

5 Klinische Untersuchungen mit VSOP-C184 an gesunden Probanden: Erste Ergebnisse zur Verträglichkeit und zur Wirksamkeit als Kontrastmittel für die MR-Angiographie der Koronararterien

5.1 Einleitung

5.1.1 Begründung für die Durchführung der ersten klinischen Prüfungen mit VSOP-C184

Nach der präklinischen Charakterisierung eines Arzneimittels wird anhand der tierexperimentell ermittelten Verträglichkeit und Wirksamkeit entschieden, ob eine weitere klinische Entwicklung möglich und gerechtfertigt ist (siehe auch Kapitel 3.2). In diese Entscheidung geht auch ein, ob für diese Substanz ein medizinischer Bedarf besteht und ob aus Sicht des Herstellers unter Berücksichtigung der Konkurrenzsituation Chancen für eine Vermarktung bestehen. Im Fall von VSOP-C184 wurde nach Abschluss der präklinischen Charakterisierung (Kapitel 4.6) die Entscheidung getroffen, eine weitere klinische Entwicklung zu beginnen. In dieser ersten klinischen Prüfung werden im Allgemeinen an gesunden Probanden lediglich Daten zur Verträglichkeit, Sicherheit, Pharmakokinetik und Pharmakodynamik des Arzneimittels erhoben, wobei mehrere Dosierungen sowie ein Placebo eingesetzt werden. Eine solche erste Prüfung am Menschen wird als klinische Prüfung der Phase I bezeichnet. Im vorliegenden Falle des MR-Kontrastmittels VSOP-C184 sollten in dieser klinischen Phase I zusätzlich zu den oben genannten Daten Wirksamkeitsparameter untersucht werden. Dies erfolgte in Form der Bestimmung von Relaxationszeiten aus Blutproben, die vor und zu verschiedenen Zeitpunkten nach Injektion abgenommen wurden. Die Prüfung der eigentlichen Wirksamkeit als MR-Kontrastmittel mittels MR-Bildgebung ist im Rahmen einer solchen Prüfung nicht möglich, da die engmaschige Kontrolle der Vitalparameter und die engmaschige Entnahme von Blutproben eine Lagerung und Untersuchung des Probanden im MR-Tomographen verbietet. Andererseits ist es wünschenswert, frühzeitig, möglichst am gesunden Probanden, Daten zur Wirksamkeit in der MR-Bildgebung zu erheben. Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn die zu untersuchende Substanz, hier VSOP-C184, bezüglich der physikalischen und pharmakokinetischen Eigenschaften nicht mit einer anderen, bekannten Substanz vergleichbar ist und bezüglich der

Hauptindikation, der MR-Angiographie der Koronararterien, auch methodisch Neuland beschritten wird. Daher wurde im Anschluss an die klinische Phase I Prüfung eine klinische Phase IB Prüfung zur Untersuchung der Wirksamkeit von VSOP-C184 in der MR-Angiographie der Koronararterien an einem kleinen Kollektiv gesunder Probanden durchgeführt. In dieser klinischen Phase IB sollten zusätzlich zu den seinerzeit für die Kontrastmittel verstärkte MR-Angiographie der Koronararterien üblichen MR-Sequenzen weitere Sequenzen und Akquisitionsstrategien im Sinne einer Sequenzoptimierung geprüft werden. Die folgenden Unterkapitel beschreiben diese beiden klinischen Prüfungen I und IB.

5.1.2 Allgemeine Angaben zur Organisation der klinischen Prüfungen

Die hier vorgestellten klinischen Studien der Phase I und IB zu der Substanz VSOP-C184 wurden in Übereinstimmung mit den Richtlinien der entsprechenden Deklaration von Helsinki, dem deutschen Arzneimittelgesetz sowie in Übereinstimmung mit den GCP Richtlinien durchgeführt (ICH Topic E6). Im Rahmen dieser klinischen Prüfungen hatte das private Forschungslabor Ferropharm GmbH die Rolle des Sponsors inne. Der Sponsor hat wiederum die Firma 3ClinicalResearch GmbH, eine CRO für klinische Prüfungen mit Niederlassung in der Charité, mit der Organisation und Durchführung der klinischen Prüfungen beauftragt. Die eigene Arbeitsgruppe war im Rahmen der beiden klinischen Prüfungen seitens des CRO als Subinvestigator beauftragt worden. Die klinisch-chemischen Untersuchungen wurden in dem zertifizierten Labor W+T in Berlin im Auftrag von 3ClinicalResearch GmbH durchgeführt. Schließlich war die Apotheke der Charité im Auftrag von Ferropharm GmbH in die Herstellung des klinischen Prüfmusters eingebunden.

Im Einzelnen wurden von den aufgezählten Parteien im Rahmen dieser beiden klinischen Prüfungen folgende Aufgaben erfüllt: Ferropharm GmbH hat den von ihr entwickelten Wirkstoff für das klinische Prüfpräparat als Megluminsalz des entsprechenden nanopartikulären Eisenoxid-Citrat-Komplexes synthetisiert, an die Apotheke der Charité geliefert und diese mit der Herstellung des klinischen Prüfpräparates VSOP-C184 beauftragt. Die Herstellung des klinischen Prüfpräparates seitens der Apotheke umfasste in diesem Fall unter anderem die Zugabe von Hilfsstoffen, Einstellen des pH-Wertes, Ampullierung, Hitzesterilisierung und Etikettierung der Ampullen. 3ClinicalResearch hat im Rahmen ihres Auftrages in Zusammenarbeit mit der eigenen Arbeitsgruppe die Untersuchungsprotokolle erstellt, die administrativen Tätigkeiten insbesondere im Dialog mit den zuständigen Behörden erledigt, die klinische Prüfung durchgeführt und die

Auswertung inklusive Biometrie ausgeführt. Die im Rahmen der beiden klinischen Prüfungen anfallenden Blut- und Urinproben wurden im Auftrag von 3ClinicalResearch bei W+T gemäß den GLP Bestimmungen analysiert und die Ergebnisse für den Auftraggeber dokumentiert. In der eigenen Arbeitsgruppe wurden Untersuchungen durchgeführt, die durch 3ClinicalResearch oder ein anderes Unternehmen nicht hätten geleistet werden können und durch die speziellen Eigenschaften von VSOP-C184 bedingt waren. Diese sind die Eigenschaft eines MR-Kontrastmittels mit Wirkung auf die Blut-Relaxationszeiten und der Eisengehalt des Arzneimittels. Diese Untersuchungen umfassten unter anderem in der klinischen Phase I Prüfung die ex vivo Relaxometrie und Eisengehalts-Analyse von Blutproben und in der klinischen Phase IB Prüfung die MR-Bildgebung mit Entwurf des Untersuchungsprotokolles sowie Durchführung und Auswertung der MR-Untersuchungen. Während dieser beiden klinischen Phase I Prüfungen waren für die Sicherheit der Probanden und für die Beurteilung der klinischen und paraklinischen Parameter ärztliche Mitarbeiter (Prüfärzte) von 3ClinicalResearch und die eigene Person als mit verantwortlicher Prüfarzt zuständig. Letztendlich hat 3ClinicalResearch abschließend eine Dokumentation erstellt, die für den Fall der Beantragung der Zulassung von VSOP-C184 als MR-Kontrastmittel für eine Einreichung bei den Zulassungsbehörden geeignet ist.

Die in den folgenden beiden Kapiteln zur klinischen Phase I und IB dargestellten Methoden und Ergebnisse zu den pharmakologischen Aspekten stimmen inhaltlich mit den entsprechenden Passagen der abschließenden Prüfberichte der Firma 3ClinicalResearch überein, die im Dialog mit der eigenen Arbeitsgruppe erstellt wurden. Die Passagen zu den MR-bezogenen Methoden und Ergebnissen (Relaxometrie, MR-Bildgebung) wurden von der eigenen Arbeitsgruppe erstellt und der Firma 3ClinicalResearch für die Einbindung in die Prüfberichte zur Verfügung gestellt.

5.2 *Klinische Phase I* **(*Verträglichkeit, Sicherheit, Pharmakokinetik,*** ***Blutrelaxometrie*)**

5.2.1 **Material und Methoden**

5.2.1.1 **Prüfsubstanz, Dosierungen und Applikation**

Die Prüfsubstanz der Charge VSOP-C184 070501 (siehe Kapitel 3.6.2) wurde in drei Dosierungen eingesetzt. Die verwendete Placebo-Substanz bestand aus einer wässrigen, 10%igen Mannitol Lösung (Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland) und wurde in den drei Dosisgruppen mit entsprechenden Volumina verabreicht. Die insgesamt 18 Probanden wurden in 3 Gruppen á 6 Probanden aufgeteilt. Von den 6 Probanden je Gruppe wurden durch ein Randomisierungsverfahren 5 Probanden der Prüfsubstanz und 1 Proband dem Placebo zugeordnet: Gruppe A – 0,015 mmol Fe/kg, Gruppe B – 0,045 mmol Fe/kg, Gruppe C, 0,075 mmol Fe/kg. Die intravenöse Injektion erfolgte in der Gruppe A als Infusion über 10 min (etwa 2 mL/10 min), in den Gruppen B und C als Bolus-Injektion (etwa 1 mL/s). Die Wahl der drei Dosierungen erfolgte auf der Basis der bislang durchgeführten präklinischen Untersuchungen zur Wirksamkeit, die gezeigt haben, dass eine Dosis von ca. 0,04 – 0,05 mmol Fe/kg einen optimalen signalsteigernden Effekt in der Equilibrium MR-Angiographie aufweist (vergleiche Kapitel 4.3 und 4.5) (231, 249). Die Wahl der Dosierungen für die klinische Phase I sollte neben der wahrscheinlich klinisch einsetzbaren Dosis eine Dosis (0,015 mmol Fge/kg) beinhalten, die eine Unterdosierung darstellt, sowie eine Dosis (0,075 mmol Fe/kg), die einer Überdosierung entspricht.

5.2.1.2 **Studiendesign und Probanden**

Diese Studie wurde als randomisierte, einseitig verblindete, Placebo kontrollierte Verträglichkeitsstudie mit ansteigenden Dosierungen an 18 gesunden männlichen Probanden in 3 Gruppen konzipiert. Das Studienprotokoll war zuvor von einer unabhängigen Ethikkommission begutachtet und positiv bewertet worden. Die Studie wurde in Übereinstimmung mit den Richtlinien der entsprechenden Deklaration von Helsinki, dem Deutschen Arzneimittelgesetz sowie in Übereinstimmung mit den GCP-Richtlinien durchgeführt (ICH-Topic E6).

Einschlusskriterien: Es wurden nur Probanden in die Studie eingeschlossen, die folgende Einschlusskriterien erfüllten: Männliche Probanden kaukasischer Rasse, Alter von 18 bis 45 Jahren, guter Gesundheitszustand, wie er sich nach Ansicht des Prüfarztes

aus Anamnese, körperlicher Untersuchung, Vitalparametern, 12-Kanal EKG und Laborparametern ergab, des Weiteren negativer HIV-Ab, Hbs-Ab und HCV-Ab-Test; negativer Atemtest für Alkohol und negatives Ergebnis einer Screening Untersuchung bezüglich Drogen im Urin. Raucher wurden nur eingeschlossen, wenn sie weniger als 10 Zigaretten/Tag konsumierten, der Bodymaßindex war auf 18 – 33 kg/m² beschränkt.

Ausschlusskriterien: Die Ausschlusskriterien entsprachen den Standards für eine klinische Phase I Prüfung an gesunden Probanden. In Hinblick auf die Besonderheit der hier verwendeten eisenhaltigen Prüfmedikation wurden insbesondere Probanden mit Störungen des Eisenstoffwechsels, z.B. vermehrte Eisenspeicherung, ausgeschlossen.

Alle 18 Probanden gaben nach ausführlicher schriftlicher und mündlicher Information über die Art der Prüfung ihre schriftliche Einverständniserklärung, und zwar vor Beginn der Screening Untersuchungen. Ein Überblick über den Studienablauf ist in Tabelle 5.1 wiedergegeben.

5.2.1.3 Sicherheitspharmakologie

5.2.1.3.1 Unerwünschte Wirkungen

Unerwünschte Wirkungen wurden im Zeitraum von einem Tag vor bis zum Abschluss der Nachbeobachtung 13 Tage nach Applikation (entspricht Studientag 14) der Studienmedikation erfasst, unabhängig von der Annahme einer möglichen Kausalität in Bezug auf die Applikation der Studienmedikation. Als unerwünschte Wirkungen wurden Änderungen des körperlichen Befindens bzw. von Ergebnissen der körperlichen Untersuchung sowie von Laborparametern im Vergleich zu den entsprechenden Ausgangsbefunden gewertet, sofern diese Änderungen als klinisch relevant eingestuft wurden. Registrierte unerwünschte Wirkungen wurden gemäß gängiger Kriterien in schwerwiegend und nicht schwerwiegend kategorisiert sowie nach ihrer Intensität und ihrem Ausgang bzw. einer Behandlungsbedürftigkeit unterteilt. Des Weiteren wurde in erwartete und unerwartete unerwünschte Wirkungen unterteilt.

Tabelle 5.1: Studienablauf: n = 18 gesunde männliche Probanden; 3 Gruppen (A,B,C); pro Gruppe erhielten 5 der 6 Probanden die Prüfsubstanz, ein Proband erhielt Placebo

Tag	Einschluss -21 bis -2	Studientag						
		-1	1	2	3	4	8	14
Einverständnis	X							
Demographische Werte (mit Gewicht, Größe)	X							
Vorgeschichte	X							
Klinische Untersuchung	X		X					X
EKG								
- 12 Kanal	X		3	X				X
- Langzeit			24 h					
- Telemetrie EKG			6 h					
Vitalfunktionen (BD, HF, Temperatur) ¹	X		7	X	X	X	X	X
Sauerstoffsättigung ²			X					
Labor								
- Hämatologie, klinische Chemie, Urinanalyse	X		X	X			X	X
- Serologie (HbsAg, anti-HCV, anti-HIV)	X							
- Transferrin (IFCC), Eisen (total), Ferritin, Eisenbindungskapazität ³	X		3	X	X	X	X	X
- IgG, IgM, IgA, Komplement C3, Komplement C4, Proteinelektrophorese	X		X	X			X	X
Urindrogenscreen, Alkoholatetest	X	X						
Kinetik: Blutabnahmen ⁴			9	X				
Injektion des Prüfpräparates ⁵			X					
Kontrolle unerwünschter Wirkungen		X	X	X	X	X	X	X
Ambulatorische Kontrollen	X				X	X	X	X
Stationär:								
Tage			X					
Nächte		X	X					

¹ BD und HF: Vor Injektion, 20, 40, 60 min und 2h, 4h, 8h, 24h nach Injektion; Körpertemperatur vor Injektion, 60 min, 4h und 24h nach Injektion;

² kontinuierlich, Beginn vor Injektion und bis 6 Stunden nach Injektion

³ vor Injektion und nach 2, 4, 24 h (Studientag 2), 48 h (Studientag 3), und an den Studientagen 4, 8, 14

⁴ Blutabnahmen für Eisenkonzentration und Relaxationszeiten: vor, 1, 2, 5, 15, 30, 45, 60 min, 4, 24 h, 2x 2 ml. Ende der Injektion = Zeitpunkt 0.

⁵ Drei Dosisgruppen: Gruppe A – 0.015 mmol Fe/kg – 0.03ml/ kg über ca. 10 min (ca. 2 ml/10 min), intravenöse Infusion

Gruppe B – 0.045 mmol Fe/kg – 0.09ml/ kg (ca. 1 ml/s) intravenöse Bolus Injektion

Gruppe C – 0.075 mmol Fe/kg – 0.15ml/ kg (ca. 1 ml/s) intravenöse Bolus Injektion

5.2.1.3.2 Körperliche Untersuchung, Vitalparameter, EKG und Oximetrie

Neben der Erfassung von unerwünschten Wirkungen waren weitere Parameter der Sicherheitspharmakologie die körperliche Untersuchung, Vitalparameter, EKG und die Oximetrie sowie Änderungen der Laborparameter (siehe unten, Kapitel 5.2.1.3.3), sofern sie als relevant für die Sicherheit erachtet wurden (Tabelle 5.1).

Körperliche Untersuchung: Die körperliche Untersuchung umfasste die Beurteilung folgender Organsysteme: Augen, Ohren, Nase und Hals, Herz, periphere Gefäße, Lunge, muskuloskelettaler Apparat, neurologisches und psychiatrisches System, Abdomen, Lymphknoten und die Haut.

Vitalparameter: Es wurden der systolische und diastolische Blutdruck sowie die Herzfrequenz mit einer automatisierten oszillometrischen Methode (BOSO medicus PC, OSO GmbH, Jungingen, Deutschland) untersucht, nachdem der entsprechende Proband in Rückenlage für mindestens 5 Minuten in Ruhe war.

EKG: EKGs wurden mittels 12-Kanal Ableitung (I, II, III, aVR, aVL, aVF, V₁-V₆) mit einem automatisierten System (MAC 3000, Marquette Hellige, Freiburg, Deutschland) über eine Dauer von 10 s mit einer Geschwindigkeit von 50 mm/s aufgezeichnet, wobei der Proband in Rückenlage positioniert war und sich zuvor mindestens 5 min ausruhen konnte. Zusätzlich wurde über 24 h nach Injektion der Studienmedikation das EKG telemetrisch (Clinical Information Center, CIC Softwareversion 1.5, Marquette Hellige, Freiburg, Deutschland) erfasst. Die EKGs wurden qualitativ durch einen Arzt des Auftragsforschungsinstitutes für klinische Prüfungen nach den Kategorien normal/auffällig bewertet. Die Herzfrequenz und die relevanten Intervalle im EKG, dies sind das PQ-, QRS-, QT-Intervall sowie das mit der Herzfrequenz korrigierte QT_c Intervall (gemäß der Bazett-Formel) wurden automatisch bestimmt.

Oximetrie: Die Oximetrie Messungen wurden mit einem Patienten-Monitor Marquette-3000 (Marquette Hellige, Freiburg, Deutschland) durchgeführt.

5.2.1.3.3 Laboruntersuchungen

Die Zeitpunkte für die Blutentnahmen für Klinische Chemie, Hämatologie, und die Untersuchungen zur Pharmakokinetik und Pharmakodynamik sind in Tabelle 5.1 aufgelistet. Die Analysen der Sicherheitspharmakologie wurden in dem zertifizierten klinisch-chemischen Labor W+T (Berlin, Deutschland) durchgeführt.

Klinische Chemie: Folgende Parameter wurden untersucht: Gesamteiweiß, Albumin, Gesamtbilirubin, Cholesterin, Triglyzeride, Harnsäure, Harnstoff, Kreatinin, Glukose, ASAT, ALAT, γ GT, aP, LDH, CPK, Elektrolyte (Natrium, Kalium, Kalzium).

Hämatologie: Es wurden folgende Parameter untersucht: rotes und weißes Blutbild einschließlich Differentialblutbild, Thrombozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, MCV, MCH, MCHC.

Gerinnungsparameter: Es wurden die Prothrombinzeit und die aPTT untersucht.

Urinanalyse: Es wurden mittels Teststreifen folgende Parameter analysiert: pH, Leukozyten, Nitrit, Proteine, Glukose, Ketone, Urobilinogen, Bilirubin, Sediment. Falls sich hier pathologische Befunde ergaben, wurden weiterführende Untersuchungen auf Blutbestandteile, Zellen, Zylinder etc. durchgeführt.

5.2.1.4 Pharmakodynamik

Um den Einfluss der VSOP-C184 Administration auf den Eisenstoffwechsel zu untersuchen, wurden Transferrin, Ferritin und die totale Eisenbindungskapazität (TEBK) bestimmt.

5.2.1.5 Pharmakokinetik

In Proben von Blut, Plasma und Serum wurde die Eisenkonzentration quantitativ mittels Atomemissionsspektrometrie (Unicam 969 AE Spektrometer, Nicolet Instruments GmbH Offenbach, Deutschland) bestimmt. Diese Untersuchungen erfolgten nach chemischem Aufschluss der Proben mit Salpetersäure. Von denselben Blut-, Plasma- und Serumproben wurden relaxometrische Messungen (T_1 - und T_2 -Relaxationszeiten) bei einer Feldstärke von 0,94 T durchgeführt, entsprechend einer Protonenresonanzfrequenz von 40 Mhz und bei 37° C unter Verwendung eines Bruker Minispek MQ 40 Relaxometers (Bruker, Karlsruhe, Deutschland) (siehe Kapitel 4.2.1). Die Bestimmung der Eliminationskinetik von VSOP-C184 erfolgte auf zwei Weisen. Zum einen wurde die Eliminationskinetik direkt anhand der Eisenkonzentrationen in Serum und Plasma bestimmt, zum anderen indirekt anhand des zeitlichen Verlaufes der T_1 - und T_2 -Relaxationsraten in Vollblut, Plasma und Serum. Mit Hilfe eines Programmes zur Datenanalyse (DeltaGraph Professional Vers. 4.5, DeltaPoint Inc, Monterey, CA, USA) wurde an diese Daten eine Anpassung mit einer monoexponentiellen Funktion gemäß folgender Formel durchgeführt (66): $y = (a * (\exp(-b * x))) + c$. Hierbei ist y die Konzentration [mg/ml] bzw. die Relaxationsrate [1/s] zum Zeitpunkt x [min]. Der Faktor a skaliert mit dem entsprechenden Wert nach Einstellung des Equilibrium im Blut. Die Elimination wird somit durch die Eliminationskonstante b charakterisiert, wobei c für die Leerwerte der Eisenkonzentration bzw. der Relaxationsraten steht. In die monoexponentielle Anpassung wurden lediglich die Daten bis 4 Stunden p.i. einbezogen, da nach visueller Inspektion der Kurven nur dieser Zeitraum einem klinisch relevanten Bereich von Relaxationsratenveränderungen entspricht. Somit wurde keine terminale

Eliminationshalbwertszeit im pharmakokinetischen Sinn, sondern eine funktionelle Eliminationshalbwertszeit $t_{1/2}$ anhand folgender Formel errechnet (66): $t_{1/2} = (\ln 2)/b$.

5.2.1.6 Statistik

Diese Phase I Prüfung (first-in-man) wurde als explorative Studie ohne bestätigende Statistik geplant. Alle Analysen sind deskriptiv. Für die Probanden, die mit dem Wirkstoff untersucht wurden, wurden alle Ergebnisse nach Dosisgruppe getrennt tabelliert, die Daten der Probanden, die Placebo erhielten, wurden gepoolt. Für die Statistik wurde das Programm SAS (Statistical Analysis System, SAS-Institute, Cary, NC, USA) verwendet.

5.2.2 Ergebnisse

5.2.2.1 Demographische Daten

Insgesamt erhielten 18 männliche gesunde Probanden mit einem Alter zwischen 19 und 43 Jahren die Studienmedikation bzw. das Placebo. Das mittlere Alter der Probanden betrug $32 \pm 8,1$ Jahre, die mittlere Körpergröße war 181 ± 6 cm, das mittlere Körpergewicht $79,8 \pm 8,8$ kg und der mittlere Bodymaßindex war $24,3 \pm 2,6$ kg/m². Die demographischen Daten der Probanden entsprachen den Einschlusskriterien und waren zwischen den 3 Dosisgruppen vergleichbar. Die klinische Anamnese, einschließlich eventueller, zuvor durchgeführter chirurgischer Eingriffe, ergab keine relevanten vorangegangenen Erkrankungen, die die Sicherheit eines Probanden oder den Abschluss der Studie gefährdet hätten. Die körperliche Untersuchung zum Zeitpunkt des Screening und zu den Folgeterminen zeigte keine klinisch relevanten Befunde. Die Untersuchung von Urinproben hinsichtlich Drogen und der Alkoholatemtest sowie auch die Hepatitis- und HIV-Serologie waren zum Zeitpunkt der Screening Untersuchung bei allen Probanden negativ.

5.2.2.2 Sicherheitspharmakologie

5.2.2.2.1 Unerwünschte Wirkungen

Während dieser klinischen Phase I Prüfung traten keine schwerwiegenden unerwünschten Wirkungen auf, keiner der Probanden musste ersetzt werden, keiner der Probanden wurde auf Grund von unerwünschten Wirkungen aus der Studie genommen. Im Rahmen der Studie traten insgesamt 26 nicht schwerwiegende unerwünschte Wirkungen bei 11 (61 %) der 18 Probanden auf (Tabelle 5.2). Von diesen 26 unerwünschten Wirkungen traten 4 (15,3 %) in Gruppe A auf, 8 (30,7 %) in Gruppe B und 14 (53,8 %) in Gruppe C, 2 unerwünschte Wirkungen traten bei einem Probanden auf, der Placebo erhalten hatte.

Alle 4 unerwünschten Wirkungen in Gruppe A wurden als nicht durch die Injektion von VSOP-C184 verursacht angesehen. Dem gegenüber wurde bei einer von 8 unerwünschten Wirkungen in Gruppe B und bei 12 von 14 unerwünschten Wirkungen in Gruppe C ein möglicher Zusammenhang mit der Injektion von VSOP-C184 gesehen. Siebzehn der unerwünschten Wirkungen waren von geringer Intensität, 4 der unerwünschten Wirkungen waren von mittlerer und 5 unerwünschte Wirkungen waren von ausgeprägter Intensität. Die 5 unerwünschten Wirkungen mit ausgeprägter Intensität traten bei drei Probanden auf. Eine unerwünschte Wirkung ausgeprägter Intensität wurde in Gruppe A beobachtet und durch den Prüfarzt nicht als durch die Studienmedikation verursacht beurteilt. Hierbei handelte es sich um eine Nierenkolik, die 6 Tage nach der Injektion der Studienmedikation auftrat. Zwei Wochen nach Verabreichung der Studienmedikation wurde bei diesem Probanden ein Harnleiterkonkrement diagnostiziert. Die weiteren 4 ausgeprägten unerwünschten Wirkungen betrafen Blutdruckabfall, Schwindel und Atemnot sowie Magenkrämpfe. Diese traten bei 2 Probanden der Gruppe C auf.

5.2.2.2.2 Körperliche Untersuchung, Vitalparameter, EKG und Oximetrie

Im Rahmen der Verlaufskontrollen zeigten sich bei den körperlichen Untersuchungen keine klinisch signifikanten Änderungen im Vergleich zur Untersuchung vor Applikation der Studiensubstanz.

Für die Vitalparameter wurde bei dem Probanden Nr. 15 (Gruppe C) 50 Minuten nach Injektion der Studienmedikation ein Abfall des Blutdruckes auf 80/44 mm Hg beobachtet. Dieser Blutdruckabfall wurde als unerwünschte Wirkung mit ausgeprägter Intensität bewertet. Dieser Proband zeigte zum selben Zeitpunkt einen Anstieg der Herzfrequenz auf 124/Minute. Beide Veränderungen bildeten sich nach wenigen Minuten ohne Medikation vollständig zurück. Des Weiteren wurden bei den Probanden in keiner der 3 Dosisgruppen signifikante Veränderungen der Vitalparameter im Vergleich zum Ausgangswert beobachtet. In der Ausgangsuntersuchung waren die untersuchten EKG-Parameter im Normbereich, nach Injektion der Studienmedikation ergaben sich keine relevanten Veränderungen. Lediglich Proband Nr. 01 hatte eine geringfügige und klinisch irrelevante Veränderung der QRS-Zeit am Tag 14.

Tabelle 5.2 Auflistung der unerwünschten Wirkungen

Proband Nummer/ Gruppe	Unerwünschte Wirkung	Zeitpunkt Beginn nach Injektion (h:min oder Tage)	Dauer (h:min oder Tage)	Stärke	Beziehung zum Prüfpräparat
001 / A	Keine				
002 / A	1. Kopfschmerz 2. Verstopfte Nase	9 Tage 9 Tage	7 Tage 7 Tage	mild mild	kein Bezug kein Bezug
003 / A	Keine				
004 / A	1. Nierenkolik 2. Erkältungssymptome	6 Tage 11 Tage	8 Tage 10 Tage	stark mäßig	kein Bezug kein Bezug
005 / P	Keine				
006 / A	Keine				
007 / B	1. Wärmegefühl im Körper 2. Weicher Stuhl 3. Blähungen	00:00 24:00 24:00	00:03 15:00 15:00	mild mild mäßig	möglicher Bezug kein Bezug kein Bezug
008 / B	Keine				
009 / P	1. Durchfall 2. Blähungen	35:30 35:30	24:00 24:00	mild mild	kein Bezug kein Bezug
010 / B	Keine				
011 / B	1. Erkältungssymptome 2. Kopfschmerzen	49:45 49:45	14 Tage 08:30	mild mäßig	kein Bezug nicht bewertbar
012 / B	1. Kopfschmerzen	-02:30	10:12	mild	kein Bezug
013 / C	1. Kältegefühl im Arm während Injektion des Prüfpräparates 2. Durchfall	00:00 34:00	00:01 29:00	mild mild	möglicher Bezug kein Bezug
014 / P	Keine				
015 / C	1. Kopfschmerzen 2. Druckgefühl und Taubheits- gefühl in der Hand 3. Kalter Schweiß 4. Blutdruckabfall 5. Fingerspitzenödem an beiden Händen	00:25 00:36 00:30 00:50 01:00	00:10 01:04 00:10 00:05 00:40	mild mild mild stark mäßig	möglicher Bezug möglicher Bezug möglicher Bezug möglicher Bezug möglicher Bezug
016 / C	1. Kribbeln in der linken Hand 2. Schweregefühl der Beine	01:00 06:00	05:00 01:00	mild mild	möglicher Bezug möglicher Bezug
017 / C	1. Schwindel 2. Kurzatmigkeit 3. Magenkrämpfe	00:45 00:45 00:45	00:25 00:35 00:35	stark stark stark	möglicher Bezug möglicher Bezug möglicher Bezug
018 / C	1. Verstopfte Nase 2. Blähungen	- 03:00 01:00	9 Tage 10:00	mild mild	kein Bezug möglicher Bezug

A = 0,015 mmol Fe/kg

B = 0,045 mmol Fe/kg

C = 0,075 mmol Fe/kg

P = Placebo

Die Oximetrie zeigte keine relevanten Veränderungen, mit Ausnahme von Proband Nr. 17, bei dem die Sauerstoffsättigung nach der beschriebenen Episode von Kurzatmigkeit auf 89 % absank. Dieses Ereignis wurde als unerwünschte Wirkung gewertet (Tabelle 5.2). Diese unerwünschte Wirkung bildete sich innerhalb weniger Minuten und ohne Medikation vollständig zurück.

5.2.2.2.3 Laboruntersuchungen

Die hämatologischen und klinisch-chemischen Parameter waren im Wesentlichen innerhalb der Normwerte oder zeigten nur geringfügige Abweichungen von den Normbereichen. Es traten bei keinem der 18 Probanden klinisch signifikante Veränderungen der genannten Laborparameter auf. Am Tag 14 hatte Proband Nr. 006 einen erhöhten CK-Wert (596,0 U/L, normal: 55 – 170 U/L) und einen erhöhten GOT-Wert (78,8 U/L, normal: 17 – 59 U/L). Eine Kontrolle nach nochmals 8 Tagen ergab einen nur leicht erhöhten CK-Wert von 183,7 U/L, der GOT-Wert war in den Normbereich zurückgekehrt (39,6 U/L). Dieser Proband betrieb zu der entsprechenden Zeit, gegen Ende des Beobachtungszeitraumes, intensives Bodybuilding, so dass die erhöhten CK- und GOT-Werte in erster Linie auf diesen Umstand zurückzuführen waren. Insgesamt erhöhten sich die Blut-Eisenwerte unmittelbar nach der Injektion der Prüfsubstanz und erreichten 2 Wochen nach der Injektion wieder Normalwerte.

5.2.2.3 Pharmakodynamik

Die Ferritinwerte lagen vor sowie nach Applikation von VSOP-C184 innerhalb der Normwerte. Allerdings zeigt sich dosisabhängig ein Anstieg der Ferritinwerte im Zeitraum von 2 – 7 Tagen nach Injektion auf maximal den doppelten Ausgangswert für die mittlere und die höchste Dosis (0.045 und 0.075 mmol Fe/kg). Für die Transferrinwerte und die Eisenbindungskapazität wurden keinerlei Änderungen durch die Applikation von VSOP-C184 bis zur höchsten Dosis von 0,075 mmol Fe/kg gefunden (Tabelle 5.3).

Tabelle 5.3: Transferrin- und Ferritinwerte sowie totale Eisenbindungskapazität (TEBK) im Plasma vor und nach i.v. Injektion von VSOP-C184 (die Tabelle ist in drei Abschnitte aufgeteilt).

Transferrin (*2,0-3,6 g/l)	Placebo	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C
Studientag				
Screen	2,53 ± 0,32	2,35 ± 0,26	2,39 ± 0,30	2,46 ± 0,32
prä (Tag 1)	2,30 ± 0,40	2,34 ± 0,31	2,15 ± 0,20	2,37 ± 0,20
2 h (Tag 1)	1,83 ± 1,07	2,38 ± 0,25	2,20 ± 0,23	2,36 ± 0,14
4 h (Tag 1)	2,32 ± 0,38	2,37 ± 0,36	2,13 ± 0,21	2,30 ± 0,11
Tag 2	2,46 ± 0,68	2,22 ± 0,34	2,24 ± 0,20	2,24 ± 0,19
Tag 3	2,77 ± 0,71	2,59 ± 0,26	2,36 ± 0,30	2,49 ± 0,11
Tag 4	2,68 ± 0,62	2,52 ± 0,20	2,35 ± 0,24	2,36 ± 0,10
Tag 8	2,70 ± 0,51	2,42 ± 0,44	2,31 ± 0,31	2,33 ± 0,16
Tag 14	2,47 ± 0,49	2,33 ± 0,38	2,20 ± 0,24	2,31 ± 0,25

Ferritin (*35-217 µg/ml)	Placebo	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C
Zeitpunkt				
Screen	88,10 ± 6,22	136,57 ± 67,33	69,01 ± 19,75	69,79 ± 49,92
prä (Tag 1)	71,44 ± 17,74	114,43 ± 85,06	63,80 ± 14,04	65,85 ± 51,82
2 h (Tag 1)	72,10 ± 22,71	113,06 ± 81,01	73,16 ± 19,32	81,45 ± 62,28
4 h (Tag 1)	72,35 ± 20,06	117,47 ± 84,49	69,45 ± 19,61	74,31 ± 53,20
Tag 2	73,41 ± 26,35	140,51 ± 80,26	116,54 ± 19,00	147,31 ± 53,44
Tag 3	96,94 ± 48,73	146,62 ± 73,15	158,30 ± 21,43	207,67 ± 74,14
Tag 4	72,27 ± 25,69	144,07 ± 81,39	165,21 ± 22,60	204,67 ± 59,92
Tag 8	66,65 ± 15,52	127,95 ± 76,96	150,29 ± 33,91	140,33 ± 48,56
Tag 14	65,12 ± 11,82	115,91 ± 71,15	106,82 ± 36,76	113,69 ± 69,46

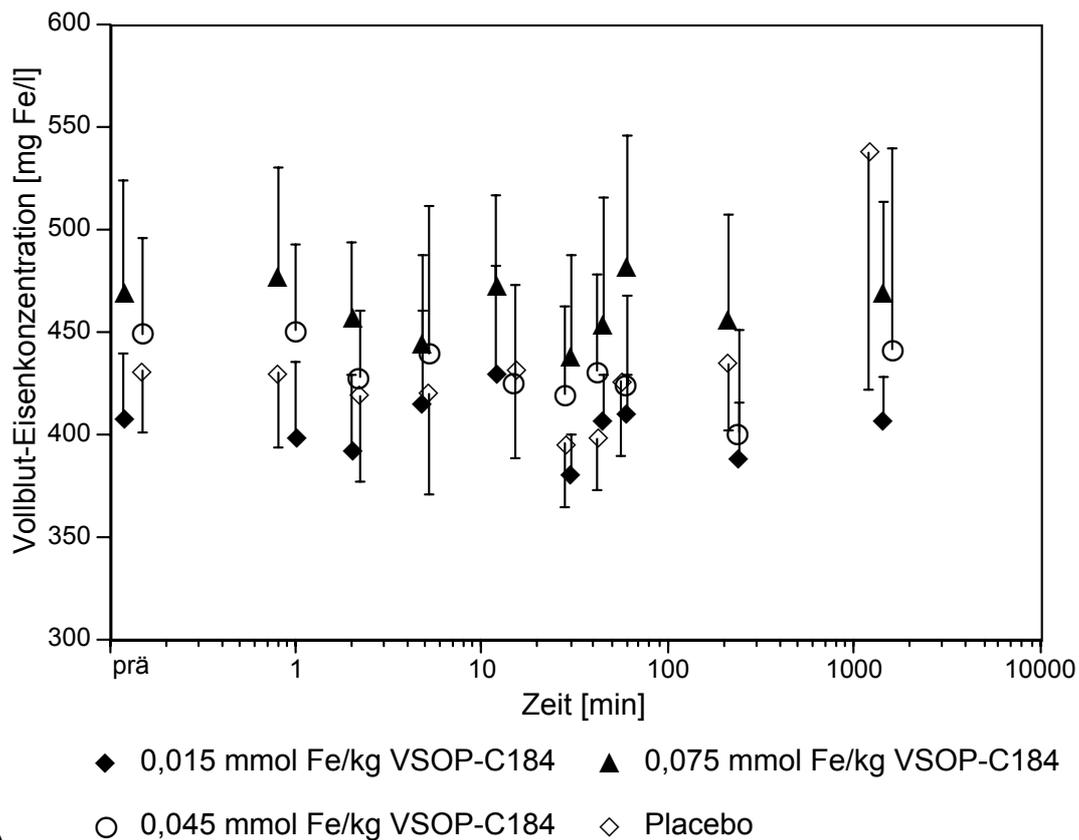
TEBK (*44,8-80,6 µmol/l)	Placebo	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C
Zeitpunkt				
Screen	68,23 ± 8,37	64,60 ± 9,65	64,06 ± 10,29	65,24 ± 5,33
prä (Tag 1)	59,03 ± 11,09	58,16 ± 6,10	56,82 ± 5,80	60,22 ± 4,86
2 h (Tag 1)	62,23 ± 15,04	60,98 ± 8,16	75,78 ± 8,37	87,06 ± 5,70
4 h (Tag 1)	62,77 ± 14,36	59,64 ± 8,51	64,10 ± 10,49	63,64 ± 9,23
Tag 2	62,23 ± 10,17	59,34 ± 6,57	56,12 ± 5,18	55,48 ± 4,24
Tag 3	71,67 ± 18,83	69,24 ± 8,86	62,34 ± 9,88	67,92 ± 6,19
Tag 4	70,00 ± 9,06	66,28 ± 8,96	63,70 ± 7,91	67,02 ± 8,38
Tag 8	64,37 ± 9,30	66,32 ± 11,76	60,44 ± 7,39	61,32 ± 6,84
Tag 14	63,37 ± 12,76	62,62 ± 8,25	59,72 ± 8,41	61,62 ± 3,65

Anmerkungen: Dosierungen: A = 0,015 mmol/kg, B = 0,045 mmol/kg, C = 0,075 mmol/kg
 *Referenzbereich des Labores
 Zeitangabe entspricht Studientag, Tag nach Injektion = Studientag – 1

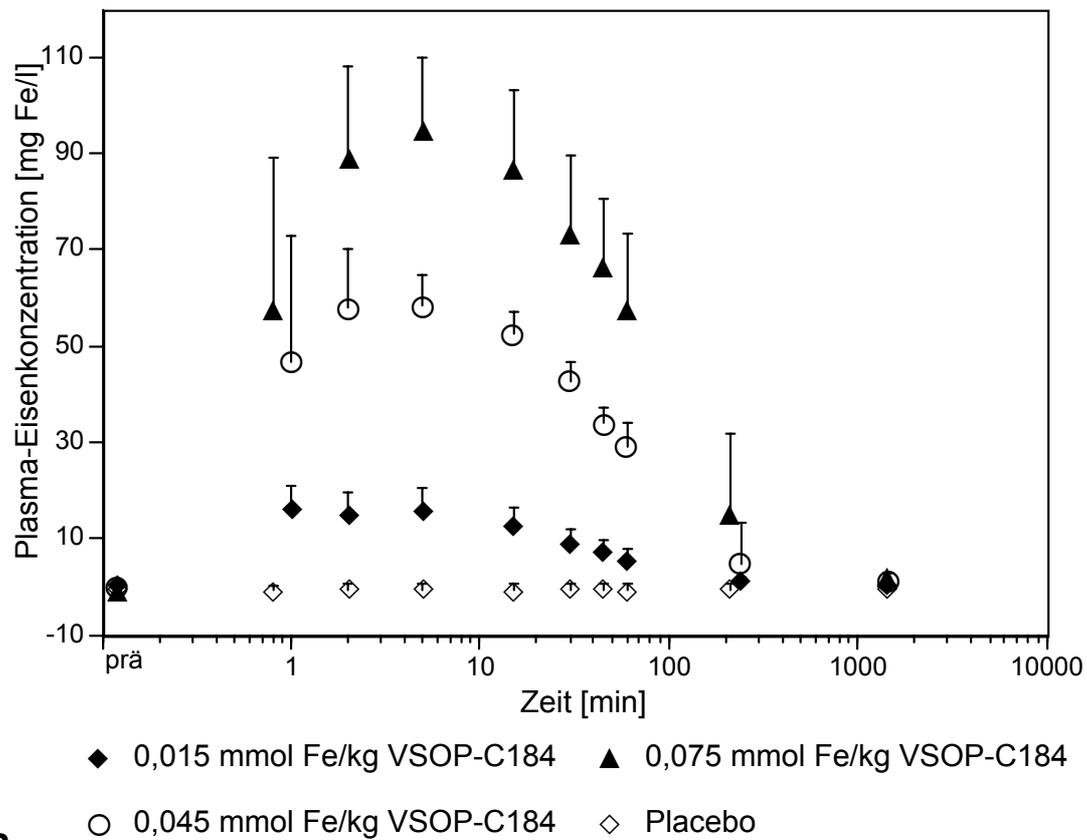
5.2.2.4 Pharmakokinetik

Im Vollblut zeigt die Eisenkonzentration nach Injektion von VSOP-C184 zu keinem Zeitpunkt eine signifikante Änderung im Vergleich zur Ausgangsuntersuchung. Im Plasma und im Serum führt die Injektion von VSOP-C184 zu einer signifikanten Steigerung der Eisenkonzentration. Die maximalen Konzentrationen werden im Zeitraum zwischen 2 und 5 min nach Injektion erreicht und zeigen eine Korrelation mit der applizierten Dosis. Hierbei unterscheiden sich die Dosisgruppen bei der maximal erreichten Konzentration signifikant. Die Eliminationshalbwertszeit beträgt 0,5 bis 1,5 Stunden (Abbildung 5.1, Tabelle 5.4).

Die T_1 - und T_2 -Relaxationszeiten zeigen in Vollblut, Plasma und Serum eine signifikante Reduktion gegenüber dem Ausgangswert bzw. der Placebogruppe (Abbildung 5.2 und Abbildung 5.3, Tabelle 5.5). Die minimalen Werte werden jeweils zwischen 2 und 5 min erreicht. Für Vollblut, Plasma und Serum unterscheiden sich die drei Dosisgruppen signifikant bezüglich der minimal erreichten T_1 - und T_2 -Relaxationszeiten.

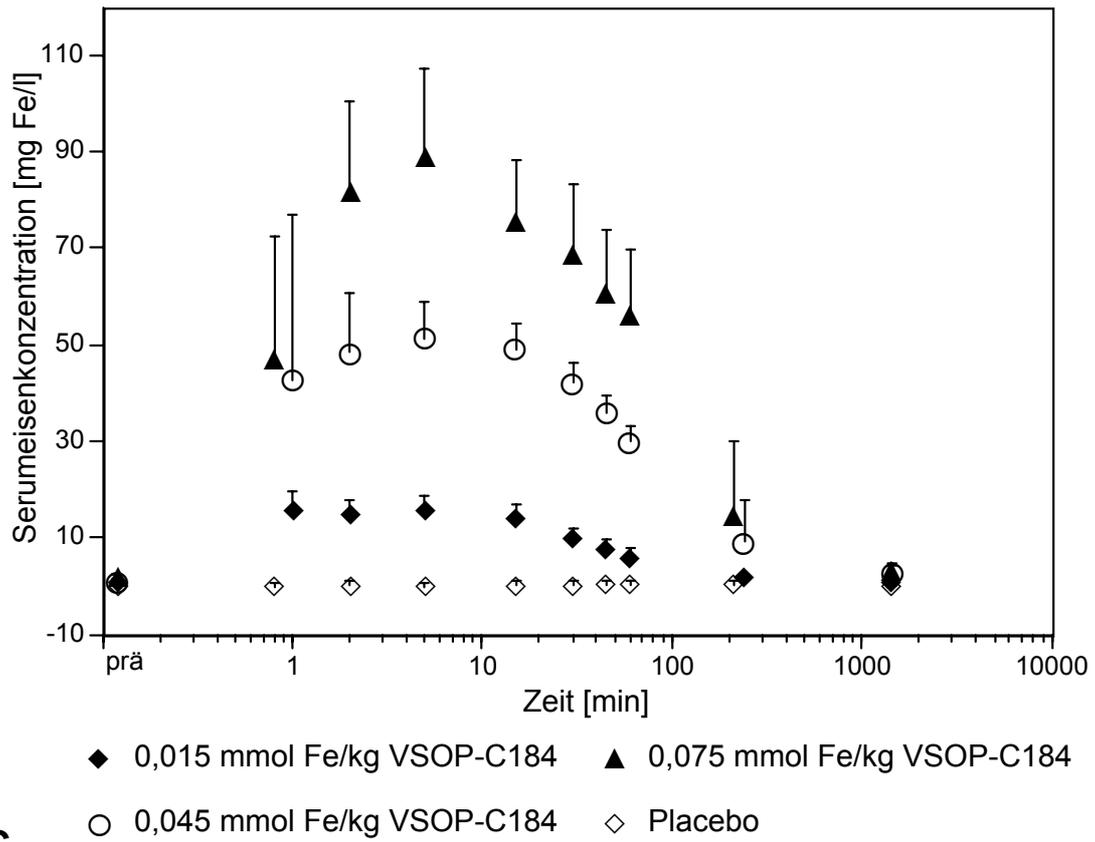


A



B

Abbildung 5.1: Fortsetzung und Legende auf der folgenden Seite



C

Abbildung 5.1: Eisenkonzentration vor und bis 24 h nach intravenöser Injektion von VSOP-C184 in Vollblut (A), Plasma (B) und Serum (C) für die drei verschiedenen Dosierungen sowie für die Placebo-Gruppe.

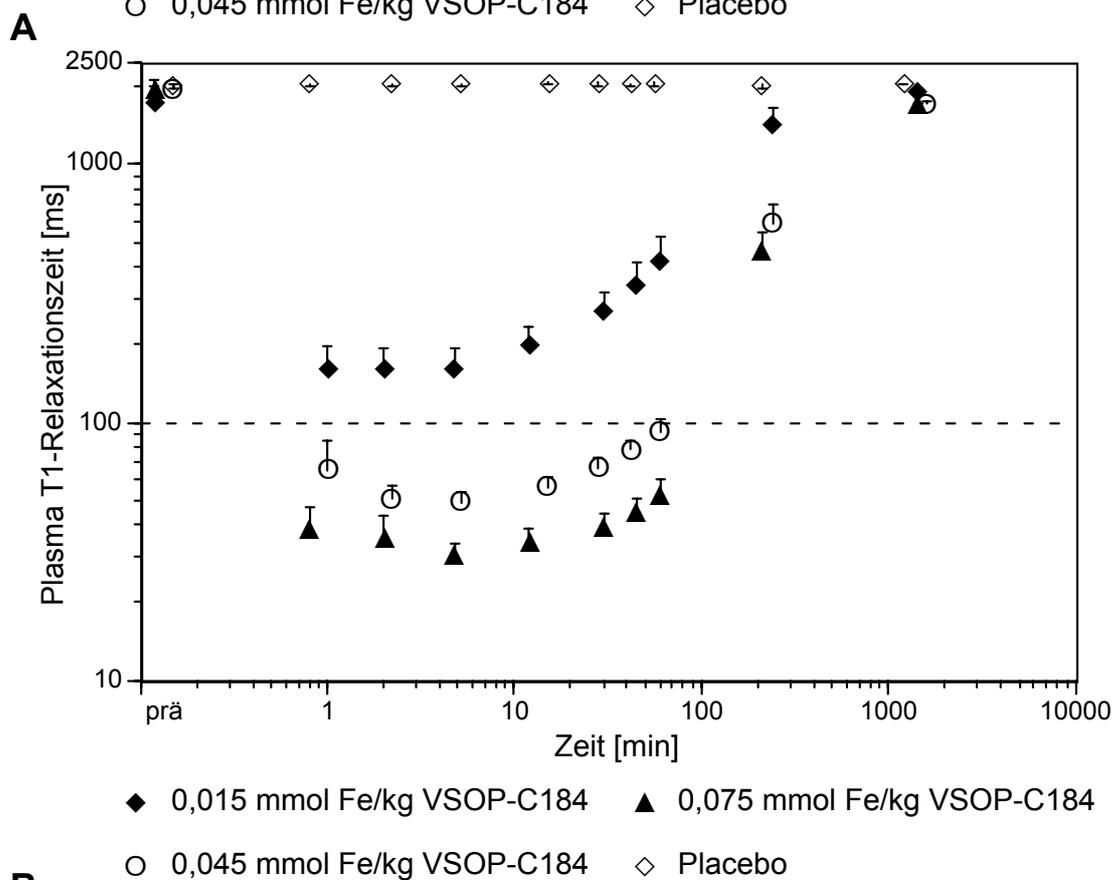
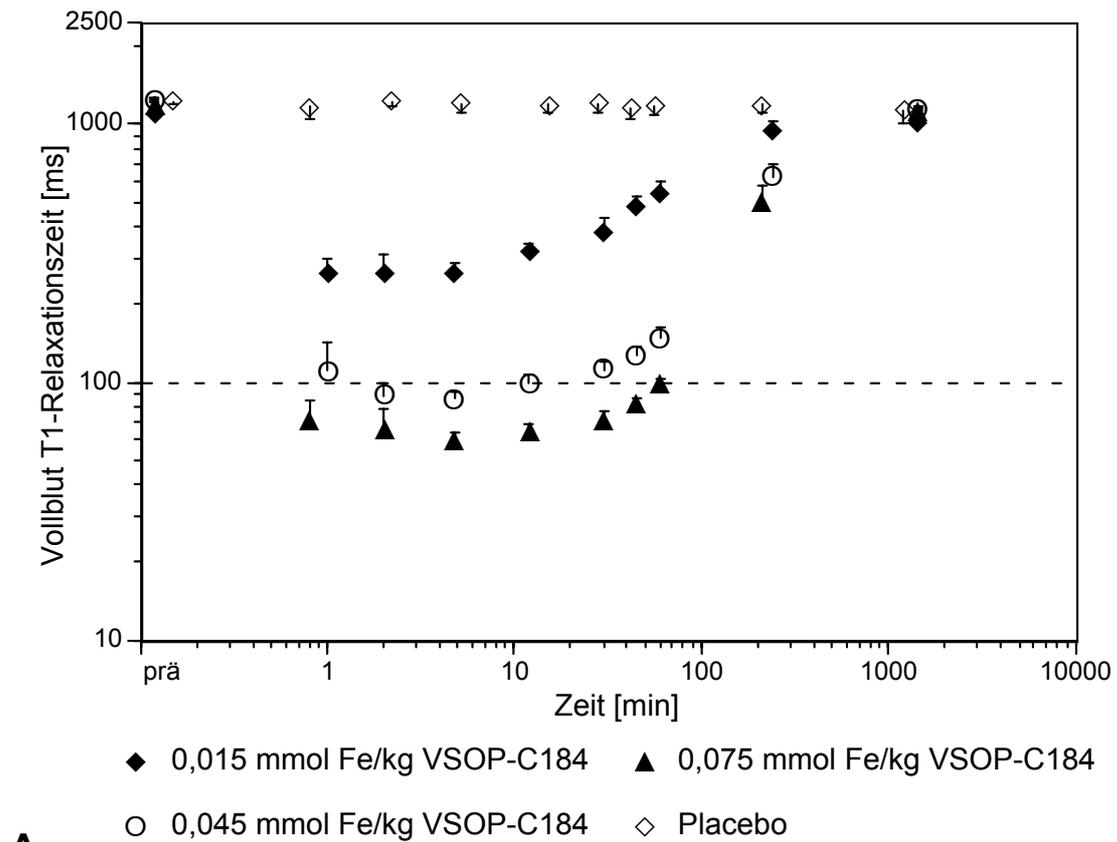
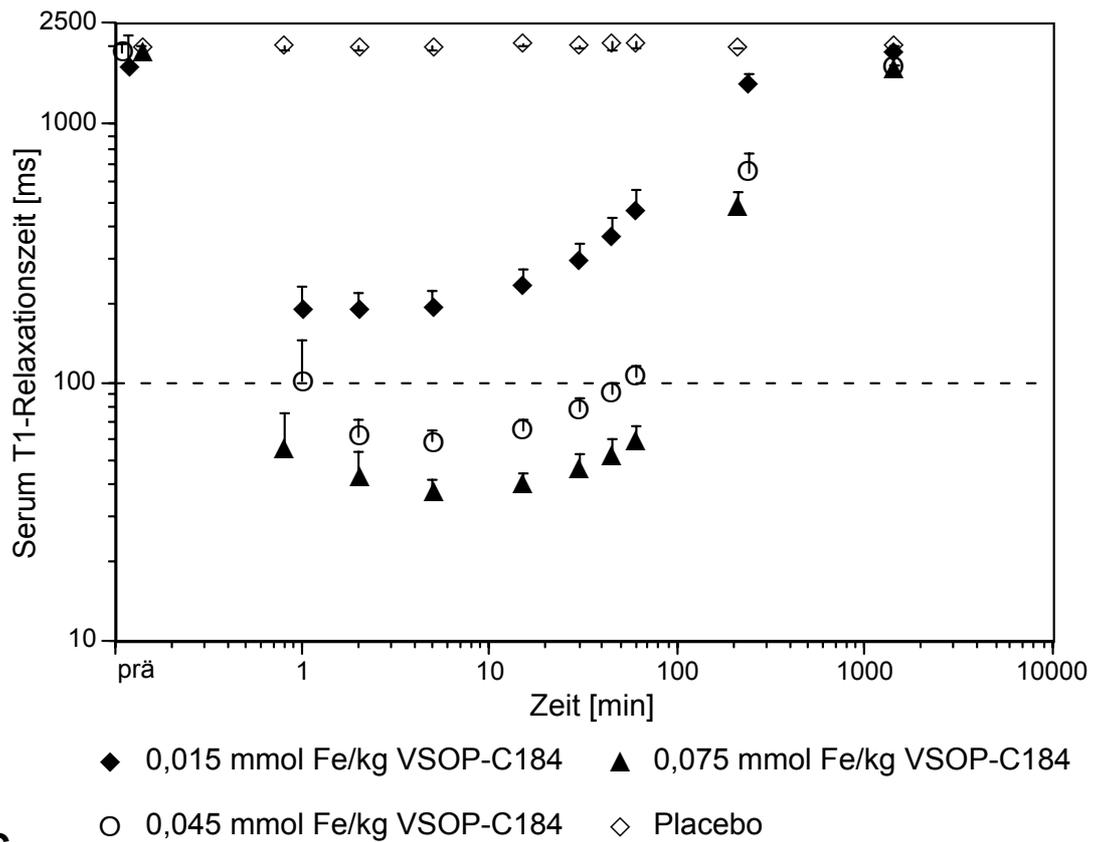


Abbildung 5.2: Fortsetzung und Legende auf der folgenden Seite



C

Abbildung 5.2: T_1 -Relaxationszeiten vor und bis 24 h nach intravenöser Injektion von VSOP-C184 in Vollblut (A), Plasma (B) und Serum (C) für die drei verschiedenen Dosierungen sowie für die Placebo-Gruppe. Die gestrichelte Linie repräsentiert eine T_1 -Relaxationszeit von 100 ms.

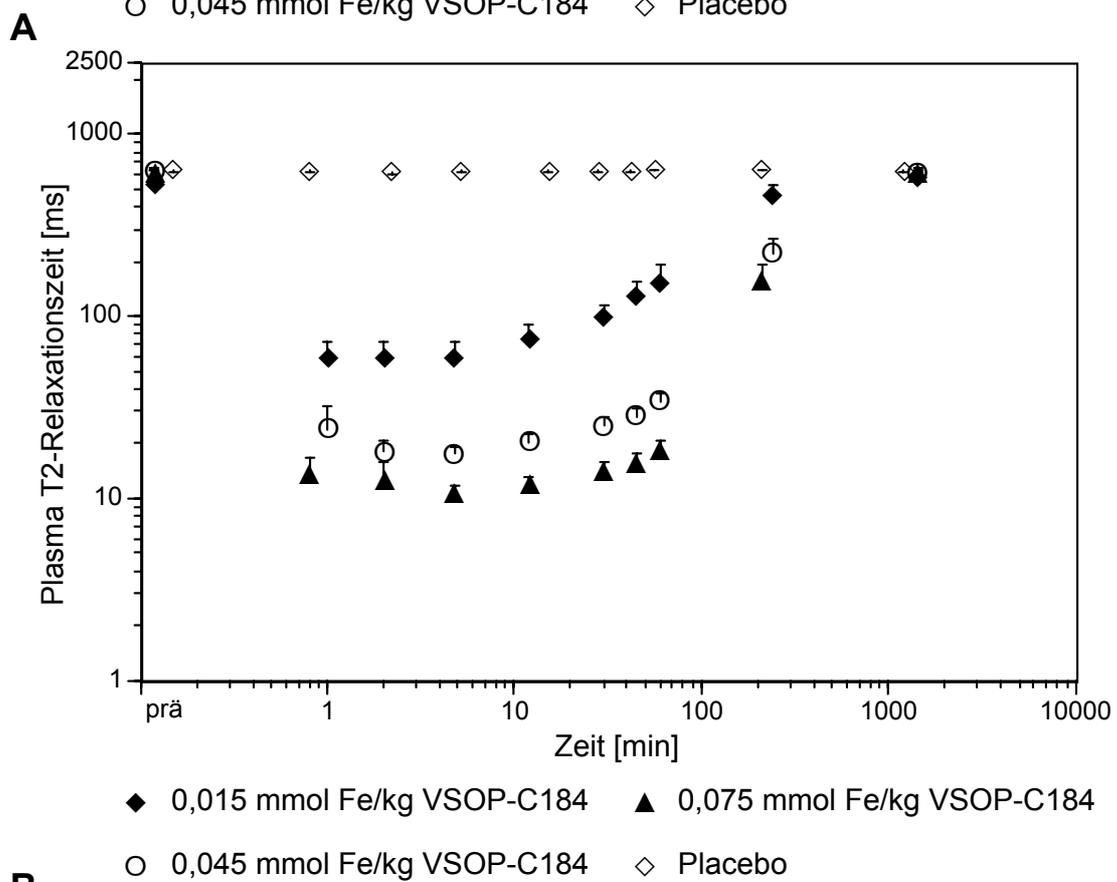
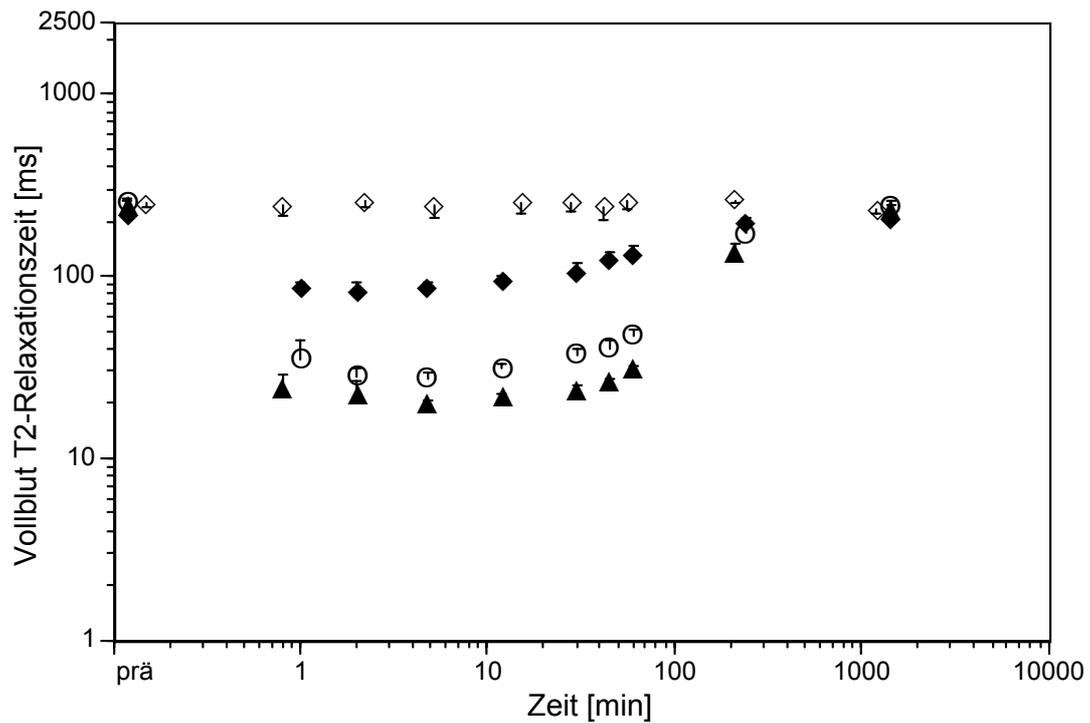
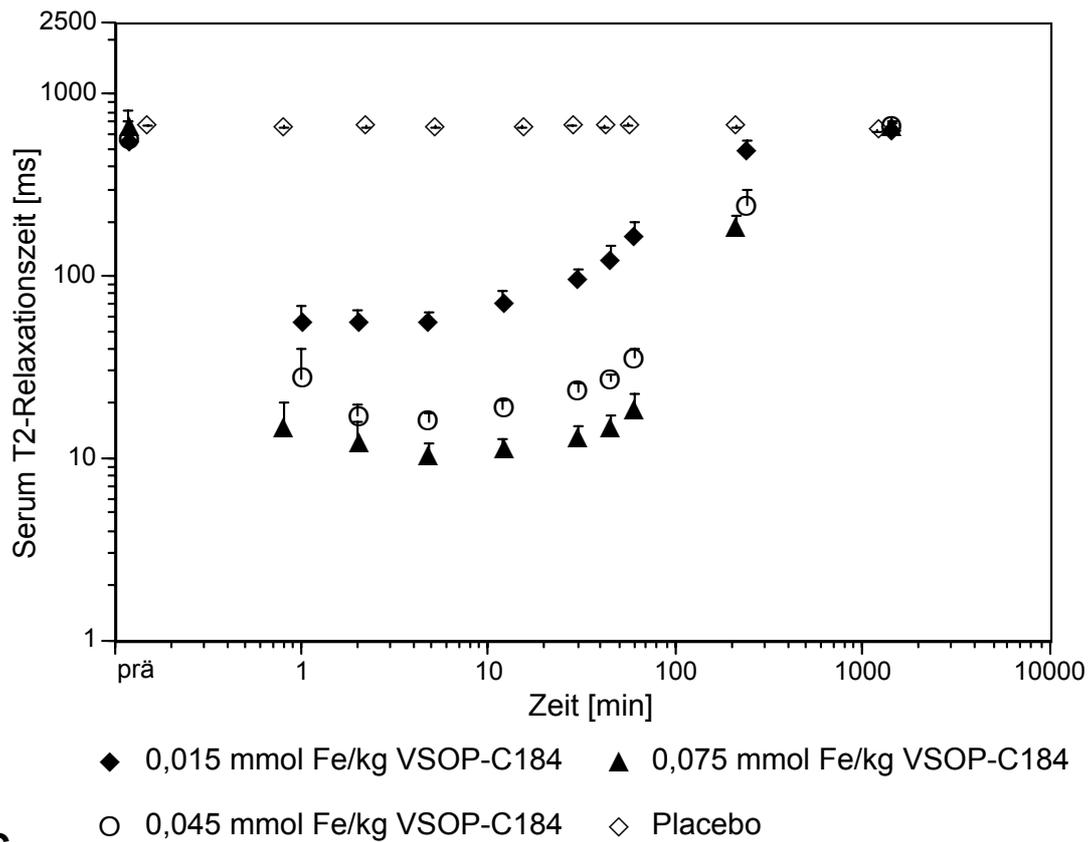


Abbildung 5.3: Fortsetzung und Legende auf der folgenden Seite



C

Abbildung 5.3: T_2 -Relaxationszeiten vor und bis 24 h nach intravenöser Injektion von VSOP-C184 in Vollblut (A), Plasma (B) und Serum (C) für die drei verschiedenen Dosierungen sowie für die Placebo-Gruppe.

Tabelle 5.4: Eliminationshalbwertszeit ($t_{1/2\beta}$) von Serum, Plasma und Vollblut nach Injektion von VSOP-C184, berechnet anhand von T_1 - und T_2 -Relaxationszeiten sowie mittels Bestimmung der Eisenkonzentrationen.

Dosierung [mmol Fe/kg]	$t_{1/2\beta}$ (Serum) [min]			$t_{1/2\beta}$ (Plasma) [min]			$t_{1/2\beta}$ (Vollblut) [min]	
	T_1	T_2	AES	T_1	T_2	AES	T_1	T_2
0,015	40 ± 8	33 ± 5	33 ± 5	36 ± 5	35 ± 4	34 ± 11	35 ± 6	52 ± 7
0,045	62 ± 4	50 ± 6	66 ± 9	59 ± 6	54 ± 5	54 ± 6	64 ± 8	59 ± 5
0,075	76 ± 12	71 ± 13	70 ± 10	68 ± 7	68 ± 8	65 ± 12	69 ± 8	74 ± 3

Bemerkung: Für die Berechnung der Halbwertszeiten ($t_{1/2}$) wurden die pharmakokinetischen Daten bis 4 Stunden nach Injektion von VSOP-C184 berücksichtigt. Die Halbwertszeiten entsprechen somit einer funktionellen und nicht der sogenannten terminalen Eliminationshalbwertszeit.

Tabelle 5.5 Ex-vivo Relaxationszeiten von Serum, Plasma und Vollblut 5 Minuten nach i.v. Injektion von VSOP-C184 am Menschen

Dosierung [mmol Fe/kg]	T₁-Relaxationszeit [ms]			T₂-Relaxationszeit [ms]		
	Serum	Plasma	Vollblut	Serum	Plasma	Vollblut
Placebo	1996,7 ± 55,1	2066,7 ± 57,7	1200,0 ± 104,4	667,9 ± 56,5	630,6 ± 19,4	245,8 ± 48,0
0,015	193,1 ± 35,8	162,2 ± 34,0	265,8 ± 28,9	56,5 ± 8,4	59,4 ± 13,5	87,2 ± 4,9
0,045	58,8 ± 7,4	49,1 ± 5,3	86,0 ± 7,4	15,9 ± 1,9	17,4 ± 1,9	27,5 ± 2,4
0,075	37,2 ± 5,9	30,4 ± 4,3	58,8 ± 5,4	10,3 ± 2,1	10,5 ± 1,2	19,6 ± 1,4

5.3 *Klinische Phase IB:*

Erste Wirksamkeitsprüfung für VSOP-C184 in der MR-Angiographie der Koronararterien

5.3.1 **Material und Methoden**

5.3.1.1 **Prüfsubstanz, Dosierung und Applikation**

In dieser ersten Wirksamkeitsprüfung für die MR-Angiographie der Koronararterien wurde, wie in der klinischen Phase I, die Charge VSOP-C184 050701 (Kapitel 3.6.2) in einer Dosis von 0,045 mmol Fe/kg eingesetzt. Diese Dosis wurde auf der Basis der präklinischen Untersuchungen mit Vorstufen zur Wirksamkeit der Substanz in der Equilibrium MR-Angiographie (Kapitel 4.3, (231)) und mit dem endgültigen Kandidaten (Kapitel 4.6.3.2) gewählt. Den Probanden wurde vor der Untersuchung ein antekubitaler venöser Zugang gelegt. Über diesen erfolgte die Applikation der Prüfsubstanz als manuelle Bolus-Injektion gefolgt von einer Nachinjektion von 20 ml NaCl, jeweils mit einer Injektionsrate von 1 ml/s.

5.3.1.2 **Studiendesign und Probanden**

Der hier dargestellte Studienabschnitt wurde als offene Studie mit einer Dosierung für die erste Beobachtung der Wirksamkeit von VSOP-C184 in der MR-Angiographie der Koronararterien an gesunden Probanden konzipiert.

Das Protokoll zu diesem Studienteil wurde von einer unabhängigen Ethikkommission begutachtet und positiv bewertet. Alle Probanden gaben nach ausführlicher mündlicher und schriftlicher Information ihre schriftliche Einverständniserklärung für die Teilnahme an der Studie und zu allen damit verbundenen Prozeduren. Eine Übersicht über den Studienablauf ist in Tabelle 5.6 wiedergegeben.

Ein-/Ausschlusskriterien: Die Ein- und Ausschlusskriterien für die Probanden waren identisch zu denen der klinischen Phase I Prüfung (Kapitel 5.2.1.2). Als zusätzliche Ausschlusskriterien galten die üblichen Kontraindikationen für eine MR-tomographische Untersuchung, insbesondere metallische Implantate oder auch Klaustrophobie.

Insgesamt wurden 6 gesunde männliche Probanden kaukasischer Rasse mit einem Alter zwischen 24 und 40 Jahren eingeschlossen und erhielten die Prüfmedikation. Das mittlere Alter der Probanden betrug $30,3 \pm 6$ Jahre, die mittlere Körpergröße war $180,8 \pm 4,4$ cm, das mittlere Gewicht $74,5 \pm 3,8$ kg und der mittlere BMI war $22,8 \pm 1,2$ kg/m². Das Studienprotokoll ist in Tabelle 5.6 wiedergegeben.

Tabelle 5.6: Tabellarische Übersicht über den Ablauf der klinischen Phase IB

	Screening	Injektion der Studiensubstanz	Abschlussvisite
Tag	-14 bis -1	1	2
Aufklärung und Einwilligung	X		
Demographische Daten	X		
Anamneseerhebung	X		
Körperliche Untersuchung	X	X	X
EKG			
- 12 Kanal ¹	X		X
- 3 Kanal ²		X	
Vitalparameter (RR, HR, Körpertemperatur) ³	X	X	X
Oximetrie ⁴		X	X
Labor			
- Hämatologie, klinische Chemie, Urin	X	X	X
- Serologie (HbsAg, anti-HCV, anti-HIV)	X		
Drogenscreening im Urin, Alkoholatemtest	X		
Studienmediation ⁵		X	
MR-Untersuchung ⁶		X	
Erfassung unerwünschter Wirkungen		X	X
Ambulante Visite ⁷	X	X	X

- ¹ EKG mit Dokumentation: innerhalb des Screening (Tag –14 bis –1), 24 h nach Injektion der Studienmedikation (Tag 2)
- ² EKG ohne Dokumentation: während MR-Untersuchung und Injektion der Studienmedikation (innerhalb des MR-Gerätes)
- ³ RR und HF: prä, 1, 5, 15, 30 min (innerhalb des MRT), 1 h, 24 h (außerhalb des MR-Gerätes) nach Injektion der Studienmedikation;
- ³ Körpertemperatur: prä, 1 h, 24 h nach Injektion der Studienmedikation (außerhalb des MR-Gerätes);
- ⁴ Oximetrie: prä, 1, 5, 15, 30 min (innerhalb des MRT), 1 h, 24 h (außerhalb des MR-Gerätes) nach Injektion der Studienmedikation;
- ⁵ Injektion: Dosis 0,045 mmol Fe/kg, Injektion innerhalb des MR-Gerätes als Bolus mit einer Geschwindigkeit von etwa 1 ml/s;
- ⁶ MR-Untersuchung: Untersuchungsdauer vor Kontrastmittelgabe etwa 30 min, Injektion der Studienmedikation, Untersuchungsdauer nach Kontrastmittelgabe etwa 45 min;
- ⁷ ambulante Visite am Studientag 2: aus Sicherheitsgründen wurden alle Probanden bis 4 h nach Injektion der Studienmedikation kontinuierlich am Studienzentrum beobachtet .

5.3.1.3 MR-Tomographie

5.3.1.3.1 Datenaufnahme

Die Untersuchungen wurden bei 1,5 T an einem Ganzkörper-MR-Tomographen (Symphony Quantum, Siemens AG, Erlangen, Germany) mit einer 4 Kanal Körper Phased

Array Spule durchgeführt (Softwareversion Numaris VA 15 A). Die Probanden wurden in Rückenlage mit dem Kopf voran im Patiententunnel gelagert. Zur Ableitung des EKG-Signals für die Triggerung der MR-Angiographie Sequenzen wurde das kommerziell erhältliche, aktive Ableitungssystem mit drei präpektoral platzierten Elektroden verwendet. Bei allen Probanden wurde eine native und eine kontrastmittelunterstützte MR-Angiographie der Koronararterien durchgeführt (Tabelle 5.7:). Der Kontrast in den nativen Sequenzen des time-of-flight (TOF) Prinzips basierte auf dem Einflusseffekt ungesättigten Blutes in das Bildgebungsvolumen. In den postkontrast Sequenzen wurde durch Inversionspräparation mit entsprechender Inversionsverzögerung (TI) die Verkürzung der T_1 -Relaxationszeit des Blutes für die Kontrastgenerierung genutzt.

Im Einzelnen hatte das Protokoll folgenden Ablauf: (1) Übersichtsaufnahmen mit einer EKG-getriggerten black blood half fourier single shot turbo spinecho Sequenz in axialer und koronarer Orientierung zur Lokalisation des Herzens und zur groben Lokalisation der Lage der Koronararterien. (2) Axiale retrospektiv EKG-getriggerte Cine True-FISP Sequenz in 3 – 4 verschiedenen Höhen, um an den Abgängen, in mittlerer Höhe sowie an der posterioren Herzwand die Lage der Koronararterien und deren Bewegung während des Herzzyklus abzubilden. Auf der Basis dieser Cine Sequenzen wurde die Phase innerhalb des RR-Zyklus mit möglichst geringer Bewegung der Koronararterien bestimmt und mit der herstellerseitig implementierten 3-Punkt Positionierungsmethode die MR-angiographischen Sequenzen der unten genannten Schritte 3-5 folgendermaßen positioniert: Zwei schmale 3D-Volumina, davon eines entlang der rechten Koronararterie (RCA), das Zweite entlang des Hauptstammes des linken Koronararteriensystems mit gleichzeitig möglichst langstreckiger Erfassung der left anterior descendent artery (LAD) und der left circumflexus artery (LCX). (3) Native TOF Atemstopp 3D-Gradientenecho Sequenz (3D-FLASH) mit 16 Schichten. (4) Native TOF Navigator 3D-FLASH mit 20 Schichten. Nach intravenöser Injektion von VSOP-C184 wurde vor dem Starten der ersten postkontrast Messung zwei Minuten gewartet, damit sich intravasal ein Equilibrium bezüglich der Kontrastmittelkonzentration einstellen kann. Anschließend erfolgte (5) die kontrastverstärkte Atemstopp IR 3D-FLASH mit 16 Schichten. Hiernach erfolgte (6) pro Proband eine kontrastverstärkte Navigator IR 3D-FLASH mit 48 bis 104 Schichten in schräg koronarer oder axialer Orientierung zur möglichst vollständigen Erfassung des gesamten Koronararteriensystems. Hierdurch sollte die Tatsache ausgenutzt werden, dass die intravasale Signalintensität durch die Verkürzung der T_1 -Relaxationszeit des Blutes unabhängig vom TOF-Effekt ist und somit das Bildgebungsvolumen nicht limitiert ist. Die Anzahl der gewählten Schichten richtete sich hierbei nach der zu erwartenden Compliance des Probanden, der zuvor festgestellten Gleichförmigkeit des

Navigatorsignals, der Größe und Lage des Herzens und dem Verlauf der Koronararterien. Abschließend wurde (7) der Satz von zwei Atemstopp IR 3D-FLASH Sequenzen identisch zu (5) wiederholt. Bei allen Sequenzen wurde ein Bildgebungsfenster von 112 ms pro RR-Zyklus nicht überschritten. Tabelle 5.7 gibt einen Überblick über die wesentlichen Sequenzparameter der verwendeten Untersuchungstechniken. Die Atemstopp Sequenzen wurden vor und nach Kontrastmittelinjektion mit identischer Schichtposition und –winkelung gemessen. Bei den Navigator Sequenzen unterschieden sich Schichtposition und –orientierung in der Nativ- und Postkontrastuntersuchung, da in der Nativuntersuchung schmale, gezielte 3D-Volumina und postkontrast eine volumendeckende Messung durchgeführt wurde. Für alle Atemstopp Sequenzen erfolgte die Datenakquisition während einer expiratorischen Atemanhaltephase, für alle Navigator Sequenzen erfolgte die Datenakquisition während des endexpiratorischen Plateaus. Für die Navigator Sequenzen wurden die gekreuzten Navigatorschichten auf das linke Zwerchfell laterodorsal des Herzens auf ein Areal Fettgewebe positioniert. Die übliche Positionierung der Navigatorschichten auf das rechte Zwerchfell ist in Verbindung mit superparamagnetischen Eisenoxid-Partikeln nicht sinnvoll, da es nach der intravenösen Injektion zu einer Anreicherung in der Leber mit konsekutivem Verlust des Navigatorsignals kommt. Es wurde in keiner der Messungen ein Normalisierungsfiler zum Ausgleich des veränderlichen Signalintensitätsprofils bei Einsatz von Körper Phased Array Spulen verwendet. Für die Atemstopp und Navigator IR 3D-FLASH Sequenzen wurde als TI-Wert 360 ms gewählt. Dieser Wert wurde in früheren tierexperimentellen Studien als optimal für eine signalarme Darstellung des Myokards in inversionspräparierten Sequenzen nach intravenöser Injektion von VSOP-C184 ermittelt (eigene unveröffentlichte Daten).

Tabelle 5.7: Relevante Parameter der Atemstopp- und Navigator Sequenzen

	Atemstopp	Navigator
Repetitionszeit [ms]	4,5	5,5
Echozeit [ms]	1,6-2,2	1,6-2,2
Anregungswinkel	15°	15°
FOV [mm]	200-250 x 300-360	180-200 x 200-300
Matrix	256 x 144-200	256 x 176-256
Schichtzahl	16	20 48 – 104*
Schichtdicke [mm]	2, interpoliert auf 1,5	2, interpoliert auf 1-1,2
Pixeldim. (in der Schicht) [mm]	1,2 – 1,4 x 1,2 – 1,4	0,8 – 1,2 x 0,8 – 1,2
Segmente pro RR-Zyklus	29-39	15-27
Akquisitionszeit [min/s]	0/20 – 0/29	2/30 – 7/22

Anmerkung: In den postkontrast Untersuchungen wurde ein Inversionspuls mit einer Inversionsverzögerung von $TI = 360$ ms verwendet. Alle Sequenzen wurden mit spektraler Fettsuppression kombiniert.
*In der postkontrast Untersuchung wurde neben der Standard Sequenz mit 20 Schichten je eine 3D Sequenz mit erhöhter Anzahl von Partitionen gemessen, um das Herz mit einer Messung möglichst volumendeckend zu erfassen.

5.3.1.3.2 Datenauswertung

Die Bildauswertung umfasste eine quantitative und eine qualitative Auswertung. Die quantitative und die qualitative Auswertung erfolgten an der rechten Koronararterie, da diese am häufigsten in der nativen und in der postkontrast Messung sowohl mit der Atemstopp- als auch mit der Navigator Sequenz längerstreckig abgebildet war.

Quantitative Auswertung: Als Maß für den Kontrast zwischen Koronararterie und Umgebung wurde das Signaldifferenz-zu-Rausch-Verhältnis (SD/R) bestimmt, und zwar getrennt für einen abgangsnahen Abschnitt als auch für einen Abschnitt im mittleren Drittel der rechten Koronararterie. Für die Berechnung von SD/R wurden in Einzelschichten mittels ROI-Messungen Signalintensitäten im Lumen der Koronararterie ($SI_{\text{Gefäß}}$), in ihrer unmittelbaren Umgebung (SI_{Umgebung}) und außerhalb des Körpers im Rauschen (SI_{Rauschen}) mittels region of interest Messungen als $SD/R = (SI_{\text{Gefäß}} -$

$SI_{\text{Umgebung}}/SI_{\text{Rauschen}}$ bestimmt. Als Maß für die Konturschärfe der Abbildung der Koronararterie wurde die Vessel Edge Definition (VED) berechnet (57). Hierfür wurde an den oben beschriebenen Lokalisationen der rechten Koronararterie jeweils fünf Signalintensitätsprofile senkrecht zur Koronararterie ermittelt und hieraus für beide Flanken der Koronararterie die Vessel Edge Definition (VED) als maximale Steigung in SI-Einheiten pro mm am Übergang des Gefäßes zur Umgebung berechnet. Aus den jeweils 10 Werten einer Sequenz wurden Mittelwerte getrennt für das proximale und das mittlere Drittel der rechten Koronararterie gebildet. Des Weiteren wurden als quantitative Parameter der Durchmesser der rechten Koronararterie 1 cm vom Ursprung sowie die Länge der rechten Koronararterie bestimmt.

Qualitative Auswertung: Die qualitative Auswertung betraf fünf Kriterien: (a) allgemeine Bildqualität, (b) Kontinuität der Koronararterie, (c) Homogenität des intravaskulären Signales, (d) Kontrast zwischen Koronararterie und unmittelbarer Umgebung, (e) Erkennbarkeit von Abgängen. Das Kriterium (a) umfasst das allgemeine Signalniveau, die Homogenität der Signalintensitätsverteilung, Bewegungsartefakte, Konturschärfe der anatomischen Strukturen und wurde ebenso wie die Kriterien (c) und (d) folgendermaßen bewertet: 0 – nicht auswertbar bzw. unzureichend, 1 – moderat, 2 – gut, 3 – exzellent. Das Kriterium (b) wurde bewertet als: 0 – Koronararterie nicht erkennbar, 1 – proximales Drittel dargestellt, 2 – proximales und mittleres Drittel dargestellt, 3 – gesamte Koronararterie bis einschließlich distales Drittel kontinuierlich dargestellt. Das Kriterium (e) wurde mit zwei Bewertungen beurteilt: 0 – keine Abgänge erkennbar, 1 – Abgänge erkennbar.

Im Rahmen der qualitativen Auswertung wurde weiterhin beurteilt, inwiefern in den verschiedenen Sequenzen innerhalb einer Messung mehrere Koronararterien erfasst waren.

Die Parameter SD/R, VED und Gefäßdurchmesser wurden mit Hilfe des Programmes NIH-Image (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) bestimmt. Die Bestimmung der Gefäßlänge sowie die qualitative Auswertung erfolgten an einer diagnostischen Workstation (MagicView, Siemens, Erlangen, Germany).

5.3.1.4 Unerwünschte Wirkungen, Sicherheit und Verträglichkeit

In diesem Studienabschnitt wurden zusätzlich zu der Wirksamkeitsprüfung Parameter zur Sicherheit und Verträglichkeit der intravenösen Injektion VSOP-C184 nach dem in Tabelle 5.6 beschriebenen Schema erhoben. Hierbei handelte es sich um die Erfassung unerwünschter Wirkungen, das Ergebnis der körperlichen Untersuchung, Vitalparameter, EKG und Oximetrie sowie um Klinische Chemie, Hämatologie und Urinanalyse. Die

Methoden zur Durchführung der Untersuchungen und Handhabung der Ergebnisse waren identisch zu den im Kapitel 5.2.1.3 (Klinische Phase I) beschriebenen Methoden. Die wesentlichen Unterschiede zur klinischen Phase I bestanden darin, dass weniger Zeitpunkte für die Bestimmung der Parameter geplant waren und keine Parameter zur Pharmakodynamik und –kinetik erhoben wurden.

5.3.1.5 Statistik

Für die Wirksamkeitsparameter SD/R, VED und den qualitativen Score wurde anhand des Wilcoxon Testes für abhängige Größen geprüft, ob zwischen den verschiedenen Untersuchungstechniken bzw. zwischen der nativen und der Kontrastmittel-unterstützten Untersuchung Unterschiede bestehen. Für die Sicherheitsdaten wurde eine deskriptive Statistik durchgeführt und alle Ergebnisse tabelliert. Für die Statistik wurde das Programm SAS (Statistical Analysis System, SAS-Institute, Cary NC, USA) verwendet.

5.3.2 Ergebnisse

5.3.2.1 MR-Tomographie

Das vorgesehene Protokoll mit gezielten 3D-Volumina entlang der RCA sowie entlang des linken Hauptstammes und der proximalen Anteile von LAD und LCX mit Atemstopp- und Navigator Sequenzen präkontrast sowie mit gezielter Atemstopp- und volumendeckender Navigator Sequenz postkontrast konnte nur bei drei der 6 Probanden vollständig durchgeführt werden (Tabelle 5.8). Bei zwei der 6 Probanden musste das Protokoll abgekürzt werden, hiervon verspürte ein Proband während der Untersuchung Harndrang, ein weiterer Proband entwickelte während der Untersuchung klaustrophobe Empfindungen. Einem weiteren Probanden war es nicht möglich, für längere Zeit ruhig zu liegen, was zu Bewegungsartefakten in allen Navigator Sequenzen führte. Da die RCA am häufigsten abgebildet war, entschied man sich, die quantitative und den auf die Koronararterien bezogenen Anteil der qualitativen Auswertung nur an der RCA durchzuführen.

Tabelle 5.8: Aufschlüsselung der auswertbaren Sequenzen

Sequenz	RCA	LAD/LCX
präkontrast Atemstopp	6/6	6/6
präkontrast Navigator	6/6	4/6
postkontrast Atemstopp	6/6	4/6
postkontrast Navigator*	5/6	
spät postkontrast Atemstopp	5/6	3/6

Anmerkung: Die Zahlen stellen den Anteil der gemessenen Sequenzen in Bezug auf die Gesamtzahl der Probanden (n=6) dar.

*Bei 5 Probanden wurde in der postkontrast Untersuchung ein möglichst großer Anteil von RCA und LAD/LCX mit einer einzelnen volumendeckenden Navigator Sequenz erfasst.

5.3.2.1.1 Quantitative Auswertung

Nach Injektion von VSOP-C184 war das SD/R und die VED der RCA sowohl in der Atemstopp- als auch in der Navigator Sequenz im Vergleich zur präkontrast Untersuchung signifikant höher ($p < 0,05$). Dies trifft für die Auswertung im proximalen sowie im mittleren Drittel der RCA zu (Tabelle 5.9).

Im Vergleich der Untersuchungstechniken ergaben sich für die Navigator- gegenüber der Atemstopp Sequenz sowohl präkontrast als auch postkontrast signifikant höhere SD/R-Werte ($p < 0,05$). Dies galt für das proximale und das mittlere Drittel der RCA. Die VED-Werte waren präkontrast für die Navigator- im Vergleich zur Atemstopp Sequenz signifikant höher, postkontrast bestand kein Unterschied zwischen Navigator- und Atemstopp Sequenz. Dies galt wiederum für das proximale und das mittlere Drittel der RCA

Bezüglich des gemessenen Durchmessers der RCA wurden zwischen den vier Untersuchungstechniken - Atemstopp- und Navigator- jeweils präkontrast und postkontrast - keine Unterschiede gefunden (Tabelle 5.10). Für die sichtbare Länge der RCA wurden in der Atemstopp Technik vor und nach Kontrastmittelinjektion identische Werte bestimmt. Für die Navigator- Technik war die RCA nach Kontrastmittelgabe im Vergleich zur Nativuntersuchung signifikant längerstreckig erkennbar (Tabelle 5.10). Es wurden prä- und postkontrast keine Unterschiede zwischen Atemstopp- und Navigator Sequenz bezüglich der Länge der RCA gefunden.

Tabelle 5.9: Ergebnisse der quantitativen Auswertung von SD/R und VED an der RCA in der MR-Angiographie der Koronararterien vor sowie nach i.v. Injektion von VSOP-C184

	proximales Drittel	Mittleres Drittel
SD/R		
Atemstopp präkontrast	3,46 ± 0,33	2,90 ± 0,27
Atemstopp postkontrast	4,73 ± 0,64	4,12 ± 0,62
Navigator präkontrast	4,03 ± 0,51	3,48 ± 0,36
Navigator postkontrast	6,39 ± 1,68	4,97 ± 1,03
VED		
Atemstopp präkontrast	1,21 ± 0,18	1,01 ± 0,13
Atemstopp postkontrast	2,34 ± 0,65	2,08 ± 0,41
Navigator präkontrast	1,89 ± 0,45	1,74 ± 0,32
Navigator postkontrast	3,01 ± 0,58	2,88 ± 0,57

Anmerkung: Für SD/R und VED sind im proximalen Drittel und im mittleren Drittel der RCA die Werte nach Kontrastmittelinjektion (post) im Vergleich zur Nativuntersuchung signifikant höher ($p < 0,05$). Dies gilt für die Atemstopp und die Navigator Sequenz. Die SD/R-Werte sind in der Nativuntersuchung und nach Kontrastmittelinjektion für die Navigator- im Vergleich zur Atemstopp Sequenz signifikant höher. Dies gilt für das proximale und das mittlere Drittel der RCA. Die VED-Werte sind in der Nativuntersuchung für die Navigator- im Vergleich zur Atemstopp Sequenz signifikant höher, nach Kontrastmittelgabe besteht hier kein Unterschied.

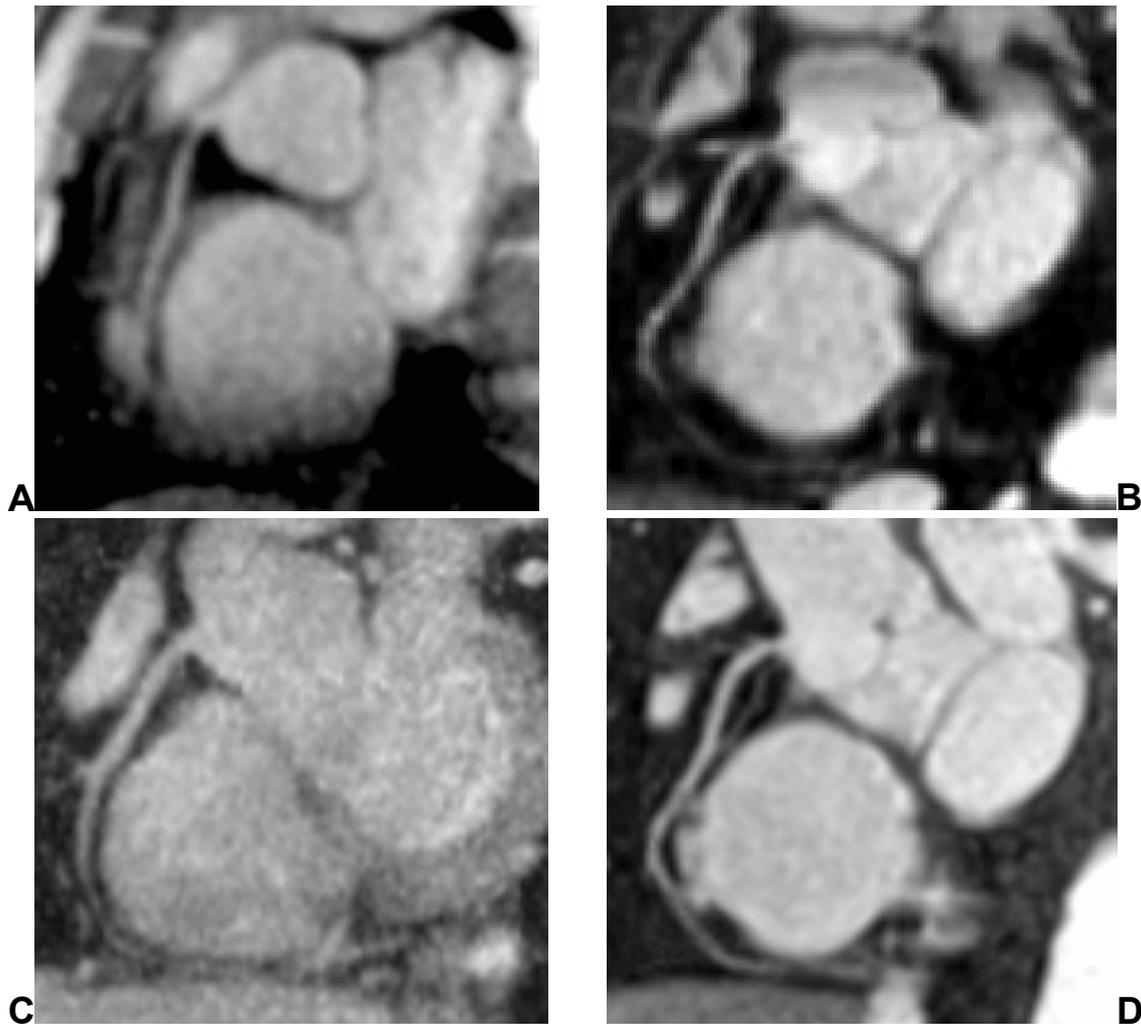


Abbildung 5.4: MR-Angiographie der Koronararterien an einem gesunden Probanden jeweils aufgenommen mit einem schmalen 3D-Block (3D-FLASH) mit einer Atemstopp Sequenz (Messzeit 27 s) vor (A) und 5 min nach i.v. Injektion von VSOP-C184 (C) sowie mit einer Navigator Sequenz (Messzeit 5 min und 30 s) vor (C) und ca. 7 min nach Injektion (D). Für die präkontrast Messung wurde jeweils eine TOF Version der Sequenz verwendet, für die postkontrast Messung eine IR-präparierte Version (TI=360 ms). Qualitativ beste Darstellung mit der postkontrast Navigator Sequenz.

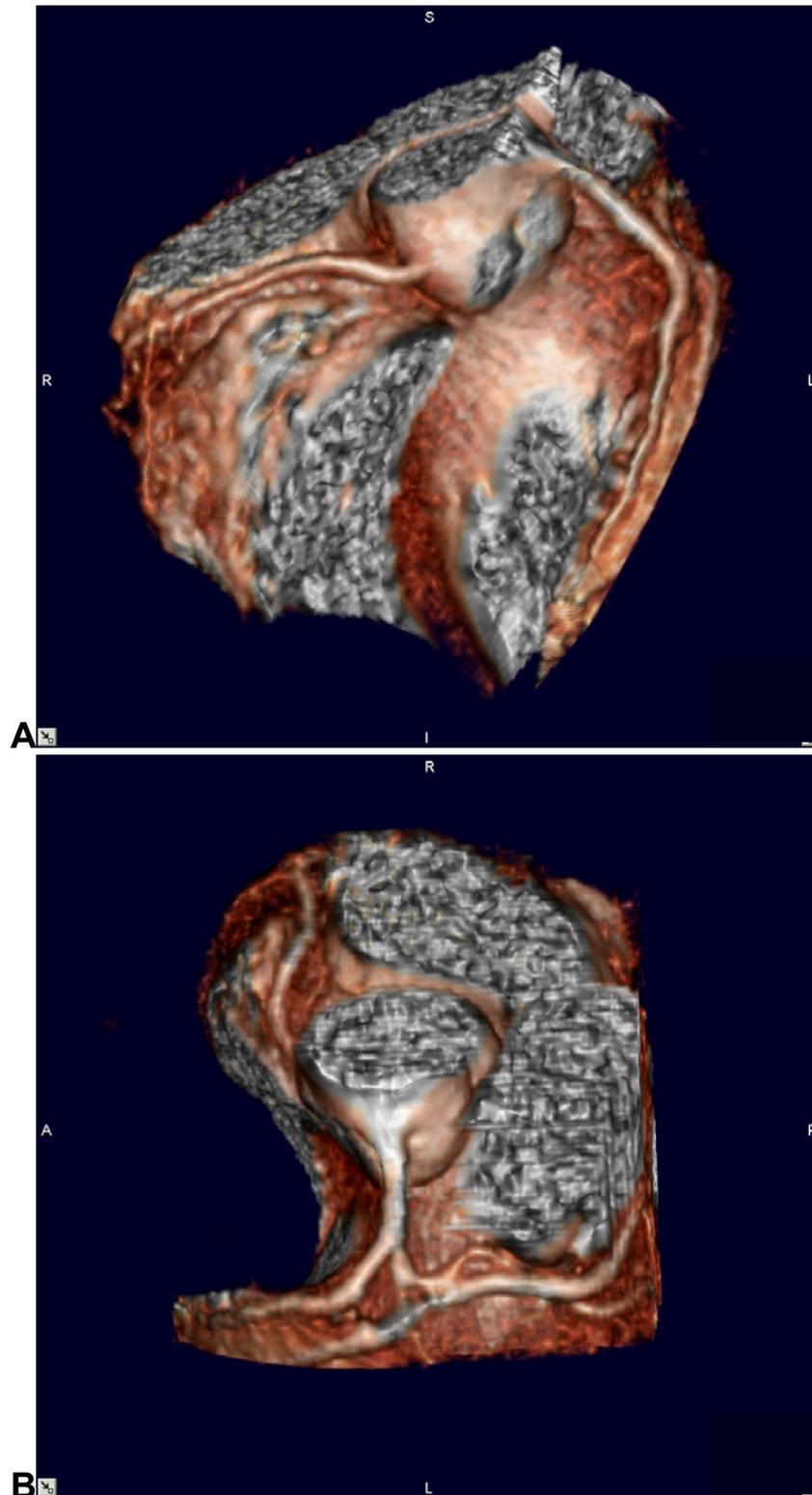


Abbildung 5.5: Equilibrium MR-Angiographie der Koronararterien nach i.v. Injektion von VSOP-C184 am gesunden Probanden: Rekonstruktionen aus einer Ganzherzmessung (Navigator gesteuerte IR-3D FLASH Sequenz mit 104 gemessenen Schichten, Messzeit ca. 18 min) mit Ansicht von oben (A) und von links (B). In (A) sind die LAD und die RCA zu erkennen, in (B) die LCX (partiell überlagert von der großen Herzvene)

Tabelle 5.10: Ergebnisse der Auswertung von Durchmesser und Länge der RCA in der MR-Angiographie der Koronararterien vor sowie nach i.v. Injektion von VSOP-C184

	Durchmesser [mm]	Länge [mm]
Atemstopp präkontrast (n=6)	3,71 ± 0,50	91,8 ± 6,49
Atemstopp postkontrast (n=6)	3,56 ± 0,49	108 ± 16,8
Navigator präkontrast (n=5)	3,51 ± 0,48	99,8 ± 21,8
Navigator postkontrast (n=5)	3,51 ± 0,40	113 ± 19,7

Anmerkung: Bezüglich des Durchmessers der RCA bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen der präkontrast und der postkontrast Untersuchung bzw. zwischen Atemstopp- und Navigator Sequenzen. Bezüglich der Länge der RCA besteht kein signifikanter Unterschied zwischen der präkontrast und postkontrast Untersuchung in der Atemstopp Sequenz. In der Navigator Sequenz ist die RCA postkontrast signifikant länger dargestellt als präkontrast.

5.3.2.1.2 Qualitative Auswertung

Sowohl die Atemstopp- als auch die Navigator Sequenz erzielte postkontrast einen signifikant höheren Summenscore aus der qualitativen Auswertung als präkontrast (vergleiche Abbildung 5.4). Zwischen Atemstopp- und Navigator Sequenz bestand weder in der präkontrast noch in der postkontrast Untersuchung bezüglich des Score ein signifikanter Unterschied. Da mit den verschiedenen Sequenzen keine einheitliche Anzahl von Untersuchungen gelang, wurden die Scores für die verschiedenen qualitativen Kriterien der besseren Anschaulichkeit halber als Mittelwerte dargestellt (Tabelle 5.11).

Mit der volumendeckenden Navigator IR 3D-FLASH Sequenz, die in der Phase von ca. 7 min bis 30 min nach Kontrastmittelinjektion akquiriert wurde, konnte in 2/6 Fällen das Koronararteriensystem weitgehend abgebildet werden. Hier wurden 48 bzw. 56 Schichten aufgenommen und jeweils die proximalen 2/3 der RCA sowie der Hauptstamm und die proximalen 2/3 von LAD und LCX erfasst. Bei weiteren 2/6 Probanden wurden 80 bzw. 104 Schichten in einer Messung aufgenommen und hiermit das gesamte Herz mit RCA, Hauptstamm, LAD und LCX in der gesamten Länge erfasst (Abbildung 5.5). Es waren bei 3/6 Untersuchungen jeweils neben diesen Hauptsegmenten die abgangsnahen Anteile

von 1. und 2. Diagonalast von RCA und LAD abgrenzbar. Bei den übrigen 2/6 Probanden gelang aufgrund mangelhafter Compliance die Messung einer volumendeckenden Sequenz nicht.

Tabelle 5.11: Ergebnisse der qualitativen Auswertung der MR-Angiographie der Koronararterien vor sowie nach i.v. Injektion von VSOP-C184

	Bildqualität	Kontinuität	Homogenität	Kontrast	Abgänge
Atemstopp präkontrast	1,8	1,5	1,7	1,5	0,0
Atemstopp postkontrast	2,5	2,3	2,3	2,3	0,0
Navigator präkontrast	2,2	2,2	2,0	2,0	0,6
Navigator postkontrast	2,8	2,6	2,6	2,8	0,8

5.3.2.2 Unerwünschte Wirkungen, Sicherheit und Verträglichkeit

Während der Studie wurden insgesamt 4 unerwünschte Wirkungen bei 3 Probanden registriert (Tabelle 5.12). Proband Nr. 1 berichtete 1 bis 2 Tage nach Injektion der Prüfsubstanz und Durchführung der Kernspintomographie über Kopfschmerzen mit mäßiger Ausprägung. Proband Nr. 5 berichtete über 2 unerwünschte Wirkungen, diese waren ein ungewöhnliches Gefühl auf der Zunge und eine Wärmesensation am Injektionsort. Beide unerwünschte Wirkungen traten während der Injektion der Prüfsubstanz auf und waren von geringer Intensität. Proband Nr. 6 berichtete über ein Kältegefühl am Injektionsort während der Injektion der Prüfsubstanz, diese unerwünschte Wirkung war von geringer Intensität.

Tabelle 5.12: Übersicht über die unerwünschten Wirkungen nach i.v. Injektion von VSOP-C184 in der Klinischen Phase IB

Symptom	Intensität		Verlauf		Bezug zur Prüfmedikation	
	mild	moderat	vollständige Rückbildung		möglich	
	N	N	N	%	N	%
Kopfschmerz		1	1	100	1	100
Wärmegefühle am Injektionsort	1		1	100	1	100
Kühlegefühl am Injektionsort	1		1	100	1	100
Sensation auf der Zunge	1		1	100	1	100

Anmerkung: Bei allen beobachteten unerwünschten Wirkungen wurde eine mögliche Beziehung zur Prüfmedikation gesehen. Alle unerwünschten Wirkungen bildeten sich innerhalb kurzer Zeit vollständig zurück.

Bezüglich der Ergebnisse der körperlichen Untersuchung, der Vitalparameter, des EKG und der Oximetrie wurden nach Injektion der Prüfsubstanz im Vergleich zum Ausgangswert keine signifikanten Veränderungen registriert. Die Parameter der Hämatologie und klinischen Chemie lagen zu allen Zeitpunkten im Normwertbereich. Es ergaben sich keine klinisch signifikanten Auffälligkeiten bei den Laborparametern.

5.4 *Diskussion zu den klinischen Prüfungen der Phase I und IB*

5.4.1 *Klinische Phase I (Verträglichkeit, Sicherheit, Pharmakokinetik, Blutrelaxometrie)*

Der in diesem Studienabschnitt zur Prüfung der Verträglichkeit von VSOP-C184 untersuchte Dosisbereich (0,015, 0,045 und 0,075 mmol Fe/kg) wurde anhand von präklinischen Untersuchungen entsprechend den Kriterien für einen Dosisvergleich im Rahmen einer klinischen Phase I gewählt. Aufgrund experimenteller Untersuchungen erscheint die niedrigste der drei Dosierungen von 0,015 mmol nicht ausreichend für einen guten MR-angiographischen Effekt in der Equilibriumphase und die höchste gewählte Dosis von 0,075 mmol Fe/kg führt bereits zu Überdosierungseffekten. Eine Dosis um 0,045 mmol Fe/kg erscheint optimal für die MR-Angiographie in der Equilibriumphase (231, 232, 249). In ersten klinischen Prüfungen anderer kleiner SPIO zur Wirksamkeit in der Equilibrium MR-Angiographie liegen die höchsten geprüften Dosierungen im Bereich unserer höchsten eingesetzten Dosis, z.B. bei 0,08 mmol Fe/kg für SHU 555C oder bei 0,09 mmol Fe/kg für NC100150 (119, 123, 238). Diese im Vergleich zur Leberdiagnostik höheren Dosierungen für die Equilibrium MR-Angiographie ergeben sich daraus, dass mit USPIO bzw. VSOP-C184 bis etwa zu einer Dosis von 0,06 – 0,09 mmol Fe/kg eine dosisabhängige Verkürzung der T_1 -Relaxationszeit des Blutes und damit in stark T_1 -gewichteten angiographischen MR-Sequenzen eine Signalsteigerung erzielt wird, und erst dann durch die zunehmende Verkürzung der T_2 - und T_2^* -Relaxationszeit des Blutes ein Sättigungseffekt bzw. eine dosisabhängige Signalabnahme erfolgt (231).

Diese für die Equilibrium MR-Angiographie notwendigen hohen Dosierungen stellen bezüglich der klinischen Verträglichkeit von SPIO eine besondere Herausforderung dar. Erste Präparationen von SPIO, die mit Dextranen beschichtet sind und für die Leberdiagnostik (218) oder die Lymphknotendiagnostik (141) entwickelt wurden, weisen schon in Dosierungen bis etwa 0,035 mmol Fe/kg eine eingeschränkte akute Verträglichkeit durch nicht allergische Reaktionen auf, so dass sie als langsame Infusion verabreicht werden müssen. Zusätzliche, nicht dosisabhängige, allergische Reaktionen, die durch die Verwendung von Dextran als Beschichtung erklärbar sind, erfordern in Einzelfällen eine entsprechende Behandlung (141). Die Häufigkeit von allergischen Reaktionen konnte durch die Verwendung von Carboxydextran als Hüllmaterial an Stelle von Dextran reduziert werden (171). In der hier beschriebenen klinischen Phase I mit den

Citrat-beschichteten Partikeln VSOP-C184 kamen keine schwerwiegenden (im englischen Sprachgebrauch: serious) unerwünschten Wirkungen vor. Insbesondere wurden keinerlei dosisunabhängige, allergische Reaktionen registriert. Des Weiteren wurde die Bolusinjektion von VSOP-C184 in allen Fällen gut toleriert, lediglich in 2 Fällen wurden Sensationen berichtet, die mit der Bolusinjektion in Verbindung gebracht werden können, dies war in einem Fall ein leichtes generalisiertes Wärmegefühl bei 0,045 mmol Fe/kg und in einem Fall ein lokales Kältegefühl bei 0,075 mmol Fe/kg. Als häufigste Nebenwirkung wurde in der hier beschriebenen Studie Kopfschmerz angegeben. Diese Art der Nebenwirkung wird häufig beobachtet, wenn für MR-Kontrastmittel die Verträglichkeit erfasst wird, z.B. für andere SPIO oder auch für Gadolinium-haltige Chelate (6, 185). Allerdings wurde von keinem Probanden als Nebenwirkung lumbar pain angegeben. Lumbar pain ist eine häufige Nebenwirkung von Dextran-beschichteten SPIO bzw. USPIO (6, 141) und wurde in einer Studie zu einer solchen Substanz bei 9 von 114 Patienten in starker Ausprägung beobachtet (22). In der hier beschriebenen Phase I Prüfung zu VSOP-C184 wurden bei zwei von fünf mit der höchsten Dosierung (0,075 mmol Fe/kg) untersuchten Probanden nicht schwerwiegende Nebenwirkungen mit starker Ausprägung registriert, die zwischen 45 und 50 min nach der Injektion auftraten und einen möglichen Zusammenhang mit der Studienmedikation aufweisen. Dies war in einem Fall ein Blutdruckabfall, in einem weiteren Fall eine geringgradige Minderung der Sauerstoffsättigung, verbunden mit Schwindel und abdominellen Beschwerden. Diese unerwünschten Wirkungen gingen bei beiden Patienten nach kurzer Zeit ohne Medikation vollständig zurück. Der kausale Zusammenhang zwischen der Studienmedikation und diesen genannten unerwünschten Wirkungen ist bislang nicht eindeutig zu klären. Eine mögliche Erklärung für diese verzögerten, nicht allergischen unerwünschten Wirkungen könnte in der stark negativ geladenen Oberfläche der Partikel von VSOP-C184 liegen, die allerdings in einer Lösung vorliegen, die galenisch auf blutphysiologische Werte eingestellt ist. Es sind hier Interaktionen zwischen der negativ geladenen Oberfläche der lange zirkulierenden Partikel und zweiwertigen positiv geladenen Ionen im Blut wie z.B. Ca^{2+} , Mg^{2+} oder Zn^{2+} denkbar. Kardiodepressive Effekte, die experimentell nach i.v. Injektion z.B. von Gadopentetat Dimeglumin oder Gd-DTPA-BMA beobachtet wurden, können mit derartigen Interaktionen zwischen den Gadolinium-Komplexen und Ca^{2+} erklärt werden bzw. durch Zugabe von Ca^{2+} auch vermieden werden (92, 149). Alle übrigen beobachteten unerwünschten Wirkungen liegen im Bereich dessen, was auch für andere, als gut verträglich eingestufte und für die klinische Anwendung zugelassene Kontrastmittel berichtet wird (22, 75, 119, 235). Besonders hervorzuheben ist die Tatsache, dass die unerwünschten Wirkungen im Gegensatz zu entsprechenden ersten klinischen Prüfungen mit Dextran-beschichteten Eisenoxid-Partikeln (z.B. AMI 227 (141))

oder PEG-beschichteten Eisenoxid-Partikeln (119) nicht medikamentös behandelt werden mussten.

Unter den Laborparametern der Sicherheitspharmakologie fanden sich in der vorliegenden Studie nur bei den Parametern, die den Eisenstoffwechsel betreffen, Änderungen. Die Eisenkonzentration in Serum und Plasma zeigte einen erwarteten dosisabhängigen Anstieg. Dahingegen wurde die Eisenkonzentration im Vollblut durch die geringe zugegebene Eisenmenge für keine Dosis signifikant beeinflusst. Diese Veränderungen sind bei der i.v. Injektion eines eisenhaltigen Pharmakons in den angewendeten Dosierungen zu erwarten und finden sich in ähnlicher Weise in entsprechenden Studien mit anderen SPIO-Kontrastmitteln (75, 141, 218, 235). In unserer Studie stieg der Ferritinwert für die zwei höheren Dosierungen in einem Zeitraum zwischen zwei und acht Tagen signifikant an, blieb allerdings mit Ausnahme eines Probanden innerhalb der physiologischen Grenzen. Bei einem Probanden (#18) in der Gruppe der höchsten Dosierung überstieg der Ferritinwert die physiologische Grenze (max 326 µg/l) im Intervall von Studientag 2 bis 8 signifikant. Ähnliche Anstiege der Ferritinwerte werden auch für andere Eisenoxide beobachtet (75, 123, 235) und zeigen den Umbau des Kontrastmitteleisens in die körpereigene Speichereisenform an. Nach Injektion von VSOP-C184 steigt die TEBK weitaus geringer an (145 % 2 h p.i., bei 0,075 mmol Fe/kg) als nach Injektion von NC 100150 (308% 2 h p.i. bei 0,09 mmol Fe/kg). Dieser deutliche Unterschied kann nicht allein durch die geringgradig höhere Dosis von NC100150 erklärt werden. Man muss davon ausgehen, dass bei VSOP-C184 der Anteil an freiem bzw. gering gebundenem Eisen durch die starke Komplexbindung in der Citrathülle wesentlich geringer ist, als bei dem Polymer-stabilisierten NC100150.

Als Wirksamkeitsparameter konnten in Rahmen der hier beschriebenen klinischen Phase I Prüfung zu VSOP-C184 lediglich die Relaxationszeiten von Blutproben erfasst werden. Eine zusätzliche Bildgebung wäre mit dem aufwändigen Protokoll zur Erfassung von möglichen unerwünschten Wirkungen, der Bestimmung der Vitalparameter und der Abnahme von Blutproben nicht vereinbar gewesen. Durch die Bestimmung der T_1 -Relaxationszeiten bei 0,94 T konnten jedoch indirekt Informationen über die mögliche Wirksamkeit von VSOP-C184 als MR-Kontrastmittel im Sinne eines Surrogatparameters erhalten werden. Hier zeigt sich, dass nach i.v. Injektion von VSOP-C184 in der mittleren Dosis von 0,045 mmol Fe/kg die T_1 -Relaxationszeit des Blutes über eine Zeitdauer von 18 min, bei einer Dosis von 0,075 mmol Fe/kg sogar über eine Zeitdauer von 60 min unter 100 ms reduziert waren. Theoretische Betrachtungen und experimentelle Resultate ergeben, dass mit den heute in der kontrastverstärkten MR-Angiographie der Koronararterien üblichen inversionspräparierten 3D GRE Sequenzen gute Ergebnisse

bezüglich Kontrast und Gefäßkontur vorzugsweise mit T_1 -Relaxationszeiten von Blut von 100 ms oder weniger erreicht werden (94, 278). Relativierend muss zu diesem kritischen Wert von 100 ms gesagt werden, dass er auf Betrachtungen zu Blut-Pool Kontrastmitteln basiert, die zu einem relevanten Teil extravasieren und damit zu einer Verkürzung der T_1 -Relaxationszeit auch des Myokards führen. Hier muss für eine effiziente Unterdrückung des Signals des Myokards in der inversionspräparierten 3D-GRE Sequenz ein TI-Wert von ca. 200 ms gewählt werden, wodurch eine ausreichende intravasale Signalintensität eine T_1 -Relaxationszeit von Blut von unter 100 ms voraussetzt (133). Eine Substanz mit diesen Erfordernissen bezüglich kurzem TI-Wert ist z.B. B22956, das nach intravenöser Injektion durch Bindung an Plasmaproteine seine Blut-Pool Eigenschaften entwickelt und in einer Dosis von 0,05 mmol Gd/kg zu einer T_1 -Relaxationszeit des Blutes von unter 100 ms, des Myokard jedoch auch von ca. 250 ms (118) führt. Für MS-325, ebenfalls ein proteinbindendes Blut-Pool Kontrastmittel, wurde in der MR-Angiographie ein deutlicher Anstieg des Hintergrundsignals durch Extravasation der nicht proteingebundenen Fraktion der Substanz gefunden (21, 47). Gadomer, ein Gadolinium-haltiges Makromolekül, welches zu der Gruppe der Blut-Pool Kontrastmittel mit rascher renaler Ausscheidung zählt, erzeugt zwar kurzfristig einen hohen Kontrast zwischen Koronararterien und Myokard (208), die Extravasation der Substanz im Myokard führt allerdings dazu, dass ein signifikanter Kontrastzuwachs auch für die höchste geprüfte Dosierung von 0.1 mmol Gd/kg auf die ersten 10 min nach Injektion begrenzt ist, auch bei Wahl eines kurzen und auf den jeweiligen Zeitpunkt nach Injektion adaptierten TI-Wertes (84). Gegenüber den genannten Substanzen zeigen USPIO als Blut-Pool Kontrastmittel für die MR-Angiographie keine oder eine zu vernachlässigende Extravasation. Für das USPIO NC100150 wurde an Schweinen bei einer Dosis von 60 μ mol Fe/kg die T_1 -Relaxationszeit des Blutes auf 70 ms reduziert, wobei die T_1 -Relaxationszeit des Myokards nicht unter 600 ms fiel (246). Dies erlaubt die Wahl eines längeren TI-Wertes, wodurch auch für T_1 -Relaxationszeiten über 100 ms eine hohe Signalintensität des Blutes erzielt wird. Die T_1 -Relaxationszeiten von Blut, die nach Injektion von 0,045 mmol Fe/kg VSOP-C184 erreicht wurden ($T_1=86$ ms bei 5 min und 111 ms bei 30 min nach Injektion) liegen im Bereich der Werte von von B22956 in einer Dosis von 0,05 mmol Gd/kg (80 ms bei 5 min 110 ms bei 30 min nach Injektion) (118). Somit ist auf der Basis der hier durchgeführten ex vivo relaxometrischen Messungen VSOP-C184 bezüglich der erreichten minimalen T_1 -Relaxationszeiten von Blut mit hoch wirksamen Gd-haltigen Blut-Pool Kontrastmitteln vergleichbar, dürfte jedoch gegenüber diesen aufgrund des deutlich geringeren Signalanstieges im Myokard (232) ein wesentlich längeres Bildgebungsfenster bieten. In der Diskussion um USPIO wird häufig die ausgeprägte T_2 -Relaxationszeit verkürzende

Wirkung bzw. das hohe Verhältnis von T_2 - zu T_1 -Relaxivität (r_2/r_1 -Verhältnis) als limitierend für die Eignung als Blut-Pool Kontrastmittel angeführt. Im Vergleich zu anderen USPIO, die als Blut-Pool Kontrastmittel für die T_1 -gewichtete Bildgebung geprüft wurden, wie z.B. AMI 227, NC 100150 oder SHU 555 C weist VSOP-C184 mit 1.6 das niedrigste r_2/r_1 -Verhältnis auf und ist bezüglich dieses Wertes vergleichbar mit dem Gadolinium-haltigen, makromolekularen Blut-Pool Kontrastmittel Gadomer (230). Dieser Vergleich beruht auf Daten, die relaxometrisch bei 0,47 T gemessen wurden. Für VSOP-C184 konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass sich das r_2/r_1 -Verhältnis zu höheren Feldstärken (1.5 T) nur geringfügig auf 2,4 erhöht, während z.B. für SHU 555 C bei 2,0 T ein r_2/r_1 -Verhältnis von ca. 11 gefunden wurde. Somit ist die Diskussion um die stark T_2 -Relaxationszeitverkürzende Wirkung herkömmlicher USPIO nicht auf VSOP-C184 anwendbar. Die im Rahmen des hier beschriebenen Studienabschnittes ex vivo im Relaxometer bei 0,94 T ermittelten T_2 -Relaxationszeiten von Vollblut, Plasma und Serum ergeben für die klinisch angestrebte Dosis von 0,045 mmol Fe/kg als minimalen Wert nach i.v. Injektion ca. 17 – 27 ms. Dieser relaxometrisch erhobene Wert ist nur bedingt auf die Situation der Bildgebung mit GRE-Sequenzen übertragbar, zeigt jedoch an, dass mit einer entsprechend kurzen Echozeit von ca. 1,0 – 1,5 ms, wie sie an modernen MR-Tomographen möglich ist, noch eine ausreichende Signaintensität zu erzielen sein müsste.

Zusammenfassend kann für den hier beschriebenen Studienabschnitt gesagt werden, dass VSOP-C184 ein sicheres und gut verträgliches Medikament ist und dass VSOP-C184 als i.v. Bolus appliziert werden kann. Die hier als Wirksamkeitsparameter bestimmten Blut-Relaxationszeiten und Bluthalbwertszeiten deuten an, dass VSOP-C184 ein für die MR-Angiographie gut einsetzbares Blut-Pool Kontrastmittel ist.

5.4.2 Klinische Phase IB: Erste Wirksamkeitsprüfung für VSOP-C184 in der MR-Angiographie der Koronararterien

In diesem Studienabschnitt wurden erste Daten zur Wirksamkeit von VSOP-C184 als Kontrastmittel für die MR-Angiographie der Koronararterien am Menschen erhoben. Die Ergebnisse zeigen, dass durch die intravenöse Injektion des Blut-Pool Kontrastmittels VSOP-C184 eine kontrastreichere Darstellung der Koronararterien gelingt, die der Darstellung ohne Kontrastmittel überlegen ist. Insbesondere ermöglicht die lang anhaltende intravasale Verweildauer von VSOP-C184 in Verbindung mit der stark T_1 -Relaxationszeit verkürzenden Wirkung mit einer einzigen Messung die volumendeckende Abbildung des gesamten Herzens in hoher Auflösung mit Darstellung der Hauptstämme

der drei Koronararterien in ihrem gesamten Verlauf.

Neben der Prüfung der prinzipiellen Eignung von VSOP-C184 als Blut-Pool Kontrastmittel für die MR-Angiographie der Koronararterien sollte in diesem Studienabschnitt auch ein Vergleich zwischen Vertretern der beiden wesentlichen, heute für die MR-Angiographie der Koronararterien eingesetzten Gruppen von Untersuchungstechniken durchgeführt werden. Dies sind zum einen Atemstopp-Techniken, wobei in der Regel pro Atemstopp ein schmales Volumen entlang eines Koronararterienabschnittes aufgenommen wird (268). Zum anderen ist dies die Gruppe der Navigator-Techniken, wobei während freiem Atmens die Position des Zwerchfells registriert wird und nur Daten, die während einer zuvor festgelegten Atemexkursionslage aufgenommen wurden, für die Bildrekonstruktion verwendet werden (250). In diesem Studienabschnitt wurde für beide Akquisitionstechniken – Atemstopp und Navigator – als Pulssquenz eine einfache segmentierte 3D-Gradientenechosequenz eingesetzt. Hierbei wurde in der präkontrast Untersuchung keine weitere Magnetisierungspräparation verwendet. Sequenzen mit verbessertem Kontrast in der Nativuntersuchung, z.B. durch T_2 -Präparation (27), waren zum Zeitpunkt der Durchführung dieser Studie an unserem MR-Tomographen nicht verfügbar. Nach Kontrastmittelinjektion wurde vor der Datenaufnahme ein Inversionspuls mit entsprechender Inversionsverzögerung von $TI=360$ ms angewendet, um den Effekt des Blut-Pool Kontrastmittels entsprechend zu nutzen (87).

Bezüglich der ausgewerteten quantitativen Parameter SD/R und VED fand sich sowohl in der Atemstopp- als auch in der Navigator Sequenz nach Kontrastmittelgabe im Vergleich zur Nativuntersuchung ein signifikant besseres Ergebnis. Das SD/R (Signaldifferenz-zu-Rausch Verhältnis) gilt als Maß für den Kontrast zwischen Koronararterie und unmittelbarer Umgebung. VED (Vessel Edge Definition) wurde als Parameter für die Konturschärfe des Gefäßes vorgeschlagen, wobei die maximale Steigung des Signalintensitätsverlaufes entlang von Profilen quer zur Koronararterie verwendet wurde (57). Bislang wurde weder eine experimentelle noch eine klinische Studie zur MR-Angiographie der Koronararterien mit einem intraindividuellen Vergleich von Atemstopp- und Navigator Sequenzen in Kombination mit einem Blut-Pool Kontrastmittel veröffentlicht. Die Prüfung sowohl von Atemstopp- als auch Navigator Sequenzen nach Kontrastmittelgabe an ein und demselben Individuum wurde in der vorliegenden Studie durch die lange Halbwertszeit der T_1 -Relaxationszeit verkürzenden Wirkung von VSOP-C184 von ca. 60 min am Menschen ermöglicht. Herborn und Mitarbeiter prüften zwar in einer ersten klinischen Wirksamkeitsprüfung des Gd-haltigen Blut-Pool Kontrastmittels SH L 643A (Gadomer) an gesunden Probanden ebenfalls Atemstopp- und Navigator Sequenzen, diese wurden jedoch an zwei verschiedenen Kollektiven

angewendet (84). In dieser Studie wurde für das Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis, einem zu dem in der eigenen Studie verwendeten SD/R-Wert äquivalenten Parameter, in der postkontrast Untersuchung für die Navigatortechnik lediglich ein Trend zu einer Verbesserung gefunden, für die Atemstopp Sequenz jedoch ein signifikant höherer Wert. Es kann hier lediglich spekuliert werden, dass das Bildgebungsfenster von SH L 643A, das zu der Gruppe der Blut-Pool Kontrastmittel mit schneller renaler Ausscheidung gehört (144) und einen myokardialen Signalanstieg verursacht (208), für die Anwendung länger dauernder Navigator Sequenzen weniger geeignet ist als für schneller durchführbare Atemstopp Sequenzen.

VSOP-C184 ist nach eigenem Wissen derzeit das einzige Eisenoxid-basierte Blut-Pool Kontrastmittel, das für die MR-Angiographie der Koronararterien geprüft wird. Das USPIO NC100150 wurde in klinischen Prüfungen der Phase II ausführlich für die MR-Angiographie der Koronararterien geprüft und seine Eignung bezüglich einer verbesserten Darstellung der Koronararterien belegt (36, 104, 194, 235). Allerdings wurde zwischenzeitlich die klinische Entwicklung von NC100150 sowohl für die MR-Angiographie der Koronararterien als auch für andere Anwendungen aufgrund von Marktanalysen mit der Begründung eingestellt, dass für diese Substanzklasse keine Indikation gesehen wird (156). Für die Anwendung eines Blut-Pool Kontrastmittels für die MR-Angiographie der Arterien des Körperstamms oder der peripheren Arterien mag dieses zutreffen, da in der Equilibriumphase eine Überlagerung der Arterien durch die begleitenden Venen erfolgt (123). Insbesondere die MR-Angiographie der Koronararterien dürfte jedoch vom Einsatz eines Blut-Pool Kontrastmittels profitieren (87), so dass Substanzentwicklungen auf diesem Gebiet gerechtfertigt erscheinen.

Ein wichtiger Diskussionspunkt zu USPIO in der Gefäßdiagnostik sind Signalveränderungen am Gefäßendothel bzw. am Endokard. Studien zur kontrastmittelverstärkten MR-Angiographie der Koronararterien mit dem USPIO Kontrastmittel NC100150 zeigten, dass nach Kontrastmittelinjektion im Vergleich zur Nativuntersuchung der Durchmesser der Koronararterien geringer war (235) oder dass sich die Grenze zwischen Blut und Endokard nach Kontrastmittelinjektion dunkel demarkiert (236). In der eigenen Studie zu VSOP-C184 wurden keine Hinweise auf derartige Effekte gefunden. Die Durchmesser der Koronararterien ergaben in der präkontrast im Vergleich zur postkontrast Untersuchung identische Werte. Das Phänomen eines Signalverlustes am Koronarendothel oder am Endokard wurde für VSOP-C184 nicht beobachtet. Letztendlich ist nicht belegt, welche Effekte zu dem für NC100150 beobachteten Effekt führten.

Die hier im letzten Abschnitt der vorgelegten Arbeit beschriebene Studie zur ersten

Wirksamkeitsprüfung der Substanz VSOP-C184 in der MR-Angiographie der Koronararterien hat einige Limitationen. Die beschriebenen Resultate basieren auf der Untersuchung einer begrenzten Anzahl von gesunden Probanden. Die Ergebnisse können daher nur orientierenden Charakter haben. Allerdings kann gesagt werden, dass diese Studie wichtige Informationen für die Planung des MR-Untersuchungsprotokolles der weiteren klinischen Prüfung von VSOP-C184 für die MR-Angiographie der Koronararterien geliefert hat. Des Weiteren ist aus dem Spektrum möglicher MR-Untersuchungstechniken für die präkontrast und die postkontrast Untersuchung lediglich eine einfache Standardsequenz mit den entsprechenden Modifikationen für die Atemstopp- und Navigatorstechnik eingesetzt worden. Die Einbeziehung einer größeren Anzahl von Untersuchungstechniken im Sinne einer Sequenzoptimierung hätte jedoch den Rahmen dieser orientierenden Studie gesprengt und muss weiteren tierexperimentellen und klinischen Prüfungen vorbehalten bleiben.

Vorbehaltlich der Ergebnisse der weiteren klinischen Prüfung kann VSOP-C184 als ein Blut-Pool Kontrastmittel für die nicht invasive Diagnostik der Koronararterien angesehen werden. Falls die MR-Angiographie der Koronararterien mit VSOP-C184 im Vergleich mit dem Herzkatheter eine ausreichend hohe Treffsicherheit in der Diagnostik klinisch relevanter Koronararterienstenosen aufweist, könnten die Risiken der Herzkatheteruntersuchung vermieden werden und eventuell Kosten gesenkt werden. Ein Eisenoxid-basiertes Blut-Pool Kontrastmittel könnte in der Diagnostik der Koronararterien neben der Lumendarstellung auch eine Beurteilung der Gefäßwand, insbesondere die Detektion vulnerabler Plaques ermöglichen (203).

Anhand dieser klinischen Studie an gesunden Probanden kann gesagt werden, dass VSOP-C184 ein effizientes Blut-Pool Kontrastmittel für die MR-Angiographie der Koronararterien darstellt und gleichzeitig gut verträglich ist. Insbesondere ermöglicht der langanhaltende kontraststeigernde Effekt von VSOP-C184 die Abbildung des gesamten Herzens mit Darstellung der Hauptstämme der drei Koronararterien über die gesamte Länge innerhalb einer Messung. Die Ergebnisse rechtfertigen die weitere klinische Prüfung im Rahmen einer Phase II und III.