

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАДИОФАРМПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО СОПОЛИМЕРА И САМАРИЯ-153 ДЛЯ ЛОКАЛЬНОЙ РАДИОНУКЛИДНОЙ ТЕРАПИИ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ

В.Р. Дуфлот¹, В.С. Ермаков¹, Е.И. Лобанова¹, В.М. Петриев², В.К. Тищенко²,
М.С. Воронцова³, Ю.Б. Венедиктова³, А.А. Панкратов³

¹ Научно-исследовательский физико-химический институт им. Л.Я. Карпова, Обнинск

² Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба МЗ РФ, Обнинск

³ Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена
МЗ РФ, Москва

Изучены фармакокинетические свойства нового радиофармпрепарата на основе термочувствительного сополимера и самария-153 (КАРП-ХеМ, ¹⁵³Sm – Коллапсирующий Аквараствор Полимера, Хелатно Меченый Самариум-153) для локальной радионуклидной терапии солидных опухолей. Изучение биораспределения проводилось на мышах F1 и C57Bl/6 с имплантированными подкожно саркомой S37 и меланомой B16, соответственно, при внутриопухолевом введении препарата. Кроме того, представлены биологические исследования местнораздражающего действия, острой и субхронической токсичности модельного нерадиоактивного аналога КАРП-ХеМ, ¹⁵²Sm.

Показано, что наибольшее количество активности отмечается в опухолевой ткани (т.е. в месте введения препарата). Через 7 сут после инъекции уровень активности в ткани саркомы S37 составил 57,2 % от введенной активности, а в ткани меланомы B16 – 42,2 %. 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), легких (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 ее выводилась через мочевыделительную систему. Концентрация активности в щитовидной железе, селезенке, сердце, головном мозге, тонкой кишке, 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.

Исследование местной переносимости, острой токсичности и субхронической токсичности модельного нерадиоактивного препарата при использовании различных путей введения (подкожном и внутримышечном) мышам, крысам и кроликам показало, что модельный препарат КАРП-ХеМ, ¹⁵²Sm при подкожном введении не приводит к развитию выраженных местных патологических реакций; по степени опасности острого и хронического токсического действия является малотоксичным веществом. На основании полученных данных следует сделать заключение о безопасности полимерного носителя изотопа самария на основе поли-N-изопропилакриламида.

Полученные результаты подтверждают возможность использования данного радиофармпрепарата для локальной лучевой терапии опухолей.

Ключевые слова: радиофармпрепарат, термочувствительный сополимер, самоколлапсирование, самарий-153, фармакокинетические свойства, острая токсичность, субхроническая токсичность, радионуклидная терапия, саркома S37, меланома B16

Введение

Большой интерес для исследователей представляют так называемые “умные”, или “стимул-чувствительные” материалы (smart materials). Такие материалы способны обратимо реагировать на небольшие изменения во внешней среде, такие как температура, pH и др., 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, которая находится в области физиологических температур. Такие фазовые и конформационные переходы обусловлены амфифильностью макромолекул, и могут быть использованы для контролируемой локальной доставки лекарственных средств или радионуклидов, которая основана на том, что в полимерных микрокапсулах и пленках вблизи температуры перехода диффузия инкорпорированного вещества сильно зависит от температуры.

Инъекционная радионуклидная терапия злокачественных опухолей с использованием термочувствительного полимера в качестве носителя радионуклида обладает рядом преимуществ. Во-первых, она позволяет сохранить 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 только месте инъекции. Во-вторых, отщепление радионуклида от молекулы-носителя 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 введен путем инъекции, что существенно проще хирургической имплантации радиоактивных источников при внутритканевой брахитерапии [7].

Радионуклид ^{153}Sm относится к β -излучателям (средняя энергия $E_{\beta}=226$ кэВ) с периодом полураспада 46,3 часа. Самарий-153 излучает также γ -кванты ($E_{\gamma}=103$ кэВ, радиационный выход 30 %) [8]. Это позволяет проводить сцинтиграфию и визуализировать накопление радионуклида в скелете. Короткий пе-

риод полураспада позволяет использовать высокие активности, обеспечивая более раннее наступление клинического эффекта.

Данная работа посвящена изучению фармакокинетических свойств и токсического действия радиофармпрепарата (РФП) на основе термочувствительного коллапсирующего водного раствора полимера и радионуклида самария-153.

Материал и методы

Радиофармпрепарат КАРП-ХеМ, ^{153}Sm – самоколлапсирующий сополимер, растворенный в воде и хелатно меченый радионуклидом самарий-153. Препарат разработан в НИФХИ им. Л.Я. Карпова (Обнинск) и представляет собой раствор термочувствительного гомополимера – поли-N-изопропилакриламида (ПНИПА) в ацетатном буфере и сополимера, состоящего из звеньев N-изопропилакриламида и аллиламина, этерифицированные хелатирующим агентом (диангидрид диэтилентриаминпентауксусной кислоты) с целью обеспечения прочной хелатной связи с ионами $^{153}\text{Sm}^{3+}$ [9].

В биологических исследованиях использовали мышей (самки, возрастом 7–9 нед с массой 18–20 г). Исследование проводили на моделях сингенных опухолей мышей (саркома S37 и меланома B16F1).

Штамм S37 (саркома мыши) поддерживали в асцитной форме на мышках-самцах линии ICR (CD-1) с интервалом перевивки 7–9 сут. Суспензию опухолевых клеток, выделенных из асцита, инокулировали мышам-гибридам [CBA×C57BL/6j]F1 подкожно на бок в количестве 1×10^6 клеток/мышь в 0,06 мл физиологического раствора. Исследования фармакокинетики РФП КАРП-ХеМ, ^{153}Sm начинали на 7–8 сут роста опухоли.

Клетки B16F1 (мышинная 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 увлажненной 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/6j

подкожно на бок, в количестве 1×10^6 клеток/мышь, в объеме 0,06 мл. Исследования фармакокинетики РФП КАРП-ХеМ, ^{153}Sm начинали на 7–8 сут роста опухоли.

Для проведения фармакокинетических исследований использовали: 30 мышей F1 и 30 мышей C57Bl/6.

На 7–8 сут роста опухоли проводили однократное внутриопухолевое введение РФП КАРП-ХеМ, ^{153}Sm активностью 0,18–0,37 МБк (5–10 мкКи) в объеме 0,1 мл.

В различные сроки (через 5 мин, 1, 3, 24, 72 и 168 ч) после внутриопухолевого введения РФП по 5 животных на каждый срок подвергали эвтаназии путем декапитации под наркозом, выделяли пробы органов и тканей, помещали их в пластиковые пробирки, взвешивали на электронных весах Sartorius и проводили радиометрию с помощью автоматического гамма-счетчика Wizard версии 2480 фирмы PerkinElmer/Wallac. На момент введения в отдельную пробирку отбирали пробу раствора РФП КАРП-ХеМ, ^{153}Sm в объеме 0,1 мл для использования в качестве стандарта введенной активности. Кроме того, пять животных помещали в индивидуальные клетки для сбора мочи. Затем в определенные сроки мочу собирали в пробирки, взвешивали и проводили ее 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.

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 ($M \pm m$).

Токсикологические исследования модельного (не радиоактивного) препарата КАРП-ХеМ, ^{152}Sm были проведены на мышах, крысах и кроликах (самцах). При изучении острой токсичности модельный препарат вводили однократно подкожно и внутримышечно в дозах от 250 мг/кг до 2000 мг/кг. При изучении субхронической токсичности, модельный препарат вводили животным ежедневно в течение 14 сут в суммарных дозах 500 мг/кг и 2000 мг/кг (крысам) и 500 мг/кг и 1000 мг/кг (кроликам).

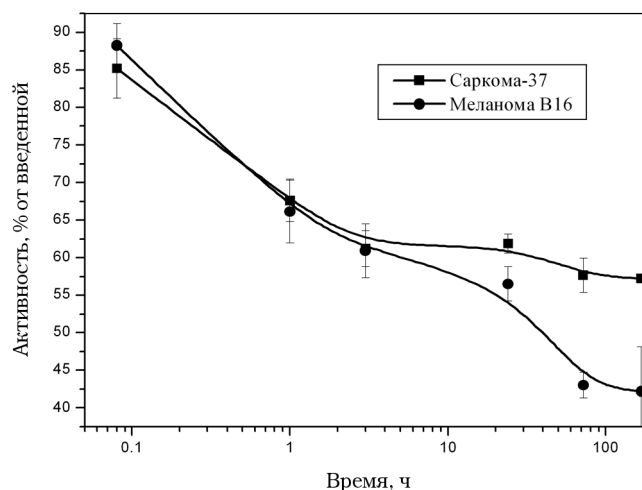


Рис. 1. Кинетика выведения активности из опухолевой ткани мышей F1 с саркомой S37 и мышей C57Bl/6 с меланомой B16 после внутриопухолевого введения РФП КАРП-ХеМ, ^{153}Sm

Методики указанных токсикологических исследований представлены в работах [10, 11]. При определении степени опасности острого токсического действия модельного препарата КАРП-ХеМ, ^{152}Sm использовали классификацию, предложенную И.В. Березовской [12].

Результаты и обсуждение

Фармакокинетика

На протяжении всего периода наблюдения наибольшая концентрация РФП КАРП-ХеМ, ^{153}Sm 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 было 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).

Анализ динамики выведения активности из опухолевой ткани меланомы B16 показал, что в интервале 5 мин – 168 ч после инъекции РФП КАРП-ХеМ, ^{153}Sm 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 про-

Таблица 1

Распределение активности в органах и тканях мышей F1 с саркомой S37 и мышей C57Bl/6 с меланомой B16 после внутриопухолевого введения РФП КАРП-ХеМ, ^{153}Sm (в % от введенной активности 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	Легкие	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	Селезенка	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

исходит интенсивнее, чем из ткани саркомы S37 (рис. 1). Вероятно, это связано с наиболее интенсивными метаболическими процессами в меланоме по сравнению с саркомой S37. Мела-

нома B16 характеризуется как одна из наиболее агрессивных, низкодифференцированных и быстрорастущих злокачественных новообразований.

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 КАРП-ХеМ, ¹⁵³Sm

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

* – мыши F1 с саркомой-37

** – мыши C57Bl/6 с меланомой B16

В работе [4] мышам с фибросаркомой внутриопухолево вводили препарат на основе поли-N-изопропилакриламида (ПНИПА) и L-тирозинамида, меченого йодом-125. Однако удержание в опухоли составило 30 % от введенной активности 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-метакрилоилтирозинамида, меченого йодом-131, который вводился

внутримышечно мышам BALB/с. Через 14 дней в месте введения удерживалось более 80 % от введенной активности, снижаясь до 60 % через 42 сут. В остальных органах и тканях уровень не превышал 0,7 % от введенной активности.

Таким образом, анализ немногочисленных литературных данных [1–7] подтверждает полученные нами результаты, что использование термочувствительного полимера в каче-

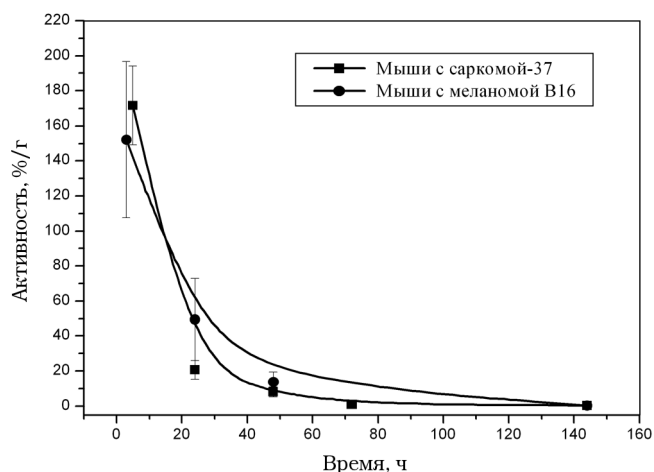


Рис. 2. Кинетика выведения активности с мочой у мышей с саркомой-37 и мышей C57Bl/6 с меланомой B16 после внутриопухолевого введения РФП

стве 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 составлял выше 100 %, так как масса опухоли в эти сроки была меньше единицы. Так, например, в опухолевой ткани саркомы S37 в течение трех суток после интра-туморального введения РФП активность варьировала от 108,3 до 186,7 %/г, а через 7 сут 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 сут, соответственно, что существенно ниже, чем в ткани саркомы S37 ($p < 0,001-0,02$) (табл. 1).

Высокая активность РФП 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 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 перевитой саркомой S37 выше, чем у мышей с меланомой B16, что связано с более интенсивным выведением актив-

ности из ткани меланомы B16. Максимальные значения отношений наблюдаются в основном через 24–72 ч после инъекции РФП.

После внутриопухолевого введения РФП наибольшие зарегистрированные уровни активности в крови наблюдались в ранние сроки и составляли 0,90 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, а затем закономерным снижением в интервале 24–168 ч (табл. 1). Причем, 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 ее через мочевыделительную систему, что согласуется с литературными данными [5]. Это подтверждается также радиометрией мочи мышей в разные сроки после инъекции РФП (рис. 2).

Оценка распределения РФП 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 первого часа после внутриопухолевой инъекции РФП 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 достигает 4,22 %/г, в последующие сроки эти величины постепенно снижались вплоть до 168 ч (табл. 1). Аналогичные закономерности распределения активности наблюдались и в других органах и тканях мышей с саркомой S37 и меланомой B16.

Токсичность

В мире существует ряд лекарственных средств, содержащих в своем составе ^{153}Sm , которые используются для локальной лучевой терапии у больных злокачественными новообразованиями. Фармакодинамические и токсические свойства этих лекарственных средств известны и представлены в работах [13–15].

При проведении токсикологических исследований использовали модельный (не радиоактивный) препарат “КАРП-ХеМ, ^{152}Sm ” представляющий собой конъюгат ПНИПА – ^{152}Sm . Использование такого модельного препарата позволит оценить токсический потенциал конъюгата ПНИПА – ^{152}Sm при отсутствии повреждающего ионизирующего излучения.

При оценке местной переносимости модельного препарата при однократном подкожном введении в концентрации, равной 123 мг/мл (по ПНИПА) установлено, что препарат на 3-и сутки наблюдений индуцировал в области введения обратимое умеренно выраженное воспаление окружающих тканей. При этом выявленная реакция была обратимой и к 14 сут после введения препарата патологические изменения окружающих тканей в области инъекции препарата отсутствовали.

Изучение острой токсичности модельного препарата КАРП-ХеМ, ^{152}Sm при его однократном подкожном и внутримышечном введении мышам в дозах от 200 мг/кг до 2000 мг/кг и крысам в дозах от 50 мг/кг до 1000 мг/кг показало, что препарат удовлетворительно переносится животными и не приводит их к гибели от острой токсичности. Полученные данные свидетельствуют о том, что исследуемый модельный препарат характеризуется низким токсическим потенциалом и по степени опасности острого токсического действия может быть отнесен к категории малотоксичные вещества.

Многократное подкожное введение модельного препарата крысам в суммарных дозах 500 и 2000 мг/кг и кроликам в суммарных дозах 500 и 1000 мг/кг, не приводило к гибели животных от токсичности. Внешние проявления интоксикации отсутствовали.

По данным физиологических, клинико-лабораторных исследований и патологоана-

томических исследований модельный препарат КАРП-ХеМ, ^{152}Sm не оказывал токсического действия на периферическую кровь, почки, почки, сердце, состояние системы гемостаза, ЦНС и не оказывал негативного влияния на углеводный и липидный обмен у животных. По данным патологоанатомического исследования (включая гистологическое исследование внутренних органов и тканей животных), модельный препарат в исследованных дозах, не вызывал патологических изменений во внутренних органах и тканях крыс и кроликов.

При аутопсии животных опытных групп, проведенной на 1, 30 и 60 сут после подкожной инъекции препарата крысам и кроликам, в области введения препарата наблюдали капсулированный препарат. Макро- и микроскопически, патологические местные реакции на инородное тело в окружающих тканях отсутствовали.

Таким образом, при изучении общетоксических свойств (местной переносимости, острой и субхронической токсичности) модельного препарата КАРП-ХеМ, ^{152}Sm установлено, что исследуемый препарат характеризуется низким токсическим потенциалом. На основании полученных данных также можно сделать заключение о безопасности полимерного носителя изотопа самария на основе ПНИПА.

Заключение

Таким образом, при внутриопухолевом введении РФП “КАРП-ХеМ, ^{153}Sm ” значительная часть активности удерживается опухолевой тканью в течение 168 ч. При этом в поздние сроки после инъекции РФП выведение активности из меланомы В16 происходит быстрее по сравнению с саркомой S37. Во все сроки исследования количество РФП в опухолевой ткани во много раз выше, чем в других органах и тканях. Об этом свидетельствуют величины 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 опу-

холью, 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, легких, 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.

При изучении общетоксических свойств (местной переносимости, острой и субхронической токсичности) препарата КАРП-ХеМ, ^{152}Sm , установлено, что исследуемый препарат характеризуется низким токсическим потенциалом и может быть отнесен к малотоксичным веществам.

Список литературы

1. Netti P.A., Hamberg L.M., Babich J.W. et al. Enhancement of fluid filtration across tumor vessels: implication for delivery of macromolecules // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999. Vol. 96. № 6. P. 3137–3142.
2. Saltzman W.M., Fung L.K. Polymeric implants for cancer chemotherapy // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1997. Vol. 26. № 2–3. P. 209–230.
3. Zentner G.M., Rath R., Shih C. et al. Biodegradable block copolymers for delivery of proteins and water-insoluble drugs // *J. Control. Release*. 2001. Vol. 72. № 1–3. P. 203–215.
4. Karir T., Sarma H.D., Samuel G. et al. Preparation and evaluation of radioiodinated thermoresponsive polymer based on poly(N-isopropyl acrylamide) for radiotherapy // *J. Appl. Polym. Sci.* 2013. Vol. 13. P. 860–868.
5. Kuka J., Hruby M., Lebeda O. Biodistribution of a radiolabelled thermoresponsive polymer in mice // *Appl. Radiat. Isotop.* 2010. Vol. 68. P. 1073–1078.
6. Liu W., MacKay J.A., Dreher M.R. et al. Injectable intratumoral depot of thermally responsive polypeptide–radionuclide conjugates delays tumor progression in a mouse model // *J. Control Release*. 2010. Vol. 144. P. 2–9.
7. Hruby M., Kucka J., Lebeda O. et al. New bio-erodable thermoresponsive polymers for possible radiotherapeutic applications // *J. Control Release*. 2007. Vol. 119. P. 25–33.
8. Государственная Фармакопея Российской Федерации, XIII, т. 2. – М: Изд-во “Научный центр экспертизы средств медицинского применения”. 2015, 1001 с.
9. Патент 2665140 Российская Федерация, МПК А61К 31/00, А61К 51/02, А61К 103/00, А61Р 35/00. Способ получения термочувствительного радиофармпрепарата. Большит Н.М., Дубова Е.А., Дуфлот В.Р. и соавт. Заявитель и патентообладатель АО “НИФХИ им. Л.Я. Карпова”. – № 2016121394; заявл. 31.05.16; опубл. 28.08.18, Бюл. № 25. 20 с.
10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Ред. Р.У. Хабриев. – М.: “Медицина”. 2005. 832 с.
11. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
12. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения // *Химико-фармацевтический журнал*, 2003, Т. 37, № 3, С. 32–34.
13. Патент 2162714 Российская Федерация, МПК А61К 51/04, А61К 51/00, А61Р 35/04. Радиофармацевтическая композиция. Кодина Г.Е., Громова Н.П., Тронова И.Н. и соавт.; заявитель и патентообладатель ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России. – № 2000115618/14, заявл. 20.06.2000, опубл. 10.02.2001. 7 с.
14. Доля О.П., Клепов А.Н., Крылов В.В. и соавт. Динамика накопления и выведения ^{153}Sm -оксабифора у больных с метастазами в кости при проведении радионуклидной терапии // *Радиация и риск*, 2007. Т. 16. № 2–4. С. 39–47.
15. Патент US 4898724, IPC А61К 43/00. Organism amine phosphonic acid complexes for the treatment of calcific tumors. J. Simon, D.A. Wilson, W.A. Volkert, et al. Заявитель The Dow Chemical Company (US) – № 50263, заявл. 14.05.1987, опубл. 06.02.1990. 11 с.

PRECLINICAL STUDIES OF RADIOPHARMACEUTICAL BASED ON THERMO-SENSITIVE COPOLYMER AND SAMARIUM-153 FOR LOCAL RADIONUCLIDE THERAPY OF SOLID TUMORS

V.R. Duflot¹, V.S. Ermakov¹, E.I. Lobanova¹, M.S. Voroncova³, J.B. Venediktova³,
A.A. Pankratov³, V.M. Petriev², V.K. Tishchenko²

¹ L.Ya. Karpov Institute of Physical Chemistry, Obninsk, Russia

² A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center, Obninsk, Russia

³ P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Center, Moscow, Russia

Results of the study of pharmacokinetic properties of the novel radiopharmaceutical, ¹⁵³Sm-labelled thermo-sensitive copolymer, designed for local radiotherapy of solid tumors are presented. We studied the pharmacokinetic properties of a new radiopharmaceutical based on a temperature-sensitive copolymer and samarium-153 (CASP-CM, ¹⁵³Sm – Collapsing Aqueous Solution of Polymer, Chelated by Samarium-153) for local radiotherapy of solid tumors. The biodistribution study was conducted on F1 and C57Bl/6 mice with S37 implanted subcutaneously with sarcoma and B16 melanoma, respectively, with intratumoral administration of the drug. In addition, biological studies of the local irritating action, acute and subchronic toxicity of the non-radioactive analogue CASP-CM, ¹⁵²Sm are presented.

The results showed that the greatest amount of activity was observed in the tumor tissue (i.e. at the injection site). 7 days after the injection, the activity level in the sarcoma S37 tissue was 57.2 % of the administered dose, and in the B16 melanoma tissue – 42.2 % of the administered dose. At the same time, the retention of the labeled drug with tumor tissue of S37 sarcoma is higher than with B16 melanoma tissue, especially in the later stages of the study. The peak activity in the liver was 1.14 %/g. A transient increase in the concentration of the labeled drug was observed in the stomach (up to 4.22 %/g after 5 min), lungs (up to 1.15 %/g after 1 h) and skin (up to 1.34 %/g after 1 h), however then the concentration rapidly decreased. An increased level of activity was observed in the kidneys, since most of it was excreted through the urinary system. The concentration of activity in the thyroid gland, spleen, heart, brain, small intestine, muscle tissue and femur was below 1 %/g throughout the study period. Statistically significant differences between the levels of activity in the internal organs and tissues in mice with S37 sarcoma and B16 melanoma were practically not detected.

The study of local tolerance, acute toxicity and subchronic toxicity of a model non-radioactive preparation using different routes of administration (subcutaneous and intramuscular) in mice, rats and rabbits showed that the model preparation CASP-CM, ¹⁵²Sm when administered subcutaneously, does not lead to the development of pronounced local pathological reactions; according to the degree of danger of acute and chronic toxic action, it is of low toxicity. On the basis of the data obtained, it is also possible to make a conclusion about the safety of the polymer carrier of samarium isotope based on poly-N-isopropylacrylamide.

In conclusion, the presented results allow us to suggest that theradiopharmaceutical has exciting potential for local tumor therapy.

Key words: radiopharmaceutical, thermo-sensitive copolymer, self-collapsing, SAMARIUM-153, pharmacokinetic properties, acute toxicity, subchronic toxicity, radionuclide therapy, sarcoma S37, melanoma B16

E-mail: duflot@karpovipc.ru