
Octrooiraad



[10] A **Terinzagelegging** [11] **7801908**

Nederland

[19] NL

[54] **Selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing, voorzien van een thiol als stabilisator**

[51] Int Cl² C07C163/00, A61K29/00, A61K43/00

[71] Aanvrager N V Philips' Gloeilampenfabrieken te Eindhoven

[74] Gem. Ir R A. Bijl c s
Internationaal Octrooibureau B V
Prof Holstlaan 6
5656 AA Eindhoven

[21] Aanvraag Nr 7801908

[22] Ingediend 21 februari 1978.

[32] --

[33] --

[31] --

[23] --

[61] --

[62] --

[43] Ter inzage gelegd 23 augustus 1979

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en)

N.V. Philips' Gloeilampenfabrieken

Selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing, voorzien van een thiol als stabilisator.

De uitvinding heeft betrekking op een selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing, alsmede op een werkwijze voor het stabiliseren van deze oplossing door toevoeging van een thiol en op een werkwijze voor het toepassen van deze oplossing.

Selenomethionine-⁷⁵Se is in de medische wetenschap van belang als radiodiagnosticum, bv. voor het opsporen van gezwellen; daarbij wordt selenomethionine-⁷⁵Se in oplossing gebruikt.

In de praktijk is gebleken, dat deze oplossingen gedurende opslag vrij spoedig een deel van hun radiochemische zuiverheid verliezen.

Voor toepassing van de oplossingen is het echter noodzakelijk dat de radiochemische zuiverheid in elk geval gehandhaafd blijft op een niveau boven 90%. Bij bewaren van een selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing blijkt evenwel een onaanvaardbare vermindering van de radiochemische zuiverheid op te treden, niet alleen bij enigszins verhoogde temperatuur maar ook reeds bij kamertemperatuur.

Het is bekend, dat men een selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing tegen oxidatieve afbraak kan stabiliseren door toevoegen van 2-aminoethaanthiol.

Zo wordt een product in de handel gebracht, dat een waterige oplossing van selenomethionine-⁷⁵Se is en waaraan 2-aminoethaanthiol als antioxidant is toegevoegd.

Het is in de praktijk noodzakelijk selenomethionine-⁷⁵Se oplossingen te steriliseren. Dit gebeurt gewoonlijk onder invloed van warmte, nl. ten minste 20 minuten bij 121°C.

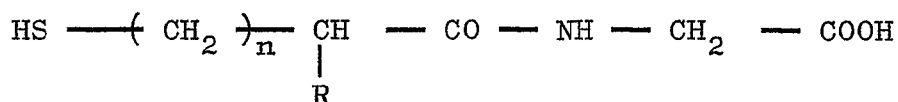
Er werd nu verrassenderwijs gevonden, dat

7801908

PHN 9054

men de radiochemische zuiverheid van een selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing, zelfs na sterilisatie op 121°C, langdurig kan handhaven op een voor de praktijk aanvaardbaar niveau door een thiol toe te voegen van de formule

5



waarin n 0 of 1 is, en

wanneer n = 0 is, R een methylgroep voorstelt, en

wanneer n = 1 is, R een glutamylgroep voorstelt.

10

De voor dit doel geschikte thiolen volgens de uitvinding zijn α-mercaptopropionylglycine en glutathion.

15

Gebleken is dat de stabiliserende werking, dwz. het handhaven van de radiochemische zuiverheid van de selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing, zowel van α-mercaptopropionylglycine als van glutathion beter is dan van 2-aminoethaanthiol.

20

Het gebruik van glutathion als stabilisator heeft tevens het voordeel, dat deze verbinding een lichaamseigen stof is. Bovendien is gebleken, dat een selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing niet verkleurt bij de hierboven aangegeven warmtesterilisatie, wanneer α-mercaptopropionylglycine of glutathion als stabilisator aanwezig is. Dit is verrassend omdat thiolen in het algemeen zeer oxidatiegevoelige verbindingen zijn.

25

De goede bestendigheid van de bovengenoemde thioverbindingen tegen warmtesterilisatie wordt nog eens onderstreept door de volgende experimenten.

30

Oplossingen van 1% van α-mercaptopropionylglycine en glutathion in water (pH7) werden gedurende 20 minuten op 121°C verwarmd. Chromatografie (detectie met jodiumdamp) leverde voor beide thiolen slechts één component op met dezelfde Rf waarde als het uitgangsmateriaal. Een nauwkeuriger methode ter bepaling van de stabiliteit gedurende warmtesterilisatie

7801908

PHN 9054

is het bepalen van de jodiumconsumptie voor en na sterilisatie. De volgende resultaten werden verkregen met 1 ml thioloplossingen:

thiol	hoeveelheid	consumptie aan 0,05 N I ₂ in ml	
		voor sterilis.	na sterilis.
α-mercaptopropionglycine	10 mg	1.22	1.13
id.	75 mg	8.80	8.55
glutathion	117 mg	7.05	6.55

10 Uit deze resultaten blijkt dat onder de aangegeven condities hooguit een zeer geringe oxidatie van de onderzochte thiolen optreedt.

15 Het te gebruiken thiol wordt als zodanig of als een oplossing in water aan de selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing toegevoegd, in een hoeveelheid van 0.1 tot 30 mg per ml van de selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing.

20 De volgens de uitvinding gestabiliseerde selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing kan, zelfs na langdurige opslag onder wisselende temperaturen, zonder problemen als diagnosticum worden gebruikt.

25 Gebleken is, dat het verdelingspatroon van de radioactiviteit over de relevante organen niet significant verschilt bij gebruik van een gestabiliseerde selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing in vergelijking met een ongestabiliseerde. Dit ligt niet zonder meer voor de hand, omdat een dergelijke hoeveelheid thiol de opname van selenomethionine-⁷⁵Se in het doelorgaan gemakkelijk zou kunnen verstoren. De conclusie is dan ook gerechtvaardigd, dat de diagnostische kwaliteit van het preparaat niet ongunstig beïnvloed wordt door toevoeging van α-mercaptopropionylglycine of glutathion.

De uitvinding zal hierna aan de hand van

7801908

PHN 9054

de volgende uitvoeringsvoorbeelden nader worden toegelicht.

VOORBEELD 1

Aan een oplossing van 100 mg selenomethionine-⁷⁵Se, verkregen zoals beschreven in de Nederlandse ter inzage gelegde octrooi-aanvraag 6908609 ten name van Aanvraagster, in 1200 ml fysiologische zoutoplossing, met een stralingsactiviteit van 600 millicurie, werden de in onderstaande tabel aangegeven equimolaire hoeveelheden thiol toegevoegd.

Van deze oplossingen werd na sterilisatie bij 121°C het verloop van de radiochemische zuiverheid bepaald na bewaren bij 22°C.

De resultaten zijn in de onderstaande tabel weergegeven. De weergegeven getallen zijn het rekenkundig gemiddelde van telkens 2 waarden, bepaald met behulp van een papierchromatografische analysemethode beschreven in British Pharmacopoeia 1973.

stabilisator	hoeveelheid (in mg/ml)	radiochem. zuiverheid in % na dagen			
		0	17	40	121
α-mercaptopropionyl-glycine	9	97.0	94.9	95.6	93.1
2-aminoethaanthiol (bekend)	6	97.7	90.0	87.9	88.7
blanko	-	96,1	74,5	76,4	63,0

VOORBEELD 2

Op overeenkomstige wijze als in voorbeeld 1 werd de stabiliteit van selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossingen bij 20 en 50°C bepaald. De radiochemische zuiverheid werd behalve met de in voorbeeld 1 aangegeven methode uit de British Pharmacopoeia (B.P.) ook bepaald volgens Cohen et al., Int. J. Appl. Radiat. and Isotopes 22 (1971), 569-74.

7801908

PHN 9054

	stabilisator		radiochem. zuiverheid in % nadagen bewaren bij 50°C			
	gehalte per 0,5 mCi (in mg/ml)		0		47	
			B.P.	Cohen	B.P.	Cohen
5	-	0	97.6	97.2	86.0	83.9
	α -mercapto- propionglycine	3	97.3	96.8	94.8	95.0
	id	9	98.1	98.2	95.9	97.0
	id	27	98.0	98.4	96.3	96.2
	glutathion	5	97.7	97.9	93.3	95.2
10	id	10	98.4	98.5	93.4	96.1
	id	20	98.3	98.5	94.6	94.9

	stabilisator		radiochem. zuiverheid in % nadagen bewaren bij 20°C					
	gehalte per 0,5mCi (in mg/ ml)		0		35		141	
			B.P.	Cohen	B.P.	Cohen	B.P.	Cohen
15	-	0	95.5	98.4	84.3	86.0	61.5	35.3
	α -mercapto- propionglycine	3	95.4	95.7	94.0	93.8	93.5	92.9
	id	9	97.3	97.4	94.6	95.2	91.8	94.5
20	id	27	96.8	96.9	93.4	95.0	92.6	94.6
	glutathion	5	97.4	97.1	95.0	92.1	90.4	93.6
	id	20	97.1	97.6	95.9	94.5	95.1	91.3
	id	80	97.4	98.4	94.1	94.2	96.2	91.4

VOORBEELD 3

25 Onderzoek naar het verdelingspatroon van de radioactiviteit over de relevante organen met een selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing gestabiliseerd met α -mercaptopropionylglycine.

30 Cavia's werden verdeeld in groepen van 4 proefdieren. Aan alle proefdieren werd een hoeveelheid selenomethionine-⁷⁵Se in oplossing intraveneus toegediend, overeenkomend met een voor humane toediening gebruikelijke

7801908

PHN 9054

dosis van ongeveer $4\mu\text{Ci}$ per kg lichaamsgewicht. Respectie-
 5 vijk 1, 2, 6 en 24 uren na de injectie werden van telkens
 1 groep proefdieren de relevante organen verwijderd. De
 radioactiviteit van deze organen werd gemeten met een Packard
 autogammaspectrometer.

De verkregen resultaten werden gebruikt om voor ieder van de
 verwijderde organen het percentage van de ingespoten dosis
 selenomethionine- ^{75}Se per gram orgaangewicht te berekenen.
 10 Ter vergelijking werd eenzelfde proef uitgevoerd, waarbij
 proefdieren werden ingespoten met een ongestabiliseerde
 selenomethionine- ^{75}Se oplossing.

De resultaten zijn in onderstaande tabel weergegeven; de
 getallen zijn voorzien van de berekende standaarddeviaties.

15 Percentage selenomethionine- ^{75}Se per gram
 orgaangewicht.
 Tijdsinterval tussen injectie en verwijde-
 ring van de organen.
 A = selenomethionine- ^{75}Se
 20 B = id., gestabiliseerd met α -mercaptopro-
 pionylglycine.

organen/weefsels	tijdsinterval van 1 uur	
	A	B
pancreas	1.93 \pm 0.74	2.02 \pm 0.63
lever	1.32 \pm 0.06	1.37 \pm 0.07
25 galblaas + inh.	0.38 \pm 0.23	0.37 \pm 0.23
dunne darmen	0.68 \pm 0.31	0.76 \pm 0.12
blinde darm	0.15 \pm 0.04	0.17 \pm 0.01
dikke darmen	0.23 \pm 0.06	0.24 \pm 0.04
bloed	0.11 \pm 0.00	0.12 \pm 0.02
30 nieren	0.83 \pm 0.07	0.87 \pm 0.16
spierweefsel	0.18 \pm 0.01	0.16 \pm 0.03

7801908

PHN 9054

		Percentage selenomethionine- ⁷⁵ Se per gram orgaangewicht. Tijdsinterval tussen injectie en verwijdering van de organen. A = selenomethionine- ⁷⁵ Se B = id., gestabiliseerd met α-mercaptopropionylglycine.	
		tijdsinterval van 2 uren	
	organen/weefsels	A	B
5			
10	pancreas	1.85 ± 0.28	2.07 ± 0.48
	lever	1.43 ± 0.33	1.41 ± 0.09
	galblaas + inh.	0.42 ± 0.15	0.39 ± 0.02
	dunne darmen	1.02 ± 0.16	1.00 ± 0.17
	blinde darm	0.27 ± 0.03	0.25 ± 0.04
15	dikke darmen	0.37 ± 0.04	0.34 ± 0.05
	bloed	0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.01
	nieren	1.19 ± 0.09	1.16 ± 0.04
	spierweefsel	0.17 ± 0.01	0.18 ± 0.04
		tijdsinterval van 6 uren	
	organen/weefsels	A	B
20	pancreas	1.60 ± 0.44	1.21 ± 0.40
	lever	0.92 ± 0.12	0.94 ± 0.19
	galblaas + inh.	0.34 ± 0.22	0.27 ± 0.15
	dunne darmen	0.72 ± 0.06	0.85 ± 0.15
25	blinde darm	0.20 ± 0.04	0.19 ± 0.03
	dikke darmen	0.33 ± 0.03	0.34 ± 0.10
	bloed	0.25 ± 0.03	0.25 ± 0.04
	nieren	1.21 ± 0.10	1.16 ± 0.16
	spierweefsel	0.15 ± 0.02	0.16 ± 0.05
		tijdsinterval van 24 uren	
	organen/weefsels	A	B
30	pancreas	0.80 ± 0.14	0.67 ± 0.06
	lever	0.95 ± 0.08	0.96 ± 0.09
	galblaas + inh.	0.16 ± 0.04	0.19 ± 0.08
35	dunne darmen	0.53 ± 0.05	0.49 ± 0.05

7801908

PHN 9054

5

Percentage selenomethionine-⁷⁵Se per gram orgaangewicht
 Tijdsinterval tussen injectie en verwijdering van de organen.
 A = selenomethionine-⁷⁵Se
 B = id., gestabiliseerd met α-mercaptopropionylglycine.

10

organen/weefsels	tijdsinterval van 24 uren(vervolg)	
	A	B
blinde darm	0.23 ± 0.03	0.23 ± 0.04
dikke darmen	0.28 ± 0.03	0.27 ± 0.03
bloed	0.21 ± 0.03	0.17 ± 0.01
nieren	1.05 ± 0.06	0.98 ± 0.09
spierweefsel	0.14 ± 0.02	0.18 ± 0.01

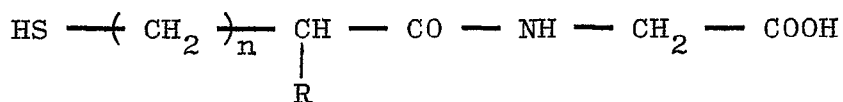
15

Bovenstaande reeksen van getallen A en B verschillen niet significant, zodat de conclusie kan worden getrokken, dat de toevoeging van α-mercaptopropionylglycine aan een oplossing van selenomethionine-⁷⁵Se het verdelingspatroon over de diverse onderzochte organen niet beïnvloedt.

20

CONCLUSIES

1. Selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing, die voorzien is van een thiol als stabilisator, met het kenmerk, dat de oplossing een thiol bevat van de formule



25

waarin n 0 of 1 is, en
 wanneer n = 0 is, R een methylgroep voorstelt, en
 wanneer n = 1 is, R een glutamylgroep voorstelt.

30

2. Oplossing volgens conclusie 1, gestabiliseerd door verhitten gedurende ten minste 20 minuten op een temperatuur van 121°C.

3. Oplossing volgens conclusie 1 of 2, met het kenmerk, dat de oplossing een thiol bevat van de in conclusie 1 aangegeven formule in een hoeveelheid van 0,1 tot

7801908

PHN 9054

30 mg per ml oplossing.

4. Oplossing volgens conclusie 1-3, met het kenmerk, dat de oplossing als thiol α -mercaptopropionyl-glycine bevat.

5

5. Oplossing volgens conclusie 1-3, met het kenmerk, dat de oplossing als thiol glutathion bevat.

10

6. Werkwijze voor het stabiliseren van een selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing door toevoeging van een thiol, met het kenmerk, dat men als thiol een verbinding gebruikt van de in conclusie 1 aangegeven formule.

7. Werkwijze voor het toepassen van een selenomethionine-⁷⁵Se bevattende oplossing als radiodiagnosticum, met het kenmerk, dat men een oplossing gestabiliseerd volgens één der conclusies 1-5 gebruikt.

7801908