DOI: 10.21870/0131-3878-2018-27-1-66-76

УДК 616-006.04-085.849.2.03-092.9

Новый радиофармпрепарат на основе термочувствительного полимера и ^{153}Sm для локальной радионуклидной терапии солидных опухолей

Петриев В.М.^{1,2}, Тищенко В.К.¹, Сморызанова О.А.¹, Михайловская А.А.¹, Больбит Н.М.³,
Дуфлот В.Р.³, Гайворонский А.В.³, Морозова Н.Б.⁴, Якубовская Р.И.⁴

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

² Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва;

³ АО «НИФХИ им. Л.Я. Карпова», Обнинск;

⁴ МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва

Данная работа посвящена изучению фармакокинетических свойств нового радиофармпрепарата на основе термочувствительного полимера и ^{153}Sm (^{153}Sm -КАРП-ХеМ) для локальной радиотерапии солидных опухолей. Изучение биораспределения проводилось на мышах F1 и C57Bl/6 с имплантированными подкожно саркомой S37 и меланомой B16 соответственно при внутриопухолевом введении препарата (0,18-0,37 МБк, 0,1 мл). Результаты показали, что наибольшее количество активности отмечается в опухолевой ткани (т.е. в месте введения препарата). Через 7 дней после инъекции уровень активности в ткани саркомы S37 составил 57,2% от введённой дозы, а в ткани меланомы B16 – 42,2% от введённой дозы. При этом удержание меченого препарата опухолевой тканью саркомы S37 выше, чем тканью меланомы B16, особенно в поздние сроки исследования. Пиковое значение активности в печени составило 1,14%/г. Транзиторное увеличение концентрации меченого препарата наблюдалось в желудке (до 4,22%/г через 5 мин), лёгких (до 1,15%/г через 1 ч) и коже (до 1,34%/г через 1 ч), однако затем она быстро снижалась. Повышенный уровень активности отмечался в почках, поскольку большая часть её выводилась через мочевыделительную систему. Концентрация активности в щитовидной железе, селезёнке, сердце, головном мозге, тонком кишечнике, мышечной ткани и бедренной кости была ниже 1%/г в течение всего срока исследования. Статистически значимых различий между уровнями активности во внутренних органах и тканях у мышей с саркомой S37 и меланомой B16 практически не выявлено. Таким образом, полученные результаты предполагают возможность использования данного радиофармпрепарата для локальной терапии опухолей.

Ключевые слова: радиофармпрепарат, термочувствительный полимер, ^{153}Sm , фармакокинетические свойства, радионуклидная терапия, радиобиологические эффекты, саркома S37, меланомы B16, коэффициент дифференциального накопления, N-изопропилакриламид, N-метакрилоилтирозиламид, дизитлентриаминпентауксусная кислота.

Введение

В последние десятилетия всё больший интерес для науки представляют так называемые «умные» или «стимул-чувствительные» материалы («smart» materials). Такие материалы способны обратимо реагировать на небольшие изменения во внешней среде заранее запрограммированным образом.

Наиболее изученными стимул-чувствительными материалами являются термочувствительные полимеры, проявляющие способность к фазовым и конформационным переходам при температуре, превышающей нижнюю критическую температуру растворения. Такие фазовые и конформационные переходы обусловлены амфифильностью молекул, и могут быть использованы для контролируемой локальной доставки лекарственных средств или радионуклидов, ко-

Петриев В.М.* – в.н.с., д.б.н., проф. НИЯУ МИФИ; Тищенко В.К. – с.н.с., к.б.н.; 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 «НМИЦ радиологии» Минздрава России. Больбит Н.М. – вед. технолог, к.х.н.; Дуфлот В.Р. – директор по науке и инновациям, д.х.н.; Гайворонский А.В. – инж. АО «НИФХИ им. Л.Я. Карпова». Морозова Н.Б. – н.с., к.б.н.; Якубовская Р.И. – зав. отд., д.б.н. МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России.

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

торая основана на том, что в полимерных микрочастицах и плёнках вблизи температуры перехода диффузия инкорпорированного вещества сильно зависит от температуры.

Местная радиотерапия злокачественных опухолей с использованием термочувствительного полимера в качестве переносчика радионуклида обладает рядом преимуществ. Во-первых, это позволит накопить максимальное количество радиоактивности именно в опухолевой ткани и избежать побочных эффектов, связанных с системным введением препарата [1-4]. В работах [5, 6] показано, что применение термочувствительных полимеров приводит к задержке радиоактивности в месте инъекции. Во-вторых, отщепление радионуклида от молекулы-переносчика не является обязательным для эффективной терапии. Более того, радионуклиду не нужно поступать внутрь клетки для достижения эффекта, поскольку радиоактивное излучение может воздействовать на опухолевые клетки дистанционно. Раствор полимера может быть введён путём инъекции, что существенно легче хирургической имплантации радиоактивных источников при брахитерапии [7].

Радионуклид ^{153}Sm относится к β -излучателям ($E_{\beta}=233$ кэВ) с периодом полураспада 1,9 дня. ^{153}Sm излучает также γ -кванты ($E_{\gamma}=103$ кэВ), что позволяет проводить сцинтиграфию и визуализировать накопление радионуклида в скелете. Короткий период полураспада позволяет использовать высокие активности, что обеспечивает более раннее наступление клинического эффекта.

Данная работа посвящена изучению фармакокинетических свойств нового радиофармпрепарата (РФП) на основе термочувствительного коллапсирующего акварастора полимера и радионуклида ^{153}Sm .

Материалы и методы

Радиофармпрепарат « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» – коллапсирующий полимер, растворённый в воде, хелатно меченного радионуклидом ^{153}Sm . Препарат синтезирован в АО «Физико-химический институт им. Л.Я. Карпова» и представляет собой 12%-ный раствор термочувствительного гомополимера-загустителя – поли-Н-изопропилакриламида (ПНИПА) в ацетатном буфере, содержащий сополимерные цепочки Н-изопропилакриламида (НИПА) с аллиламином (Аам), этерифицированным хелатирующим агентом (диангидрид диэтилентриаминпентауксусная кислота, ДАДТПА) с целью обеспечения прочной хелатной связи с ионами $^{153}\text{Sm}^{3+}$.

Инъекционная форма РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» готовится из двух компонентов. Сополимер НИПА и Аам подвергается этерифицированию ДАДТПА и последующему радиоактивному мечению солянокислым раствором $^{153}\text{SmCl}_3$. Из продукта реакции мечения в результате колоночного элюирования ацетатным буфером выделяется фракция в виде разбавленного раствора макромолекул сополимера-носителя, содержащий хелатный комплекс ^{153}Sm -ДТПА – первый компонент РФП, который используется в качестве растворителя для приготовления РФП в виде разбавленного раствора с концентрацией второго компонента 10-12 массовых %, представляющего собой термочувствительный полимер-загуститель ПНИПА со средней молекулярной массой ~ 100 кДа.

В биологических исследованиях использовали мышей (самки, возрастом 7-9 недель с массой 18-20 г). Исследование проводили на моделях сингенных опухолей мышей (саркома S37 и меланомы B16).

Штамм S37 (саркома мышцы) поддерживали в асцитной форме на мышцах-самцах линии ICR (CD-1) с интервалом перевивки 7-9 дней. Суспензию опухолевых клеток, выделенных из асцита, инокулировали мышам-гибридам C57Bl/6 подкожно на бок в количестве 1×10^6 клеток/мышь в 0,06 мл физиологического раствора. Исследования фармакокинетики РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» начинали на 7-8 сутки роста опухоли.

Клетки B16F1 (мышьяная меланома) культивировали в пластиковых флаконах с поверхностью роста клеток 25 см^2 (Costar, США) на среде DMEM с L-глутамином (ПанЭко, Россия) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС; ПанЭко, Россия), в увлажнённой атмосфере при температуре 37°C , в атмосфере 5% CO_2 . Для прививки животным использовали клетки, прошедшие от 3 до 8 пассажей культивирования. Клетки снимали с флаконов раствором Версена (ПанЭко, Россия), отмывали в среде DMEM, не содержащей ЭТС, и инокулировали мышам линии C57Bl/6 подкожно на бок, в количестве 1×10^6 клеток/мышь, в объёме 0,06 мл. Исследования фармакокинетики РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» начинали на 7-8 сутки роста опухоли.

Для проведения фармакокинетических исследований использовали: 30 мышей F1, самок с массой тела 16-20 г и 30 мышей C57Bl/6, самок с массой тела 16-20 г. На 7-8 сутки роста опухоли проводили однократное внутриопухолевое введение РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» в дозе 0,18-0,37 МБк (5-10 мКи) в объёме 0,1 мл.

В различные сроки (через 5 мин, 1, 3, 24, 72 и 168 ч) после внутриопухолевого введения РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» по 5 животных на каждый срок подвергали эвтаназии путём декапитации под наркозом, выделяли пробы органов и тканей, помещали их в пластиковые пробирки, взвешивали на электронных весах «Sartorius» (Германия) и проводили радиометрию с помощью автоматического гамма-счётчика «Wizard» версии 2480 фирмы PerkinElmer/Wallac (Финляндия). На момент введения в отдельную пробирку отбирали пробу раствора РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» в объёме 0,1 мл для использования в качестве стандарта введённой дозы. Кроме того, 5 животных помещали в индивидуальные клетки для сбора мочи. Затем в определённые сроки мочу собирали в пробирки, взвешивали и проводили её радиометрию. У мышей F1 с саркомой-37 сбор мочи осуществляли через 5, 24, 48, 72 и 144 ч, у мышей с меланомой B16 – через 3, 24, 48 и 144 ч после внутриопухолевого введения РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ».

По данным радиометрии в каждый срок наблюдения рассчитывали удельную активность на 1 г органа или ткани, а также общее содержание активности в органе или ткани. Также были рассчитаны численные значения отношений удельного содержания активности в опухоли к удельному содержанию в органах и тканях мышей.

Результаты радиометрии обрабатывали методом оценки квадратичной ошибки средней величины ($M \pm m$).

Результаты и их обсуждение

На протяжении всего периода наблюдения наибольшая концентрация РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» отмечалась в ткани опухоли, т.е. по месту введения препарата. Максимальное общее содержание активности в опухолевой ткани у мышей с саркомой S37 составило 85,2%/орган и зарегистрировано практически сразу (через 5 мин) после инъекции РФП. В последующие сроки уровень активности в опухоли снижался до 57,7%/орган через 72 ч после инъекции РФП и оставался на этом уровне в интервале 72-168 ч (рис. 1).

Рис. 1. Кинетика выведения активности из опухолевой ткани мышей F1 с саркомой S37 и мышей C57Bl/6 с меланомой B16 после внутриопухолевого введения РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ».

Анализ динамики выведения активности из опухолевой ткани меланомы B16 показал, что в интервале 5 мин – 168 ч после инъекции РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» уровень активности снижается с 88,2 до 42,2%/орган. Следует отметить, что в поздние сроки (24-168 ч) выведение активности из ткани меланомы B16 происходит интенсивнее, чем из ткани саркомы S37 (рис. 1). Вероятно, это связано с наиболее интенсивными метаболическими процессами в меланоме по сравнению с саркомой S37. Меланома B16 характеризуется как одно из наиболее агрессивных, низкодифференцированных и быстрорастущих злокачественных новообразований.

В работе [4] мышам с фибросаркомой внутриопухолево вводили препарат на основе поли-(N-изопропилакриламида) и L-тирозиламида, меченный ^{125}I . Однако удержание активности в опухоли составило 30% от введенной дозы через 2 ч и лишь 3-4% через 5 ч после инъекции. В другой работе [5] был синтезирован препарат на основе N-изопропилакриламида и N-метакрилоилтирозиламида, меченный ^{131}I , который вводили внутримышечно мышам BALB/c. Через 14 дней в месте введения удерживалось более 80% от введенной дозы, снижаясь до 60% через 42 дня. В остальных органах и тканях уровень активности не превышал 0,7% от введенной дозы.

Таким образом, анализ немногочисленных данных литературы подтверждает, что использование термочувствительного полимера в качестве носителя радионуклида приводит к существенному удержанию активности в месте введения.

В пересчете на 1 г опухолевой ткани уровень активности в опухоли в начальные сроки после инъекции РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» составлял выше 100%, так как масса опухоли в эти сроки была меньше единицы. Так, например, в опухолевой ткани саркомы S37 в течение 3 суток после интратуморального введения РФП активность варьировала от 108,3%/г до 186,7%/г, а через 7 суток снижалась до 56,2%/г. Максимальная активность в 1 г ткани меланомы B16 достигала 211,5%/г через 5 мин после внутриопухолевой инъекции РФП, в последующие сроки эти показатели постепенно снижались и достигали 68,9%/г и 23,4%/г через 3 и 7 суток соответственно, что существенно ниже, чем в ткани саркомы S37 ($p < 0,001-0,02$) (табл. 1).

Таблица 1

Распределение активности в органах и тканях мышей F1 с саркомой S37 и мышей C57Bl/6 с меланомой B16 после внутриопухолевого введения РФП «¹⁵³Sm-КАРП-ХеМ» (в % от введённой дозы на 1 г массы органов или тканей)

	Наименование органа, ткани	Время после введения препарата					
		5 мин	1 ч	3 ч	24 ч	72 ч	168 ч
1	Кровь	0,89±0,35* 0,99±0,10** p>0,5	0,90±0,35 0,66±0,11 p>0,5	0,25±0,05 0,20±0,02 p>0,25	0,015±0,002 0,017±0,002 p>0,25	0,004±0,001 0,009±0,002 p>0,05	0,005±0,001 0,032±0,015 p>0,1
2	Щитовидная железа	0,11±0,03 0,40±0,14 p>0,05	0,13±0,04 0,29±0,03 p<0,02	0,09±0,03 0,19±0,04 p>0,05	0,08±0,04 0,27±0,03 p<0,01	0,13±0,03 0,35±0,14 p>0,1	0,20±0,05 0,53±0,19 p>0,1
3	Лёгкие	0,33±0,11 0,35±0,05 p>0,5	0,38±0,03 1,15±0,72 p>0,25	0,17±0,03 0,26±0,08 p>0,25	0,085±0,007 0,080±0,010 p>0,5	0,045±0,005 0,11±0,04 p>0,1	0,060±0,008 0,090±0,020 p>0,1
4	Печень	0,21±0,06 0,32±0,05 p>0,1	0,69±0,08 0,85±0,10 p>0,1	0,82±0,10 0,92±0,20 p>0,5	0,98±0,03 1,07±0,06 p>0,1	0,69±0,07 1,10±0,13 p<0,05	0,76±0,08 1,14±0,07 p<0,01
5	Почки	1,41±0,52 1,93±0,26 p>0,25	4,63±0,27 5,10±0,37 p>0,25	6,45±0,75 6,85±0,42 p>0,5	6,52±0,50 7,41±0,60 p>0,25	4,06±0,54 5,31±0,62 p>0,1	3,61±0,44 5,07±0,39 p<0,05
6	Селезёнка	0,09±0,03 0,13±0,02 p>0,25	0,13±0,01 0,18±0,01 p<0,01	0,10±0,02 0,12±0,02 p>0,25	0,09±0,01 0,09±0,01 p>0,5	0,033±0,002 0,090±0,010 p<0,001	0,063±0,013 0,060±0,020 p>0,5
7	Сердце	0,23±0,06 0,27±0,04 p>0,5	0,24±0,03 0,37±0,04 p<0,05	0,14±0,01 0,15±0,03 p>0,5	0,066±0,006 0,080±0,010 p>0,25	0,061±0,026 0,080±0,020 p>0,5	0,053±0,007 0,090±0,020 p>0,1
8	Мозг головной	0,015±0,005 0,030±0,006 p>0,05	0,018±0,002 0,025±0,005 p>0,1	0,008±0,001 0,012±0,001 p<0,05	0,008±0,001 0,011±0,004 p>0,1	0,005±0,001 0,012±0,002 p<0,02	0,007±0,003 0,016±0,006 p>0,1
9	Желудок б/сод	1,31±0,60 4,22±2,41 p>0,25	0,56±0,14 2,10±1,58 p>0,25	0,22±0,04 0,50±0,18 p>0,1	0,13±0,01 0,17±0,03 p>0,1	0,09±0,01 0,14±0,02 p>0,05	0,10±0,01 0,15±0,03 p>0,1
10	Кишечник б/сод	0,19±0,06 0,26±0,02 p>0,25	0,22±0,03 0,33±0,02 p<0,02	0,14±0,03 0,19±0,02 p>0,1	0,11±0,01 0,28±0,07 p<0,05	0,08±0,02 0,18±0,04 p>0,05	0,10±0,04 0,11±0,02 p>0,5
11	Кожа	1,16±0,53 0,19±0,04 p>0,1	1,34±0,37 0,46±0,10 p>0,05	0,38±0,03 1,15±0,68 p>0,25	0,49±0,26 0,13±0,02 p>0,1	0,33±0,08 0,11±0,02 p<0,05	0,11±0,01 0,11±0,02 p>0,5
12	Мышца	0,15±0,04 0,06±0,01 p>0,05	0,44±0,08 0,09±0,01 p<0,01	0,09±0,01 0,05±0,01 p<0,05	0,070±0,030 0,017±0,003 p>0,1	0,060±0,020 0,021±0,004 p>0,05	0,018±0,002 0,035±0,012 p>0,1
13	Кость бедра	0,21±0,07 0,16±0,03 p>0,5	0,39±0,04 0,38±0,05 p>0,5	0,29±0,01 0,42±0,05 p<0,05	0,41±0,07 0,56±0,01 p>0,05	0,51±0,05 0,66±0,10 p>0,1	0,58±0,08 0,80±0,06 p>0,05
14	Опухоль	186,7±8,08 211,5±27,4 p>0,25	185,8±30,2 175,4±18,2 p>0,5	108,3±11,2 115,2±40,4 p>0,5	122,1±16,4 145,0±13,2 p>0,25	129,9±9,19 68,9±7,72 p<0,001	56,2±6,60 23,4±7,51 p<0,02

* – мыши F1 с саркомой-37; ** – мыши C57Bl/6 с меланомой B16.

Высокая активность РФП «¹⁵³Sm-КАРП-ХеМ» в опухоли по сравнению с другими органами и тканями также подтверждается численными значениями отношений удельного содержания активности в опухоли к удельному содержанию в органах и тканях мышей (табл. 2). При этом, в течение первых суток после введения РФП «¹⁵³Sm-КАРП-ХеМ» рассчитанные соотношения для мышей с саркомой S37 и меланомой B16 статистически достоверных различий не имели (p>0,05-0,5), тогда как в поздние сроки после инъекции препарата эти величины у мышей с перерождённой саркомой S37 выше, чем у мышей с меланомой B16, что связано с более интенсивным выведением активности из ткани меланомы B16. Максимальные значения отношений наблюдаются в основном через 24-72 ч после инъекции РФП.

Таблица 2

Отношения удельного содержания активности в опухоли к удельному содержанию в органах и тканях мышей F1 с саркомой S37 и мышей с меланомой B16 после внутриопухолевого введения РФП «¹⁵³Sm-КАРП-ХеМ»

		Время после введения препарата					
		5 мин	1 ч	3 ч	24 ч	72 ч	168 ч
1	Опухоль/кровь	363,1±138,1* 234,8±49,4** p>0,25	323,3±79,9 273,3±38,1 p>0,5	476,9±89,9 637,4±195,5 p>0,25	9538,8±2587,7 9254,6±1613,0 p>0,5	48014,7±2213,4 13263,3±6727,2 p<0,002	12674,1±2744,4 1740,6±673,0 p<0,01
2	Опухоль/Щитовидная железа	1891,5±308,3 637,7±108,6 p<0,01	2603,8±1482,5 624,2±90,4 p>0,1	1939,8±654,4 780,0±217,5 p>0,1	3708,4±1259,0 612,2±138,9 p<0,05	1211,7±219,6 473,0±252,7 p>0,05	370,4±114,5 49,8±13,1 p<0,05
3	Опухоль/лёгкие	822,7±285,9 707,6±197,2 p>0,5	518,8±99,9 357,0±100,9 p>0,25	670,6±117,0 587,3±193,7 p>0,5	1429,5±13,3 1800,2±251,7 p>0,1	3064,1±363,1 805,4±189,7 p<0,001	1033,0±249,5 372,8±115,8 p<0,05
4	Опухоль/печень	1359,1±581,5 720,8±162,9 p>0,25	275,5±49,4 207,6±20,0 p>0,1	134,6±15,6 126,5±17,7 p>0,5	122,8±13,5 141,3±21,6 p>0,25	195,5±19,8 64,2±8,4 p<0,001	73,0±5,2 21,3±4,9 p<0,001
5	Опухоль/почки	244,2±116,5 131,9±36,0 p>0,25	41,7±7,90 35,2±4,80 p>0,5	17,1±1,60 17,0±4,30 p>0,5	18,9±2,30 20,6±3,50 p>0,5	33,6±4,00 13,4±2,00 p<0,002	16,7±2,80 4,9±1,20 p<0,01
6	Опухоль/селезёнка	2880,0±1048,2 1770,1±353,5 p>0,25	1560,3±305,3 977,2±68,9 p>0,1	1125,0±191,9 972,3±163,4 p>0,5	1457,9±283,4 1706,0±124,6 p>0,25	3932,9±241,5 811,2±130,6 p<0,001	1077,0±236,4 648,0±354,0 p>0,25
7	Опухоль/сердце	1029,3±289,4 882,2±200,7 p>0,5	841,6±180,7 484,7±60,9 p>0,05	833,1±142,3 742,4±82,8 p>0,5	1876,5±275,1 1969,8±327,7 p>0,5	2650,9±483,4 863,9±113,0 p<0,01	1144,6±242,7 268,3±78,1 p<0,01
8	Опухоль/мозг головной	16634,8±5533,5 8263,4±1740,0 p>0,1	11804,3±2548,8 8148,1±1475,6 p>0,25	16521,2±5715,7 10225,4±2479,4 p>0,25	16838,5±2866,4 15821,2±3561,0 p>0,5	28454,2±5978,1 6539,6±1192,9 p<0,01	15297,0±7730,8 2432,5±904,1 p>0,1
9	Опухоль/желудок	364,8±164,0 146,1±57,7 p>0,1	379,1±79,2 226,4±69,6 p>0,1	534,2±102,1 329,8±145,4 p>0,25	934,0±72,5 932,1±153,6 p>0,5	1483,3±149,4 511,8±65,7 p<0,001	601,1±103,4 184,1±58,5 p<0,01
10	Опухоль/кишка тонкая	1485,0±613,1 870,4±151,0 p>0,25	932,8±214,9 557,9±78,4 p>0,1	886,2±222,0 689,2±243,6 p>0,5	1187,3±148,3 590,7±120,8 p<0,02	1885,5±348,0 477,3±158,5 p<0,01	974,3±239,5 282,0±101,8 p<0,05
11	Опухоль/кожа	267,0±85,8 1248,4±349,5 p<0,05	158,3±24,2 426,6±68,2 p<0,01	286,4±19,5 340,1±238,8 p>0,5	692,1±257,6 1361,0±396,8 p>0,1	447,5±67,3 702,3±147,6 p>0,1	506,0±48,0 230,3±54,0 p<0,01
12	Опухоль/мышца	1829,4±715,1 4072,4±1030,9 p>0,1	477,5±116,4 2058,8±139,5 p<0,001	1317,5±175,8 2634,8±577,2 p>0,05	2713,5±1007,1 9380,8±1741,3 p<0,02	3315,2±1015,3 3973,4±1050,8 p>0,5	3334,7±677,7 1423,1±690,3 p>0,05
13	Опухоль/кость бедра	1651,4±767,6 1535,3±369,2 p>0,5	478,5±60,4 474,4±52,3 p>0,5	374,3±49,1 286,8±69,1 p>0,25	310,7±38,0 262,1±29,3 p>0,25	262,8±24,2 107,4±17,7 p<0,001	105,1±22,2 29,5±6,4 p<0,02

* – мыши F1 с саркомой-S37; ** – мыши C57Bl/6 с меланомой B16.

После внутриопухолевого введения РФП «¹⁵³Sm-КАРП-ХеМ» наибольшие зарегистрированные уровни активности в крови наблюдались в ранние сроки и составляли 0,90%/г и 0,99%/г у мышей с саркомой S37 и меланомой B16 соответственно. В течение последующих сроков активность в крови существенно снижалась (табл. 1).

Сравнительно высокая концентрация активности отмечалась в почках мышей с саркомой S37 и мышей с меланомой B16. Величины активности в этом органе характеризуются постепенным ростом до максимального значения через 24 ч после инъекции РФП «¹⁵³Sm-КАРП-ХеМ», а затем закономерным снижением в интервале 24-168 ч (табл. 1). Причём, величины удельной активности в почках мышей с саркомой S37 и мышей с меланомой B16 не имели статистически достоверных различий. Высокое содержание активности в почках мышей объясняется выведением её через мочевыделительную систему, что согласуется с данными литерату-

ры [5]. Это подтверждается также радиометрией мочи мышей в разные сроки после инъекции РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» (рис. 2).

Рис. 2. Кинетика выведения активности с мочой у мышей с саркомой-37 и мышей C57Bl/6 с меланомой B16 после внутриопухолевого введения РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ».

Оценка распределения РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» во внутренних органах и тканях показывает, что во многих органах содержание активности невелико. У мышей с перевитой саркомой S37 накопление активности в печени составило 0,21-0,98%/г, тогда как у мышей с меланомой B16 отмечалось повышение аккумуляции препарата в ткани печени до 1,14%/г через 168 ч (табл. 1).

Повышенный уровень накопления активности (1,16-1,34%/г) в течение первого часа после введения препарата отмечался в коже у мышей с саркомой S37, однако в последующем активность из кожи быстро выводилась.

В течение 1-го часа после внутриопухолевой инъекции РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» наблюдалась достаточно высокая аккумуляция активности в желудке. У мышей с саркомой S37 повышенная концентрация активности составляла 1,31%/г, тогда как у мышей с меланомой B16 она достигала 4,22%/г, в последующие сроки эти величины постепенно снижались вплоть до 168 ч (табл. 1). Аналогичные закономерности распределения активности наблюдали и в других органах и тканях мышей с саркомой S37 и меланомой B16.

Заключение

Таким образом, при внутриопухолевом введении РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» значительная часть активности удерживается опухолевой тканью в течение 168 ч. При этом в поздние сроки после инъекции РФП выведение активности из меланомы B16 происходит быстрее по сравнению с саркомой S37. Во все сроки исследования количество РФП « ^{153}Sm -КАРП-ХеМ» в опухолевой ткани во много раз выше, чем в других органах и тканях. Об этом свидетельствуют вели-

чины отношения концентрации активности в опухоли к концентрации активности других органов и тканей (коэффициенты дифференциального уровня накопления РФП в опухоли). Эти величины закономерно увеличиваются в течение периода 5 мин – 168 ч, что свидетельствует не только о более интенсивном выведении активности из органов и тканей по сравнению с опухолью, но и о высоком удержании РФП опухолевой тканью.

В крови концентрация препарата не превышает 0,90-0,99%/г. Элиминация активности из организма мышей осуществляется через мочевыделительную систему. Транзиторное возрастание уровней активности зарегистрировано в желудке, лёгких, печени и коже. В остальных внутренних органах и тканях мышей-опухоленосителей концентрация активности составляла не более 1%/г. Отмечено постепенное накопление активности в кости бедра в течение всего срока наблюдения. Это связано с тропностью свободного ^{153}Sm . Содержание активности в большинстве органов и тканей мышей с саркомой S37 и меланомой B16 практически не имеет статистически значимых различий.

Литература

1. **Netti P.A., Hamberg L.M., Babich J.W., Kierstead D., Graham W., Hunter G.J., Wolf G.L., Fischman A., Boucher Y., Jain R.K.** Enhancement of fluid filtration across tumor vessels: implication for delivery of macromolecules //Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96, N 6. P. 3137-3142.
2. **Saltzman W.M., Fung L.K.** Polymeric implants for cancer chemotherapy //Adv. Drug Deliv. Rev. 1997. V. 26, N 2-3. P. 209-230.
3. **Zentner G.M., Rath R., Shih C., McRea J.C., Seo M.H., Oh H., Rhee B.G., Mestecky J., Moldoveanu Z., Morgan M., Weitman S.** Biodegradable block copolymers for delivery of proteins and water-insoluble drugs //J. Control. Release. 2001. V. 72, N 1-3. P. 203-215.
4. **Karir T., Sarma H.D., Samuel G., Hassan P.A., Padmanabhan D., Venkatesh M.** Preparation and evaluation of radioiodinated thermoresponsive polymer based on poly(*N*-isopropyl acrylamide) for radiotherapy //J. Appl. Polym. Sci. 2013. V. 13. P. 860-868.
5. **Kučka J., Hrubý M., Lebeda O.** Biodistribution of a radiolabelled thermoresponsive polymer in mice //Appl. Radiat. Isotop. 2010. V. 68. P. 1073-1078.
6. **Liu W., MacKay J.A., Dreher M.R., Chen M., McDaniel J.R., Simnick A.J., Callahan D.J., Zalutsky M.R., Chilkoti A.** Injectable intratumoral depot of thermally responsive polypeptide-radionuclide conjugates delays tumor progression in a mouse model //J. Control Release. 2010. V. 144. P. 2-9.
7. **Hruby M., Kucka J., Lebeda O., Mackova H., Babic M., Konak C., Studenovsky M., Sikora A., Kozempel J., Ulbrich K.** New bioerodable thermoresponsive polymers for possible radiotherapeutic applications //J. Control Release. 2007. V. 119. P. 25-33.

Novel radiopharmaceutical, ^{153}Sm -labelled thermoresponsive polymer, for local radiotherapy of solid tumors

Petrieve V.M.^{1,2}, Tishchenko V.K.¹, Smoryzanova O.A.¹, Mikaylovskaya A.A.¹, Bol'bit N.M.³,
Duflet V.R.³, Gayvoronsky A.V.³, Morozova N.B.⁴, Yakubovskaya R.I.⁴

¹ A. Tsyb MRRC, Obninsk;

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

³ Branch of L. Karpov Research Institute of Physical Chemistry, Obninsk;

⁴ P. Hertsen Moscow Oncology Research Center, Moscow

Results of the study of pharmacokinetic properties of the novel radiopharmaceutical, ^{153}Sm -labelled thermoresponsive polymer, designed for local radiotherapy of solid tumors are presented. The pharmacokinetics of the drug in F1 mice bearing subcutaneous sarcoma S37 and in C57Bl/6 mice with subcutaneous melanoma B16. The radiopharmaceutical was injected into tumor xenografts (0.18-0.37 MBq, 0.1 ml). The mice were sacrificed under anesthesia in 5 min, 1, 3, 24, 72 and 168 h after the drug administration. The *organs* of interest were excised, weighed and *radioactivity was measured* in an automated gamma-counter. The highest radioactivity was in the tumor tissue (i.e. at the site of injection). In 7 days after injection the radioactivity level in sarcoma S37 was 57.2% of injected dose (ID) and 42.2% ID was in melanoma B16. The radiolabeled compound exhibited a higher tumor retention in sarcoma S37 bearing mice compared to the retention in melanoma B16 tumor xenografts, especially at later time following the radiopharmaceutical administration. The peak radioactivity in the liver was 1.14% ID/g. The transient uptake of radiolabeled compound was registered in the stomach (up to 4.22% ID/g in 5 min), the lungs (up to 1.15% ID/g in 1 h) and the skin (up to 1.34% ID/g in 1 h), later it declined rapidly. High level of radioactivity was registered in kidneys as the most of the radiopharmaceutical excreted in the urine. The activity level in the thyroid gland, spleen, heart, brain, intestine, muscle and femur was lower than 1% ID/g throughout the study. The activity in the soft organs and tissues in sarcoma S37 bearing mice and in melanoma B16 bearing mice was roughly of similar level. In conclusion, the presented results allow us to suggest that the radiopharmaceutical has exciting potential for local tumor therapy.

Key words: radiopharmaceutical, thermoresponsive polymer, ^{153}Sm , pharmacokinetic properties, radionuclide therapy, radiobiological effects, sarcoma S37, melanoma B16, coefficient of differential accumulation, N-izopropilakrilamid, N-Methacrylonitrile, diethylentriaminepentaacetic acid.

References

1. **Netti P.A., Hamberg L.M., Babich J.W., Kierstead D., Graham W., Hunter G.J., Wolf G.L., Fischman A., Boucher Y., Jain R.K.** Enhancement of fluid filtration across tumor vessels: implication for delivery of macromolecules. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, vol. 96, no. 6, pp. 3137-3142.
2. **Saltzman W.M., Fung L.K.** Polymeric implants for cancer chemotherapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 1997, vol. 26, no. 2-3, pp. 209-230.
3. **Zentner G.M., Rath R., Shih C., McRea J.C., Seo M.H., Oh H., Rhee B.G., Mestecky J., Moldoveanu Z., Morgan M., Weitman S.** Biodegradable block copolymers for delivery of proteins and water-insoluble drugs. *J. Control. Release*, 2001, vol. 72, no. 1-3, pp. 203-215.
4. **Karir T., Sarma H.D., Samuel G., Hassan P.A., Padmanabhan D., Venkatesh M.** Preparation and evaluation of radioiodinated thermoresponsive polymer based on poly(*N*-isopropyl acrylamide) for radiotherapy. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2013, vol. 13, pp. 860-868.
5. **Kučka J., Hrubý M., Lebeda O.** Biodistribution of a radiolabelled thermoresponsive polymer in mice. *Appl. Radiat. Isotop.*, 2010, vol. 68, pp. 1073-1078.

Petrieve V.M.* – Lead. Researcher, D. Sc., Biol., Prof. of MEPhI; **Tishchenko V.K.** – Senior Researcher, C. Sc., Biol.; **Smoryzanova O.A.** – Senior Researcher, C. Sc., Biol.; **Mikaylovskaya A.A.** – Senior Researcher, C. Sc., Biol. A. Tsyb MRRC. **Bol'bit N.M.** – Lead. Technologist, C. Sc., Chem.; **Duflet V.R.** – Director, D. Sc., Chem.; **Gayvoronsky A.V.** – Engineer. L. Karpov RIPC. **Morozova N.B.** – Research Assistant, C. Sc., Biol.; **Yakubovskaya R.I.** – Head of Dep., D. Sc., Biol. P. Hertsen MORC.

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

6. **Liu W., MacKay J.A., Dreher M.R., Chen M., McDaniel J.R., Simnick A.J., Callahan D.J., Zalutsky M.R., Chilkoti A.** Injectable intratumoral depot of thermally responsive polypeptide-radionuclide conjugates delays tumor progression in a mouse model. *J. Control Release*, 2010, vol. 144, pp. 2-9.
7. **Hruby M., Kucka J., Lebeda O., Mackova H., Babic M., Konak C., Studenovsky M., Sikora A., Kozempel J., Ulbrich K.** New bioerodable thermoresponsive polymers for possible radiotherapeutic applications. *J. Control Release*, 2007, vol. 119, pp. 25-33.