DOI: 10.21870/0131-3878-2017-26-1-78-88

Влияние химической структуры фосфоновых кислот, меченных ^{188}Re , на их поведение в организме лабораторных животных

Тищенко В.К.¹, Петриев В.М.^{1,2}, Сморызанова О.А.¹, Михайловская А.А.¹

¹ МРНЦ им. А.Ф.Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, Обнинск;

² Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва

Данная работа посвящена изучению влияния химической структуры ряда фосфоновых кислот, меченных ^{188}Re , на их фармакокинетические свойства в организме интактных крыс после внутривенного введения. Были исследованы свойства кислот с двумя фосфоновыми группами – 1-гидроксиэтилиден-1,1-дифосфоновая кислота (ОЭДФ), четырьмя фосфоновыми группами – N,N,N',N'-этилендиаминтетраakis(метилфосфоновая кислота) (ЭДТМФ) и окса-бис(этиленнитрило)тетра(метилфосфоновая кислота) (ОЭНТМФ), пятью фосфоновыми группами диэтилентриаминопентаkis(метилфосфоновая кислота) (ПФК). Эффективность связывания ^{188}Re с фосфоновыми кислотами составляет не менее 95%. Радиохимические примеси в растворе меченого препарата не превышают 5,0%. Все исследуемые соединения обладают высокой стабильностью *in vivo* и селективно накапливаются в костной ткани. Показано, что химическая структура фосфоновых кислот влияет на накопление меченых соединений в костной ткани. По уровню накопления активности в скелете препараты можно расположить в следующем порядке (в порядке убывания): ^{188}Re -ПФК > ^{188}Re -ОЭДФ > ^{188}Re -ЭДТМФ > ^{188}Re -ОЭНТМФ. Все препараты характеризуются быстрым выведением из крови и минимальным накоплением во внутренних органах и тканях. Выведение радиоактивности из организма происходит через мочевыводящие пути. В других органах и тканях – в лёгких, печени, селезёнке и мышечной ткани – максимальные значения активностей отмечаются сразу после введения препаратов, однако уже через 1 ч значительная часть активности выводится.

Ключевые слова: фосфоновая кислота, ^{188}Re , фармакокинетика, радионуклидная терапия, 1-гидроксиэтилиден-1,1-дифосфоновая кислота, N,N,N',N'-этилендиаминтетраakis(метилфосфоновая кислота), диэтилентриаминопентаkis(метилфосфоновая кислота), окса-бис(этиленнитрило)тетра(метилфосфоновая кислота), коэффициент дифференциального накопления, остеотропные препараты.

Введение

Одним из эффективных методов лечения костных метастазов является системная радионуклидная терапия. Наиболее перспективными для этой цели являются фосфоновые кислоты – идеальные соединения для доставки радиоактивных изотопов в костную ткань. Они характеризуются наличием Р–С–Р-связи, обеспечивающей биохимическую резистентность фосфонатов и их связывание с гидроксиапатитом костной ткани. Кроме того, фосфоновые кислоты оказывают прямое антирезорбтивное действие на костную ткань за счёт ингибирования остеокластов [1]. Химическая структура этих кислот характеризуется разным содержанием фосфоновых групп в составе молекулы (от одной до шести групп), а также фосфоновые кислоты бывают азотсодержащими и не содержащими азот.

Наиболее эффективными считаются азотсодержащие фосфонаты, механизм действия которых заключается в ингибировании фarnезилпирофосфатсинтазы – ключевого фермента, необходимого для посттрансляционной модификации внутриклеточных сигнальных белков остеокластов [1, 2]. Помимо антиостеолитического действия, фосфонаты могут подавлять проли-

Тищенко В.К. – с.н.с., к.б.н.; Петриев В.М.* – в.н.с., д.б.н., проф. НИЯУ МИФИ; Сморызанова О.А. – с.н.с., к.б.н.; Михайловская А.А. – с.н.с., к.б.н. МРНЦ им. А.Ф.Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России.

*Контакты: 249036, Калужская обл., Обнинск, ул. Королёва, 4. Тел.: (484) 399-71-00; e-mail: petriev@mrrc.obninsk.ru.

ферацию опухолевых клеток рака предстательной железы, молочной железы, колоректального рака, множественной миеломы и др. [3-7].

Радионуклид ^{188}Re считается перспективным для создания терапевтических радиофарм-препаратов (РФП). Период полураспада ^{188}Re составляет 17 ч, энергия гамма-квантов – 0,155 (15,2%) МэВ, максимальная энергия бета-частиц – 2,12 МэВ. Генераторная система $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ позволяет продуцировать радионуклид ^{188}Re в течение 4-6 месяцев [8], поэтому проводить метку препаратов ^{188}Re можно непосредственно перед применением РФП в клинике. Терапевтический эффект ^{188}Re обусловлен преимущественно β^- -излучением, а наличие в спектре излучения гамма-квантов позволяет контролировать распределение РФП в организме с помощью гамма-камеры.

Целью настоящего исследования является изучение влияния химической структуры фосфоновых кислот, меченных ^{188}Re , на их фармакокинетические свойства в организме intact-ных крыс после внутривенного введения.

Материалы и методы

Для изучения влияния химической структуры производных фосфоновых кислот на их фармакокинетику в организме лабораторных животных были получены четыре препарата, содержащие от двух до пяти фосфоновых групп: 1-гидроксиэтилиден-1,1-дифосфоновая кислота (^{188}Re -ОЭДФ), окса-бис(этиленнитрило)тетра(метиленфосфоновая кислота) (^{188}Re -ОЭНТМФ), N,N,N',N'-этилендиаминтетракис(метиленфосфоновая кислота) (^{188}Re -ЭДТМФ) и диэтилен-триаминопентакис(метилфосфоновая кислота) (^{188}Re -ПФК). В структуре ОЭДФ содержится две фосфоновые группы, ОЭНТМФ и ЭДТМФ – четыре фосфоновые группы, ПФК – пять фосфоновых групп.

Для получения меченых препаратов использовали монокалийевую соль ОЭДФ (фармакопейное наименование – ксидифон) – 20% раствор, ФС 42-3184-95 (производства ОАО «Мосхим-фармпрепараты» им. Н.А. Семашко), ОЭНТМФ была получена в АО «НИФХИ им. Л.Я. Карпова», ЭДТМФ – производства компании Sigma-Aldrich, ПФК – производства компании Fluka (Германия). ^{188}Re получали в виде раствора $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ путём элюирования изотоническим раствором (0,9% раствор NaCl) с колонки генератора $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ производства АО «ГНЦ РФ – ФЭИ».

Метку препаратов проводили по методике, описанной в работах [9, 10]. Для этого использовали лиофилизаты, содержащие наборы реагентов, необходимые для образования комплексных соединений ^{188}Re с производными фосфоновых кислот. Во флакон с набором реагентов вводили элюат ^{188}Re в виде раствора перрената натрия ($\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$) в изотоническом растворе объёмом 2,0-4,0 мл с объёмной активностью, равной 3,7-7,4 МБк/мл (0,1-0,2 мКи/мл). Эффективность связывания ^{188}Re с лигандами фосфоновых кислот и радиохимические примеси в препаратах определяли с помощью бумажной хроматографии на ватмане-1 производства компании Sigma (Англия). В качестве подвижной фазы использовали ацетон и смесь EtOH : 25% раствор аммиака: H_2O в соотношении 2:5:5. Количественное определение меченого препарата и радиохимических примесей в виде $^{188}\text{ReO}_4^-$ и $^{188}\text{ReO}_2$ проводили с помощью радиометрии полосок хроматографической бумаги. Эффективность связывания ^{188}Re с лигандами фосфоновых кислот составляла не менее 95%. Радиохимические примеси в растворе меченого препарата не превышали 5,0%.

Исследования фармакокинетики РФП проводили на белых беспородных крысах-самцах весом 180 ± 40 г. Всего было использовано 80 животных, которые были поделены на четыре

группы (по 20 крыс в каждой). На животных первой, второй, третьей и четвёртой групп исследовали фармакокинетику ^{188}Re -ОЭДФ, ^{188}Re -ОЭНТМФ, ^{188}Re -ЭДТМФ и ^{188}Re -ПФК соответственно. Введение меченых препаратов осуществлялось внутривенно (в хвостовую вену) по 0,37 МБк (0,01 мКи) в объёме 0,1 мл. Количество вводимого РФП составляло 2,27-3,57 мг/кг массы животного. Через определённые интервалы времени (5 мин, 1, 3, 24 и 48 ч) по 4 животных в каждый срок забивали под наркозом декапитацией, выделяли пробы органов и тканей, помещали в пластиковые пробирки, взвешивали на электронных весах «Sartorius» (Германия) и проводили радиометрию с помощью автоматического гамма-счётчика «Wizard» версии 2480 фирмы «PerkinElmer/Wallac» (Финляндия). По данным радиометрии на каждый срок наблюдения для каждого препарата рассчитывали удельную активность на 1 г ткани в процентах от введённого количества. Результаты радиометрии обрабатывали методом оценки среднеквадратичной ошибки средней величины ($M \pm m$).

Кроме того, были рассчитаны коэффициенты дифференциального накопления (КДН) как частное от деления величин концентрации меченых препаратов в костной ткани и других органах и тканях.

Результаты и обсуждение

Сравнительные данные фармакокинетических свойств РФП ^{188}Re -ПФК, ^{188}Re -ОЭДФ, ^{188}Re -ОЭНТМФ и ^{188}Re -ЭДТМФ приведены в табл. 1, из которой видно, что для исследуемых препаратов характерна выраженная аккумуляция в костной ткани. Значительное содержание препаратов в скелете отмечается сразу же после их внутривенного введения (рис. 1-4). Через 1-3 ч концентрации РФП достигают максимальных значений, что характерно для многих меченых фосфонатов [11-14]. В более поздние сроки (24-48 ч) происходит постепенное выведение активности из костной ткани.

Таблица 1
Распределение ^{188}Re -ОЭДФ, ^{188}Re -ОЭНТМФ, ^{188}Re -ЭДТМФ, ^{188}Re -ПФК в организме интактных крыс после внутривенного введения препаратов (в % на 1 г ткани)

№ п/п	Наименование органа, ткани	Наименование препарата	Время после введения препарата				
			5 мин	1 ч	3 ч	24 ч	48 ч
1	Кровь	^{188}Re -ОЭДФ	1,10±0,24	0,36±0,04	0,21±0,02	0,08±0,01	0,033±0,007
		^{188}Re -ОЭНТМФ	0,83±0,12	0,24±0,03	0,10±0,01	0,04±0,01	0,054±0,014
		^{188}Re -ЭДТМФ	1,46±0,11	0,35±0,03	0,27±0,03	0,074±0,002	0,027±0,004
		^{188}Re -ПФК	2,05±0,57	0,46±0,01	0,32±0,03	0,10±0,01	0,033±0,006
2	Щитовидная железа	^{188}Re -ОЭДФ	0,64±0,23	0,63±0,15	0,74±0,09	0,45±0,02	0,17±0,03
		^{188}Re -ОЭНТМФ	1,32±0,20	1,81±0,24	1,16±0,17	0,50±0,15	1,28±0,30
		^{188}Re -ЭДТМФ	0,68±0,12	0,51±0,09	0,81±0,13	0,18±0,02	0,16±0,05
		^{188}Re -ПФК	1,44±0,21	0,45±0,14	0,85±0,21	0,23±0,05	0,26±0,07
3	Лёгкие	^{188}Re -ОЭДФ	0,62±0,12	0,22±0,02	0,12±0,01	0,065±0,009	0,038±0,002
		^{188}Re -ОЭНТМФ	0,49±0,08	0,15±0,01	0,07±0,01	0,028±0,005	0,015±0,003
		^{188}Re -ЭДТМФ	0,83±0,11	0,55±0,06	0,23±0,07	0,027±0,003	0,063±0,007
		^{188}Re -ПФК	1,22±0,19	0,34±0,01	0,20±0,01	0,066±0,004	0,032±0,002
4	Печень	^{188}Re -ОЭДФ	0,27±0,05	0,20±0,03	0,14±0,01	0,092±0,008	0,073±0,007
		^{188}Re -ОЭНТМФ	0,25±0,02	0,09±0,01	0,05±0,01	0,026±0,002	0,024±0,004
		^{188}Re -ЭДТМФ	0,66±0,11	0,52±0,06	0,28±0,07	0,210±0,020	0,092±0,006
		^{188}Re -ПФК	0,41±0,08	0,19±0,03	0,19±0,02	0,060±0,004	0,036±0,003
5	Почки	^{188}Re -ОЭДФ	2,67±0,77	4,19±0,18	3,55±0,42	1,64±0,06	0,94±0,12
		^{188}Re -ОЭНТМФ	1,12±0,19	1,79±0,06	1,48±0,07	0,84±0,20	0,68±0,04
		^{188}Re -ЭДТМФ	5,79±1,17	2,10±0,20	5,69±0,42	1,16±0,02	0,66±0,08
		^{188}Re -ПФК	4,11±1,43	4,78±0,51	3,59±0,19	1,32±0,09	0,86±0,03

Продолжение таблицы 1

№ п/п	Наименование органа, ткани	Наименование препарата	Время после введения препарата				
			5 мин	1 ч	3 ч	24 ч	48 ч
6	Селезёнка	$^{188}\text{Re-OЭДФ}$	0,19±0,04	0,11±0,01	0,09±0,01	0,050±0,006	0,039±0,004
		$^{188}\text{Re-OЭНТМФ}$	0,17±0,01	0,05±0,01	0,04±0,01	0,019±0,005	0,014±0,001
		$^{188}\text{Re-ЭДТМФ}$	0,33±0,07	0,07±0,01	0,11±0,03	0,048±0,012	0,140±0,020
		$^{188}\text{Re-ПФК}$	0,30±0,06	0,12±0,01	0,10±0,01	0,049±0,002	0,022±0,002
7	Желудок без содержимого	$^{188}\text{Re-OЭДФ}$	0,44±0,10	0,47±0,11	0,50±0,09	0,16±0,04	0,058±0,004
		$^{188}\text{Re-OЭНТМФ}$	0,20±0,03	0,36±0,05	0,34±0,01	0,06±0,02	0,022±0,002
		$^{188}\text{Re-ЭДТМФ}$	0,49±0,04	0,34±0,03	0,88±0,07	0,13±0,03	0,033±0,004
		$^{188}\text{Re-ПФК}$	0,72±0,11	0,49±0,06	0,63±0,07	0,11±0,01	0,034±0,004
8	Мышца бедра	$^{188}\text{Re-OЭДФ}$	0,28±0,10	0,078±0,013	0,040±0,005	0,023±0,007	0,011±0,002
		$^{188}\text{Re-OЭНТМФ}$	0,10±0,02	0,027±0,004	0,018±0,007	0,007±0,002	0,006±0,001
		$^{188}\text{Re-ЭДТМФ}$	0,21±0,04	0,048±0,006	0,045±0,011	0,009±0,002	0,012±0,003
		$^{188}\text{Re-ПФК}$	0,42±0,07	0,096±0,015	0,047±0,006	0,019±0,002	0,009±0,001
9	Кость бедра	$^{188}\text{Re-OЭДФ}$	1,01±0,27	2,29±0,16	2,05±0,37	1,59±0,20	1,01±0,11
		$^{188}\text{Re-OЭНТМФ}$	0,34±0,02	1,17±0,07	0,96±0,14	0,71±0,09	0,56±0,08
		$^{188}\text{Re-ЭДТМФ}$	1,38±0,11	1,59±0,07	1,44±0,20	0,95±0,03	0,56±0,10
		$^{188}\text{Re-ПФК}$	1,79±0,19	3,31±0,21	2,60±0,31	1,64±0,12	0,86±0,05
10	Кость черепа	$^{188}\text{Re-OЭДФ}$	0,66±0,15	1,19±0,11	1,05±0,12	0,86±0,08	0,79±0,06
		$^{188}\text{Re-OЭНТМФ}$	0,33±0,04	0,88±0,05	0,72±0,08	0,63±0,07	0,40±0,06
		$^{188}\text{Re-ЭДТМФ}$	0,70±0,11	0,90±0,03	0,71±0,07	0,50±0,02	0,27±0,03
		$^{188}\text{Re-ПФК}$	1,40±0,14	1,91±0,30	1,77±0,15	1,09±0,14	0,65±0,05
11	Кость ребра	$^{188}\text{Re-OЭДФ}$	0,63±0,11	1,32±0,19	1,31±0,16	1,50±0,20	1,33±0,24
		$^{188}\text{Re-OЭНТМФ}$	0,29±0,02	0,89±0,07	0,68±0,08	0,51±0,07	0,34±0,01
		$^{188}\text{Re-ЭДТМФ}$	0,62±0,04	0,73±0,04	0,62±0,06	0,44±0,04	0,24±0,04
		$^{188}\text{Re-ПФК}$	1,28±0,26	3,07±0,42	2,69±0,48	1,71±0,18	1,46±0,18
12	Кость позвоночника с костным мозгом	$^{188}\text{Re-OЭДФ}$	1,01±0,24	1,13±0,12	0,92±0,06	0,58±0,05	0,46±0,01
		$^{188}\text{Re-OЭНТМФ}$	0,32±0,01	0,76±0,05	0,81±0,10	0,58±0,06	0,42±0,05
		$^{188}\text{Re-ЭДТМФ}$	1,03±0,08	1,04±0,08	0,83±0,08	0,56±0,04	0,33±0,07
		$^{188}\text{Re-ПФК}$	1,39±0,11	1,62±0,22	1,41±0,11	0,93±0,05	0,48±0,01

Рис. 1. Кинетика накопления и выведения $^{188}\text{Re-OЭДФ}$, $^{188}\text{Re-OЭНТМФ}$, $^{188}\text{Re-ЭДТМФ}$ и $^{188}\text{Re-ПФК}$ в костной ткани бедра интактных крыс.

Аналогичные тенденции в распределении активности отмечаются в костях черепа, рёбер и позвоночника (рис. 2-4). После введения препаратов их концентрация в костях постепенно увеличивается до максимальных значений через 1-3 ч. В дальнейшем концентрация всех РФП

постепенно снижается, но, в связи с тем, что выведение активности из крови и других органов, тканей существенно интенсивнее, в костях этот показатель остаётся на относительно высоком уровне. Из исследованных четырёх препаратов наиболее высокая концентрация активности в костях характерна для ^{188}Re -ПФК. Так, например, в костной ткани бедра и ребра его концентрация превышает 3%/г. Наиболее низкая концентрация активности отмечается в костях после внутривенного введения ^{188}Re -ОЭНТМФ, которая не превышает 0,89%/г во все сроки исследования (рис. 2-4).

Рис. 2. Кинетика накопления и выведения ^{188}Re -ОЭДФ, ^{188}Re -ОЭНТМФ, ^{188}Re -ЭДТМФ и ^{188}Re -ПФК в костной ткани черепа intactных крыс.

Рис. 3. Кинетика накопления и выведения ^{188}Re -ОЭДФ, ^{188}Re -ОЭНТМФ, ^{188}Re -ЭДТМФ и ^{188}Re -ПФК в костной ткани ребра intactных крыс.

Рис. 4. Кинетика накопления и выведения ^{188}Re -ОЭДФ, ^{188}Re -ОЭНТМФ, ^{188}Re -ЭДТМФ и ^{188}Re -ПФК в костной ткани позвоночника интактных крыс.

Для более детальной оценки закономерностей накопления и выведения меченых препаратов из костной ткани по сравнению с окружающими мягкими тканями были рассчитаны величины отношения удельного содержания исследуемых РФП в костях к удельному содержанию его в крови и мышце (КДН) (табл. 2 и 3). Численные значения КДН для крови меньше единицы через 5 мин после инъекции препаратов, а в остальные сроки исследования эти величины больше единицы. Максимальные значения КДН отмечаются через 48 ч (табл. 2). Аналогичные показатели КДН для мышцы больше единицы во все сроки наблюдений (табл. 3). Это свидетельствует о более интенсивном выведении активности из крови и мышцы по сравнению с костной тканью. Следует отметить, что величины КДН по отношению к мышце существенно выше, чем по отношению к крови, т.е. накопление активности в мышечной ткани значительно ниже, чем в костной ткани и крови.

Таблица 2

Отношение удельного содержания ^{188}Re -ОЭДФ, ^{188}Re -ОЭНТМФ, ^{188}Re -ЭДТМФ, ^{188}Re -ПФК в костях к удельному содержанию в крови

№ п/п	Наименование органа, ткани	Наименование препарата	Время после введения препарата				
			5 мин	1 ч	3 ч	24 ч	48 ч
1	Кость бедра/кровь	^{188}Re -ОЭДФ	0,92±0,15	6,49±0,26	9,79±1,90	19,8±1,62	36,8±10,1
		^{188}Re -ОЭНТМФ	0,34±0,04	4,21±1,20	9,63±0,70	17,2±0,96	8,60±1,66
		^{188}Re -ЭДТМФ	0,96±0,10	4,65±0,32	5,58±1,20	13,0±0,67	22,0±4,14
		^{188}Re -ПФК	1,02±0,18	7,15±0,51	8,57±1,90	15,7±0,67	28,1±4,81
2	Кость черепа/кровь	^{188}Re -ОЭДФ	0,61±0,07	3,37±0,29	5,00±0,40	11,1±1,62	29,1±7,66
		^{188}Re -ОЭНТМФ	0,31±0,02	3,18±0,89	7,33±0,62	15,4±1,10	6,70±2,17
		^{188}Re -ЭДТМФ	0,48±0,07	2,63±0,17	2,66±0,23	6,86±0,35	11,0±2,82
		^{188}Re -ПФК	0,81±0,15	4,15±0,68	5,58±0,46	10,6±1,62	20,9±3,07
3	Кость ребра/кровь	^{188}Re -ОЭДФ	0,60±0,03	3,89±0,86	6,25±0,70	20,0±4,72	48,2±12,5
		^{188}Re -ОЭНТМФ	0,29±0,04	2,97±0,51	6,87±0,30	12,4±1,58	6,00±2,50
		^{188}Re -ЭДТМФ	0,43±0,04	2,14±0,14	2,33±0,10	6,00±0,59	10,0±3,30
		^{188}Re -ПФК	0,73±0,20	6,71±1,02	9,14±2,80	16,4±1,91	50,0±14,6
4	Кость позвоночника/кровь	^{188}Re -ОЭДФ	0,97±0,20	3,18±0,23	4,43±0,37	7,45±1,00	16,3±3,59
		^{188}Re -ОЭНТМФ	0,33±0,04	3,51±0,94	8,11±0,29	14,1±0,88	6,80±1,73
		^{188}Re -ЭДТМФ	0,72±0,08	3,03±0,23	3,15±0,30	7,69±0,65	13,4±3,74
		^{188}Re -ПФК	0,80±0,16	3,50±0,46	4,49±0,53	9,02±0,62	15,9±2,97

Таблица 3

Отношение удельного содержания ^{188}Re -ОЭДФ, ^{188}Re -ОЭНТМФ, ^{188}Re -ЭДТМФ, ^{188}Re -ПФК в костях к удельному содержанию в мышце

№ п/п	Наименование органа, ткани	Наименование препарата	Время после введения препарата				
			5 мин	1 ч	3 ч	24 ч	48 ч
1	Кость бедра/мышца	^{188}Re -ОЭДФ	4,28±1,04	31,1±3,26	57,3±16,9	78,70±9,50	100,8±23,5
		^{188}Re -ОЭНТМФ	2,60±0,38	36,1±9,10	66,7±16,8	168,9±63,8	69,7±18,8
		^{188}Re -ЭДТМФ	8,30±1,15	34,6±3,70	38,5±10,3	127,7±33,6	54,7±8,03
		^{188}Re -ПФК	4,49±0,44	38,3±8,25	58,6±11,0	86,8±7,80	97,2±14,08
2	Кость черепа/мышца	^{188}Re -ОЭДФ	2,83±0,54	16,1±2,02	28,0±4,62	44,8±8,18	76,3±11,6
		^{188}Re -ОЭНТМФ	2,30±0,29	27,2±6,70	52,2±14,4	143,6±51,8	52,7±14,4
		^{188}Re -ЭДТМФ	3,70±0,81	19,6±2,30	18,2±3,50	67,8±18,5	26,9±7,50
		^{188}Re -ПФК	3,55±0,42	20,6±2,45	39,4±6,00	57,2±7,89	73,4±11,5
3	Кость ребра/мышца	^{188}Re -ОЭДФ	3,00±0,78	18,0±4,89	35,6±7,53	80,5±18,8	131,0±32,0
		^{188}Re -ОЭНТМФ	2,20±0,40	25,6±3,90	47,9±11,7	110,8±34,7	41,3±0,90
		^{188}Re -ЭДТМФ	3,30±0,60	16,1±2,40	15,6±2,40	58,5±14,7	24,4±7,20
		^{188}Re -ПФК	3,10±0,52	32,6±2,18	60,3±14,0	94,6±20,3	161,3±19,8
4	Кость позвоночника/мышца	^{188}Re -ОЭДФ	4,72±1,69	15,1±1,63	25,0±4,70	30,0±5,17	44,4±5,90
		^{188}Re -ОЭНТМФ	2,50±0,35	30,0±7,00	56,1±12,9	145,4±62,0	53,2±11,7
		^{188}Re -ЭДТМФ	6,30±1,40	22,3±1,40	21,6±4,38	77,5±23,7	34,8±12,3
		^{188}Re -ПФК	3,58±0,56	19,8±5,99	31,0±3,67	50,0±5,83	54,7±8,62

Динамика выведения ^{188}Re -ОЭДФ, ^{188}Re -ОЭНТМФ, ^{188}Re -ЭДТМФ и ^{188}Re -ПФК из крови характеризуется интенсивным снижением активности в течение 48 ч (табл. 1). Через 5 мин после инъекции в крови отмечалось 0,83-2,05%/г от введённой активности. Через 1 ч в кровотоке сохранялось 0,24-0,46%/г от введённой активности, снижаясь до 0,027-0,054%/г через 48 ч (табл. 1).

Одной из важнейших характеристик меченых препаратов является их стабильность *in vivo*. Показателем стабильности препаратов, меченных ^{188}Re , является уровень накопления активности в щитовидной железе и желудке, поскольку несвязанный ^{188}Re обладает повышенным сродством к тканям этих органов. Обращает на себя внимание повышенная аккумуляция ^{188}Re -ОЭНТМФ (0,50-1,81%/г) в щитовидной железе на протяжении всего эксперимента. Максимальные активности ^{188}Re -ПФК, ^{188}Re -ОЭДФ и ^{188}Re -ЭДТМФ составляют 1,44%/г, 0,74%/г и 0,81%/г от введённой активности соответственно (табл. 1). В желудке содержание всех РФП невелико и не превышает 1%/г (табл. 1). Таким образом, изучаемые препараты характеризуются высокой стабильностью *in vivo*.

Выведение активности происходит через мочевыделительную систему, обеспечивая, тем самым, высокое содержание РФП в почках [13-15]. ^{188}Re -ЭДТМФ характеризуется наибольшим уровнем активности в почках: его содержание варьирует в диапазоне от 0,66 до 5,79%/г. Активность ^{188}Re -ПФК в почках изменяется от 0,86 до 4,78%/г, ^{188}Re -ОЭДФ – от 0,94 до 4,19%/г. Самый низкий уровень накопления активности в почках характерен для ^{188}Re -ОЭНТМФ: от 0,68 до 1,79%/г.

Внутривенное введение РФП не приводило к значительному накоплению активности в других внутренних органах и тканях. В лёгких, печени, селезёнке и мышечной ткани максимальные значения активностей отмечаются сразу после введения препаратов, однако, уже через 1 ч значительная часть активности выводится (табл. 1). В дальнейшем концентрация препаратов в этих органах и тканях продолжает снижаться.

Заключение

Таким образом, все исследуемые РФП сразу же после их внутривенного введения в значительных количествах накапливаются в костной ткани и удерживаются в ней в течение 48 часов, однако максимальные значения активностей отмечаются через 1-3 ч. При этом содержание РФП в костной ткани неодинаково: наибольший уровень активности характерен для ^{188}Re -ПФК, а наименьший – для ^{188}Re -ОЭНТМФ, что свидетельствует о влиянии химической структуры фосфоновой кислоты на накопление активности в скелете. В остальных органах и тканях фармакокинетические свойства РФП практически одинаковы. Все препараты характеризуются быстрым выведением из крови и минимальным накоплением во внутренних органах и тканях, а также высокой стабильностью *in vivo*, оцениваемой по содержанию в щитовидной железе. Элиминация активности из организма осуществляется преимущественно выделительной системой почек.

Литература

1. **Russell R.G.** Bisphosphonates: the first 40 years //Bone. 2011. V. 49, N 1. P. 2-19.
2. **Ebetino F.H., Hogan A.M., Sun S., Tsoumpira M.K., Duan X., Triffitt J.T., Kwaasi A.A., Dunford J.E., Barnett B.L., Oppermann U., Lundy M.W., Boyde A., Kashemirov B.A., McKenna C.E., Russell R.G.** The relationship between the chemistry and biological activity of the bisphosphonates //Bone. 2011. V. 49, N 1. P. 20-33.
3. **Mani J., Vallo S., Barth K., Makarević J., Juengel E., Bartsch G., Wiesner C., Haferkamp A., Blaheta R.A.** Zoledronic acid influences growth, migration and invasive activity of prostate cancer cells *in vitro* //Prostate Cancer Prostatic Dis. 2012. V. 15, N 3. P. 250-255.
4. **Iguchi K., Tatsuda Y., Usui S., Hirano K.** Pamidronate inhibits antiapoptotic bcl-2 expression through inhibition of the mevalonate pathway in prostate cancer PC-3 cells //Eur. J. Pharmacol. 2010. V. 641, N 1. P. 35-40.
5. **Dedes P.G., Gialeli C., Tsonis A.I., Kanakis I., Theocharis A.D., Kletsas D., Tzanakakis G.N., Karamanos N.K.** Expression of matrix macromolecules and functional properties of breast cancer cells are modulated by the bisphosphonate zoledronic acid //Biochim. Biophys. Acta. 2012. V. 1820, N 12. P. 1926-1939.
6. **Notarnicola M., Messa C., Cavallini A., Bifulco M., Tecce M.F., Eletto D., Di Leo A., Montemurro S., Laezza C., Caruso M.G.** Higher farnesyl diphosphate synthase activity in human colorectal cancer inhibition of cellular apoptosis //Oncology. 2004. V. 67, N 5-6. P. 351-358.
7. **Morgan G.J., Davies F.E., Gregory W.M., Szubert A.J., Bell S.E., Drayson M.T., Owen R.G., Ashcroft A.J., Jackson G.H., Child J.A.** National Cancer Research Institute Haematological Oncology Clinical Studies Group. Effects of induction and maintenance plus long-term bisphosphonates on bone disease in patients with multiple myeloma: the Medical Research Council Myeloma IX Trial //Blood. 2012. V. 119, N 23. P. 5374-5383.
8. **Pillai M.R., Dash A., Knapp F.F. Jr.** Rhenium-188: availability from the (188)W/(188)Re generator and status of current applications //Curr. Radiopharm. 2012. V. 5, N 3. P. 228-243.
9. **Petrieve V.M., Afanasieva E.L., Skvortsov V.G., Baranov N.G.** Influence of the rhenium carrier in eluate of Re-188 on its binding with potassium-sodium salt of hydroxyethylidene biphosphonic acid //Czech. J. Phys. 2006. V. 56, Suppl. D. Part II. P. D731-D741.
10. **Petrieve V.M.** Influence of reactant concentrations and solution acidity on the complexation of ¹⁸⁸Re with 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid //Radiochemistry. 2008. V. 50, N 2. P. 203-207.
11. **Shiryaeva V.K., Petrieve V.M., Bryukhanova A.A., Smoryzanova O.A., Skvortsov V.G.** Comparative analysis of pharmacokinetic characteristics of radiopharmaceuticals based on the monopotassium salt of 1-hydroxyethylidenediphosphonic acid labeled by ^{99m}Tc and ¹⁸⁸Re //Pharm. Chem. J. 2011. V. 45, N 6. P. 333-340.
12. **Shiryaeva V.K., Petrieve V.M., Smoryzanova O.A., Skvortsov V.G.** Pharmacokinetics of ¹⁸⁸Re-labeled pentaphosphonic acid in rats with experimental bone callosity //Pharm. Chem. J. 2013. V. 47, N 5. P. 251-256.
13. **Ширяева В.К., Петриев В.М., Смори́занова О.А., Скворцов В.Г.** Изучение фармакокинетических характеристик радиофармпрепарата на основе монокалийевой соли 1-гидроксиэтилиден-дифосфоновой кислоты, меченной ¹⁸⁸Re, в организме крыс с рабдомиосаркомой М-1 //Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2012. № 5. С. 36-43.
14. **Lin W., Lin C., Yeh S., Hsieh B., Tsai Z., Ting G., Yen T., Wang S., Knapp F.F., Stabin M.** Rhenium-188 HEDP: a new generator-produced radiotherapeutic drug of potential value for treatment of bone metastases //Eur. J. Nucl. Med. 1997. V. 24, N 6. P. 590-595.
15. **Lungu V., Niculae D., Bouziotis P., Pirmettis I., Podina C.** Radiolabeled phosphonates for bone metastases therapy //J. Radioanal. Nucl. Chem. 2007. V. 273, N 3. P. 663-667.

Effect of chemical structure of some phosphonic acids labeled with ^{188}Re on their behavior in laboratory animals

Tishchenko V.K.¹, Petriev V.M.^{1,2}, Smoryzanova O.A.¹, Mikhailovskaya A.A.¹

¹ A. Tsyb MRRC, Obninsk;

² National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute), Moscow

The article considers effects of chemical structure of some phosphonic acids labeled with ^{188}Re on their pharmacokinetic behavior in organisms of intact rats following intravenous injection. The properties of acids with two phosphonic groups – 1-hydroxyethylidene-1,1-diphosphonic acid (HEDP), four phosphonic groups – N,N,N',N'-ethylenediaminetetrakis(methylenephosphonic acid) (EDTMP) and oxa-bis(ethylenenitrilo)tetra(methylenephosphonic acid) (OENTMP), five phosphonic groups diethylenetriaminopentakis(methylphosphonic acid) (PPA) were studied. Radiochemical yield of phosphonic acids labeled with ^{188}Re , is not less than 95%, the radiochemical impurities do not exceed 5.0%. All compounds have high stability *in vivo* and selectively accumulate in osseous tissue. Accumulation of the above labeled compounds in osseous tissue depends on chemical structures of phosphonic acids. The level of accumulated radioactivity in skeleton following administration of the radiopharmaceuticals can be arranged in the following descending order: $^{188}\text{Re-PPA} > ^{188}\text{Re-HEDP} > ^{188}\text{Re-EDTMP} > ^{188}\text{Re-OENTMP}$. All compounds are rapidly excreted from blood with minimal accumulation in soft organs and tissues. The excretion of radioactivity from the bodies is occurred through the urinary routes. In other organs and tissues – the lungs, liver, spleen and muscle tissue – the maximum values of radioactivity detected immediately after injection of the preparations, however after 1 h a significant part of the activity is eliminated from these tissues.

Keywords: phosphonic acid, ^{188}Re , pharmacokinetic, radionuclide therapy, 1-hydroxyethylidene-1,1-diphosphonic, N,N,N',N'-ethylenediaminetetrakis(methylenephosphonic acid), diethylenetriaminopentakis(methylphosphonic acid), oxa-bis(ethylenenitrilo)tetra(methylenephosphonic acid), coefficient of differential accumulation, osteotropic preparation.

References

1. Russell R.G. Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone*, 2011, vol. 49, no. 1, pp. 2-19.
2. Ebetino F.H., Hogan A.M., Sun S., Tsoumpra M.K., Duan X., Triffitt J.T., Kwaasi A.A., Dunford J.E., Barnett B.L., Oppermann U., Lundy M.W., Boyde A., Kashemirov B.A., McKenna C.E., Russell R.G. The relationship between the chemistry and biological activity of the bisphosphonates. *Bone*, 2011, vol. 49, no. 1, pp. 20-33.
3. Mani J., Vallo S., Barth K., Makarević J., Juengel E., Bartsch G., Wiesner C., Haferkamp A., Blaheta R.A. Zoledronic acid influences growth, migration and invasive activity of prostate cancer cells *in vitro*. *Prostate Cancer Prostatic Dis.*, 2012, vol. 15, no. 3, pp. 250-255.
4. Iguchi K., Tatsuda Y., Usui S., Hirano K. Pamidronate inhibits antiapoptotic bcl-2 expression through inhibition of the mevalonate pathway in prostate cancer PC-3 cells. *Eur. J. Pharmacol.*, 2010, vol. 641, no. 1, pp. 35-40.
5. Dedes P.G., Gialeli C., Tsonis A.I., Kanakis I., Theocharis A.D., Kletsas D., Tzanakakis G.N., Karamanos N.K. Expression of matrix macromolecules and functional properties of breast cancer cells are modulated by the bisphosphonate zoledronic acid. *Biochim. Biophys. Acta*, 2012, vol. 1820, no. 12, pp. 1926-1939.
6. Notarnicola M., Messa C., Cavallini A., Bifulco M., Tecce M.F., Eletto D., Di Leo A., Montemurro S., Laezza C., Caruso M.G. Higher farnesyl diphosphate synthase activity in human colorectal cancer inhibition of cellular apoptosis. *Oncology*, 2004, vol. 67, no. 5-6, pp. 351-358.

Tishchenko V.K. – Senior Researcher; C. Sc., Biol.; Petriev V.M.* – Lead. Researcher, D. Sc., Biol., Prof. of MEPhI; Smoryzanova O.A. – Senior Researcher; C. Sc., Biol.; Mikhailovskaya A.A. – Senior Researcher; C. Sc., Biol. A. Tsyb MRRC.

*Contacts: 4 Korolyov str., Obninsk, Kaluga region, Russia, 249036. Tel.: (484) 399-71-00; e-mail: petriev@mrrc.obninsk.ru.

7. **Morgan G.J., Davies F.E., Gregory W.M., Szubert A.J., Bell S.E., Drayson M.T., Owen R.G., Ashcrott A.J., Jackson G.H., Child J.A.** National Cancer Research Institute Haematological Oncology Clinical Studies Group. Effects of induction and maintenance plus long-term bisphosphonates on bone disease in patients with multiple myeloma: the Medical Research Council Myeloma IX Trial. *Blood*, 2012, vol. 119, no. 23, pp. 5374-5383.
8. **Pillai M.R., Dash A., Knapp F.F.Jr.** Rhenium-188: availability from the (188)W/(188)Re generator and status of current applications. *Curr. Radiopharm.*, 2012, vol. 5, no. 3, pp. 228-243.
9. **Petrieve V.M., Afanasieva E.L., Skvortsov V.G., Baranov N.G.** Influence of the rhenium carrier in eluate of Re-188 on its binding with potassium-sodium salt of hydroxyethylidene biphosphonic acid. *Czech. J. Phys.*, 2006, vol. 56, Suppl. D, Part II, pp. D731-D741.
10. **Petrieve V.M.** Influence of reactant concentrations and solution acidity on the complexation of ¹⁸⁸Re with 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid. *Radiochemistry*, 2008, vol. 50, no. 2, pp. 203-207.
11. **Shiryaeva V.K., Petrieve V.M., Bryukhanova A.A., Smoryzanova O.A., Skvortsov V.G.** Comparative analysis of pharmacokinetic characteristics of radiopharmaceuticals based on the monopotassium salt of 1-hydroxyethylidenediphosphonic acid labeled by ^{99m}Tc and ¹⁸⁸Re. *Pharm. Chem. J.*, 2011, vol. 45, no. 6, pp. 333-340.
12. **Shiryaeva V.K., Petrieve V.M., Smoryzanova O.A., Skvortsov V.G.** Pharmacokinetics of ¹⁸⁸Re-labeled pentaphosphonic acid in rats with experimental bone callosity. *Pharm. Chem. J.*, 2013, vol. 47, no. 5, pp. 251-256.
13. **Shiryaeva V.K., Petrieve V.M., Smoryzanova O.A., Skvortsov V.G.** Pharmacokinetic study of the characteristics of the radiopharmaceutical on the basis of monopotassium salt of 1-hydroxyethylidenediphosphonic acid labeled ¹⁸⁸Re in rats with rhabdomyosarcoma M-1. *Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii – Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*, 2012, vol. 5, pp. 36-43. (In Russian).
14. **Lin W., Lin C., Yeh S., Hsieh B., Tsai Z., Ting G., Yen T., Wang S., Knapp F.F., Stabin M.** Rhenium-188 HEDP: a new generator-produced radiotherapeutic drug of potential value for treatment of bone metastases. *Eur. J. Nucl. Med.*, 1997, vol. 24, no. 6, pp. 590-595.
15. **Lungu V., Niculae D., Bouziotis P., Pirmettis I., Podina C.** Radiolabeled phosphonates for bone metastases therapy. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 2007, vol. 273, no. 3, pp. 663-667.