Se determinó el peso de cada muestra sanguínea y se calculó el índice de la cifra por mililitro de sangre (se supone que 1 ml de sangre equivale a 1 g). La radioactividad se midió en un contador de tipo de pocillos de NaI. Se calculó el nivel de actividad inmediatamente después de la inyección suponiendo que el 100% de la actividad estaba inicialmente en la sangre y que el peso de toda la sangre representaba el 7% de la masa corporal. Los datos se presentan como datos biológicos, a saber, ajustados por la desintegración radiactiva entre el momento de la inyección y el momento de la medición.

#### Producción de radionúclidos

Se produjo el radio-223 a partir de  $^{227}\text{Ac}/^{227}\text{Th}$  y se purificó con una resina-Ac para inmovilizar el  $^{227}\text{Ac}$  y el  $^{227}\text{Th}$  según se describe en la patente internacional WO 0040275. Al concentrado del producto, a saber,  $^{223}\text{RaCl}_2$  disuelto, se le analizó la pureza de los radionúclidos mediante espectroscopia y antes de su uso posterior. Un concentrado del  $^{223}\text{Ra}$  en NaCl y citrato de Na se envió como producción estéril. Se ajustaron la isotonía, el pH y la concentración de la actividad; una muestra se mantuvo aparte para el análisis de patógenos y pirógenos, y con el producto final se llenaron viales estériles que posteriormente se taparon con una membrana de goma selladora que las jeringas podían atravesar. Los viales se colocaron en contenedores de plomo y se enviaron a los hospitales.

#### 15 Efectos secundarios

En el estudio no se observó ninguna toxicidad limitante de la dosis en la parte de escalonamiento de la dosis. Se produjo la mielosupresión reversible, con un nadir 2-3 semanas después de la inyección y la recuperación durante el periodo de seguimiento. Se produjo una neutropenia de grado 3 máximo en 2 de los 25 pacientes. Los trombocitos revelaron una toxicidad sólo de grado 1, incluso en los dos niveles de dosis más altos. En general, había una ligera tendencia hacia una mielosupresión más alta al incrementar el nivel de dosis, pero el efecto no era muy pronunciado. Se observaron pocos acontecimientos adversos, pero las náuseas fue lo más frecuente al manifestarse en cuatro de los cinco pacientes en el nivel de dosis más alta. La diarrea reversible, de grados 1 y 2, que responde bien a la medicación, se observó en todos los grupos de dosis y en un total de aproximadamente el 50% de los pacientes. En el grupo de dosis más alta se produjeron vómitos en cuatro de los cinco pacientes. Esto no se observó en los otros grupos con dosis.

#### Pautas con varias inyecciones

Los tres pacientes en la pauta de 50 x 5 no experimentaron ninguna toxicidad adicional con respecto a la repetición del tratamiento. A partir de los perfiles hemáticos quedó claro que estaban alisados ya que la pauta de fraccionamiento en comparación con una dosis única que da como resultado total lo mismo que las cinco fracciones juntas.

#### Acontecimientos adversos que no están relacionados con el $^{223}\text{Ra}$

En la pauta con varias dosis, sólo a uno de los pacientes de la pauta 125 x 2 realmente se le dio la segunda dosis. De los dos pacientes a quienes no se les dio la dosis de seguimiento, uno murió debido a la progresión de la metástasis en el hígado y el otro se consideró que no se ajustaba al resto del tratamiento debido a la recidiva de una afección cardíaca anterior.

#### Mielotoxicidad

Se vigiló sistemáticamente el efecto de radio-223 sobre las fracciones de neutrófilos, plaquetas, número de glóbulos blancos y hemoglobina para obtener una medición de amplio margen de la toxicidad hemática. El efecto sobre los neutrófilos y sobre los glóbulos blancos fue muy pronunciado, lo que indica que éstos son marcadores sensibles de la mielotoxicidad. Los resultados se expresaron como el número de pacientes en el estudio que muestra un nivel de toxicidad concreto sobre la escala CTC de grados de toxicidad y se presentan en la tabla 6 que viene a continuación.

Tabla 6

Parámetros	Toxicidad	Dosis única / kBq/kg					Retratamiento	Varias dosis / kBq/kg	
		46	93	163	213	250		5 x 50	2 x 125
		n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5		n = 2	n = 3
Plaquetas	0	5	5	4	5	2	2	2	3
	1	0	0	1	0	3	0	1	0
Neutrófilos	0	4	3	3	2	2	2	1	3
	1	0	1	0	1	0	0	0	0
	2	1	1	1	2	2	0	2	0
	3	0	0	1	0	1	0	0	0
Glóbulos blancos	0	4	4	3	2	2	2	1	2
	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	1	1	1	2	2	0	2	1
	3	0	0	1	1	1	0	0	0
Hemoglobina	0	4	2	4	2	2	1	0	0
	1	0	2	0	2	3	1	2	1
	2	1	1	1	1	0	0	1	2



REIVINDICACIONES

1. Utilización de una cantidad terapéuticamente eficaz de un complejo de torio-227 y complejante que se dirige a las partes blandas, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad de partes blandas en un sujeto mamífero, en donde dicha cantidad eficaz es tal que al usarla se genera *in vivo* una cantidad aceptablemente no mielotóxica de radio-223 por desintegración nuclear del torio-227 administrado, y en donde el torio-227 está conjugado a un complejante de direccionamiento, en donde el complejante comprende un resto de direccionamiento con bioafinidad, en donde dicho resto de direccionamiento es uno que sirve para dirigir el complejo a la parte blanda a tratar, excluidos los osteótropos, liposomas y anticuerpos o fragmentos de anticuerpo conjugados a folato, y en donde la cantidad terapéuticamente eficaz de torio-227 es de al menos 25 kBq/kg.
- 10 2. Utilización de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho sujeto es humano o canino.
3. Utilización de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicha cantidad terapéuticamente eficaz es de al menos 75 kBq de torio-227 por kilogramo de masa corporal.
4. Utilización de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicha cantidad aceptablemente no mielotóxica es de menos de 300 kBq de radio-223 por kilogramo de masa corporal.
- 15 5. Utilización de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicho complejo comprende torio-227 quelado unido a un resto de direccionamiento que se selecciona del grupo de anticuerpos, construcciones de anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, construcciones de fragmentos de anticuerpos y mezclas de los mismos.
6. Utilización de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicha enfermedad de partes blandas es una enfermedad maligna.
- 20 7. Utilización de acuerdo con la reivindicación 6, en donde la enfermedad maligna es una enfermedad seleccionada del grupo de carcinomas, sarcomas, mielomas, leucemias, linfomas y cánceres de tipo mixto.
8. Utilización de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicho medicamento se utiliza en un procedimiento en donde el sujeto también se trata para combatir la mielotoxicidad del radio-223 que se genera en él.
- 25 9. Utilización de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicha cantidad eficaz es  $D_{add}$  según se calcula a partir de la fórmula I que viene a continuación, de tal forma que al usarla se genera *in vivo* una cantidad aceptablemente no mielotóxica de radio-223 por la desintegración nuclear del torio-227 administrado;

$$D_{add} = \frac{D_{Ra} \times T_{Th} \left( (T_{Bio})^{-1} + (T_{Th})^{-1} \right)}{1,65} \quad (I)$$

en donde:

- 30  $T_{Bio}$  es la semivida biológica de dicho complejo de torio-227 y complejante que se dirige a las partes blandas;
- $T_{Th}$  es la semivida física del  $^{227}\text{Th}$  (18,7 días);
- $D_{add}$  es la actividad del complejo de  $^{227}\text{Th}$  administrado (kBq/kg) y es de al menos 25 kBq/kg; y
- $D_{Ra}$  es la cantidad aceptablemente no mielotóxica de  $^{223}\text{Ra}$ ;
- y además, en donde el torio-227 está conjugado a un resto de direccionamiento con bioafinidad, excluidos los osteótropos, liposomas y anticuerpos o fragmentos de anticuerpo conjugados a folato.
- 35 10. Utilización de acuerdo con la reivindicación 9, en donde  $D_{Ra}$  es 200 kBq/kg.
11. Utilización de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde dicho medicamento es para ser usado en combinación con al menos otra modalidad más de tratamiento seleccionada de intervención quirúrgica, radioterapia externa, quimioterapia, tratamiento con endorradiónúclidos con radionúclidos diferentes al  $^{227}\text{Th}$ , y/o
- 40 ajuste de la temperatura del tejido.
12. Composición farmacéutica que comprende un complejo de torio-227 y complejante que se dirige a las partes blandas, junto con al menos un portador o excipiente farmacéutico, en donde el torio-227 está conjugado a un complejante de direccionamiento, en donde el complejante tiene una masa molecular de 100 g/mol a varios millones de g/mol y comprende un resto de direccionamiento con bioafinidad, en donde dicho resto de direccionamiento es uno que sirve para dirigir el complejo a las partes blandas a tratar, excluidos los osteótropos, liposomas y anticuerpos o fragmentos de anticuerpo conjugados a folato, y en donde el torio-227 está presente a una cantidad
- 45

terapéuticamente eficaz de al menos 25 kBq/kg.

13. Complejo de torio-227 y complejante que se dirige a las partes blandas, en donde el torio-227 está quelado por un derivado del ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético y está conjugado a un complejante de direccionamiento, en donde el complejante comprende un resto de direccionamiento con bioafinidad, en donde
- 5 dicho resto de direccionamiento es uno que sirve para dirigir el complejo a las partes blandas a tratar, excluidos los osteótrofos, liposomas y anticuerpos o fragmentos de anticuerpo conjugados a folato.
14. Procedimiento para formar un complejo de acuerdo con la reivindicación 13, que comprende calentar dicho torio-227 con dicho derivado del ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético para formar un torio-227 quedado y posteriormente unir dicho torio-227 quelado a un resto de direccionamiento.
- 10 15. Kit para ser usado en un procedimiento para el tratamiento de enfermedad de partes blandas en un sujeto mamífero, en donde dicho kit comprende una solución de un complejo de torio-227 y complejante que se dirige a las partes blandas, en donde el torio-227 está conjugado a un complejante de direccionamiento, en donde el complejante tiene una masa molecular de 100 g/mol a varios millones de g/mol y comprende un resto de direccionamiento con bioafinidad, en donde dicho resto de direccionamiento es uno que sirve para dirigir el complejo
- 15 a las partes blandas a tratar, excluidos los osteótrofos, liposomas y anticuerpos o fragmentos de anticuerpo conjugados a folato, y
- b) instrucciones para el uso de dicha solución en dicho procedimiento.
16. Cantidad terapéuticamente eficaz de un complejo de torio-227 y complejante que se dirige a las partes blandas, para ser usado en el tratamiento de enfermedad de partes blandas en un sujeto mamífero, en donde dicha
- 20 cantidad eficaz es tal que al usarla se genera *in vivo* una cantidad aceptablemente no mielotóxica de radio-223 por desintegración nuclear del torio-227 administrado, y en donde el torio-227 está conjugado a un complejante de direccionamiento, en donde el complejante comprende un resto de direccionamiento con bioafinidad, en donde dicho resto de direccionamiento es uno que sirve para dirigir el complejo a las partes blandas a tratar, excluidos los osteótrofos, liposomas y anticuerpos o fragmentos de anticuerpo conjugados a folato y en donde la cantidad
- 25 terapéuticamente eficaz de torio-227 es de al menos 25 kBq/kg.

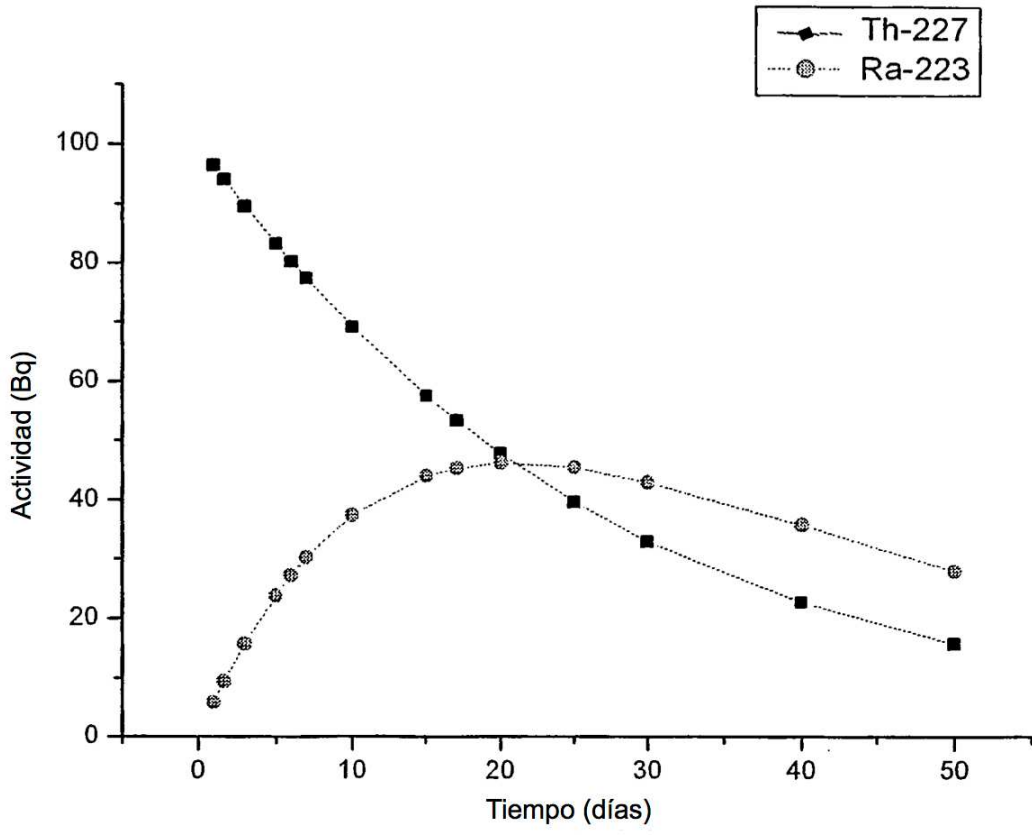


Figura 1