

НАНОБИОМЕДИЦИНА И НАНОФАРМАЦЕВТИКА

УДК 539.16.04+615.277.3-006.6

РАДИОФАРМПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ ЛИГАНДОВ К РЕЦЕПТОРАМ ГАСТРИН-РИЛИЗИНГ ПЕПТИДА: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА И РОССИЙСКИЕ РАЗРАБОТКИ

© 2024 г. Д. Н. Майстренко¹, А. А. Станжевский¹, К. А. Сергунова², С. В. Шатик¹,
Д. О. Антуганов¹, Д. С. Сысоев¹, М. С. Надпорожский¹, А. Л. Коневега³, А. П. Трашков³,
О. Е. Молчанов¹, В. И. Максимов³, Л. А. Чипига^{1,4}, А. В. Водоватов⁴, А. А. Попова¹

¹Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. А.М. Гранова Минздрава России,
Санкт-Петербург, Россия

²Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, Россия

³Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова — НИЦ “Курчатовский институт”,
Санкт-Петербург, Россия

⁴Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт радиационной гигиены им. П.В. Рамзаева,
Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: stanzhhevsky@gmail.com

Поступила в редакцию 15.03.2023 г.

После доработки 15.03.2023 г.

Принята к публикации 13.06.2023 г.

Представлены данные о перспективных для применения в ядерной медицине лигандах на базе производных бомбезина — пептидах, специфично связывающихся с рецепторами гастрин-релизинг-фактора. Проведен анализ разработок, касающихся создания радиофармацевтических лекарственных препаратов (РФЛП) на основе агонистов рецепторов гастрин-релизинг пептида для радионуклидной диагностики и системной лучевой терапии. Описаны этапы фармацевтической разработки первых российских РФЛП ⁶⁸Ga-NOTA-AMBA и ¹⁷⁷Lu-DOTA-AMBA, в том числе технология синтеза с использованием автоматизированных модулей, а также спецификации лекарственных препаратов.

DOI: 10.56304/S199272232304012X

ВВЕДЕНИЕ

Рак предстательной железы (РПЖ) занимает одно из лидирующих мест среди злокачественных новообразований у мужчин. Ежегодно в мире диагностируют ~1.6 млн новых случаев РПЖ, а смертность от этого заболевания составляет 366 тыс. человек в год. Пятилетняя относительная выживаемость при локализованном и регионарном РПЖ достигает практически 100%, но снижается до 29% у больных с распространенными формами заболевания [1]. Одним из эффективных методов лечения распространенного кастрационно-резистентного РПЖ является системная лучевая терапия. В последние годы интенсивное развитие получила технология пептид-рецепторной радионуклидной терапии, суть которой заключается в связывании пептида, несущего радионуклид, со специфической мишенью — рецептором, расположенным на поверхности опухолевых клеток. В настоящее время в развитых странах разработаны и используются в клинической практике радиофармацевтические лекарственные препараты (РФЛП) на основе лиган-

дов простатического специфического мембранного антигена (ПСА) [2]. Эффективность лечения во многом зависит от уровня экспрессии рецепторов ПСА, а плотность этих рецепторов — от степени дифференцировки опухолей и от суммы баллов по шкале Глисона. Из этого следует, что новообразования предстательной железы с низкой и средней оценкой по шкале Глисона (6–7) могут характеризоваться относительно невысоким накоплением РФЛП на основе лигандов ПСА [3]. В связи с этим актуальными задачами являются поиск дополнительных маркеров РПЖ и создание на их базе РФЛП для радионуклидной диагностики и терапии. Одной из наиболее многообещающих мишеней для пептидной радиолигандной терапии являются рецепторы бомбезина. Бомбезин представляет собой тетрадекапептид. Впервые он был выделен Витторио Эрспамером в 1970 г. из кожи лягушки *Bombina orientalis*. Впоследствии у млекопитающих было идентифицировано несколько бомбезиноподобных пептидов, состоящих из различных форм гастрин-рили-

Таблица 1. Радиофармпрепараты на основе агонистов бомбезина, применяющиеся в клинической практике

Название РФЛП	Последовательность радиоконъюгата	Показание к применению	Литература
[^{99m} Tc]Tc-RP527	[^{99m} Tc]Tc-N ₃ S-Gly-5aVa*-BBN(7–14)	ОФЭКТ диагностика рака молочной и предстательной желез	[8]
[^{99m} Tc]Tc-DB4	[^{99m} Tc]Tc-N ₄ -[Pro ¹ , Nle ¹⁴]BBN	ОФЭКТ-диагностика РПЖ	[9]
[⁶⁸ Ga]Ga-AMBA	[⁶⁸ Ga]Ga-DOTA-Gly-4-aminobenzyl-BBN(7–14)	ПЭТ-КТ-диагностика опухолей различных локализаций	[10, 11]
[¹⁷⁷ Lu]Lu-AMBA	[¹⁷⁷ Lu]Lu-DOTA-Gly-4-aminobenzyl-BBN(7–14)	Радионуклидная терапия метастатического кастрационно-резистентного РПЖ	[12]

* 5aVa – 5-аминовалериановая кислота; BBN-бомбезин.

зинг-пептида и нейромедина В, а также их отдельных рецепторных подтипов [4]. Бомбезино-подобные пептиды влияют на широкий спектр биологических процессов, происходящих в организме человека. Воздействие бомбезина сопряжено с G-белковыми рецепторами, которые воздействуют на аденилатциклазу, повышая внутриклеточный уровень циклического аденозинмонофосфата и активируя внутриклеточные сигнальные каскады. Особый интерес вызывают рецепторы гастрин-рилизинг-пептида, гиперэкспрессия которых отмечается в ряде злокачественных новообразований, в том числе РПЖ при практическом отсутствии данного типа рецепторов в неизменных органах и тканях, за исключением клеток поджелудочной железы и желудочно-кишечного тракта [4, 5].

В настоящее время синтезирован целый ряд РФЛП на основе агонистов рецепторов гастрин-рилизинг-пептида для диагностики и терапии опухолей различной локализации (преимущественно РПЖ) [6–8]. Перечень этих РФЛП, использованных в клинической практике, представлен в табл. 1 [8–12].

В РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова разработаны и на базе ПИЯФ – НИЦ “Курчатовский институт” успешно прошли доклинические исследования для тераностики (диагностики методом ПЭТ-КТ и системной лучевой терапии) кастрационно-резистентного РПЖ РФЛП на основе наиболее перспективного аналога бомбезина – H–CH₂–CO-[4-аминобензоил]-QWAVGHLM–NH₂ (AMBA). Внедрение РФЛП для ПЭТ-КТ и пептидорепторной радиолигандной терапии на основе данного предшественника позволит существенно расширить возможности диагностики и лечения распространенных форм РПЖ.

МЕТОДЫ

РФЛП ⁶⁸Ga-NOTA-AMBA представляет собой радионуклидный хелатный комплекс трехзаряд-

ного катиона галлия (галлий-68) с хелатирующим предшественником за счет связывания катиона с хелатирующей группой NOTA (триазацикло-нантриуксусная кислота), введенной в молекулу предшественника. На рис. 1 приведена схема реакции образования хелатного комплекса галлия-68 с хелатирующим производным олигопептида AMBA для получения РФЛП ⁶⁸Ga-NOTA-AMBA.

В качестве радиоактивного сырья при синтезе “⁶⁸Ga-NOTA-AMBA” использовали ⁶⁸GaCl₃ в 0.1 М растворе соляной кислоты. Радионуклид получали путем элюирования ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga-генератора (ЗАО “Циклотрон”) 0.1 М HCl. Германий-68, служащий материнским изотопом для галлия-68, сорбирован на колонке, содержащей сорбент: двуокись титана, модифицированного двуокисью циркония. В качестве нерадиоактивного сырья при синтезе “⁶⁸Ga-NOTA-AMBA” использовали пептидный лиганд, модифицированный хелатирующей группой NOTA (молекулярная формула C₆₄H₉₂N₁₈O₁₆S, молекулярная масса (ММ) – 1401 г мол.^{–1}).

Синтез препарата проводили на автоматизированной установке Gerat13-Ga68 собственного изготовления. Данная установка позволяет проводить химические и радиохимические превращения в микрореакторе. При помощи проточного датчика модуля Gerat13-Ga68 выделяли целевую фракцию радионуклида галлия-68, содержащую максимальное его количество (1.2 мл). Реакция мечения протекает при температуре 95°C в течение 15 мин при периодическом перемешивании барботированием. После охлаждения до комнатной температуры реакционную массу разбавляли 9 мл воды для инъекций. Полученный раствор переносили на сорбент Strata-X (Phenomenex, 200 мг). Сорбент промывали 10 мл воды для инъекций, меченный галлием-68 пептид последовательно элюировали с картриджа 1.7 мл этанола 70% и 10 мл 0.9%-ного натрия хлорида с растворенными в нем 50 мг гентизината натрия во флакон для сбора

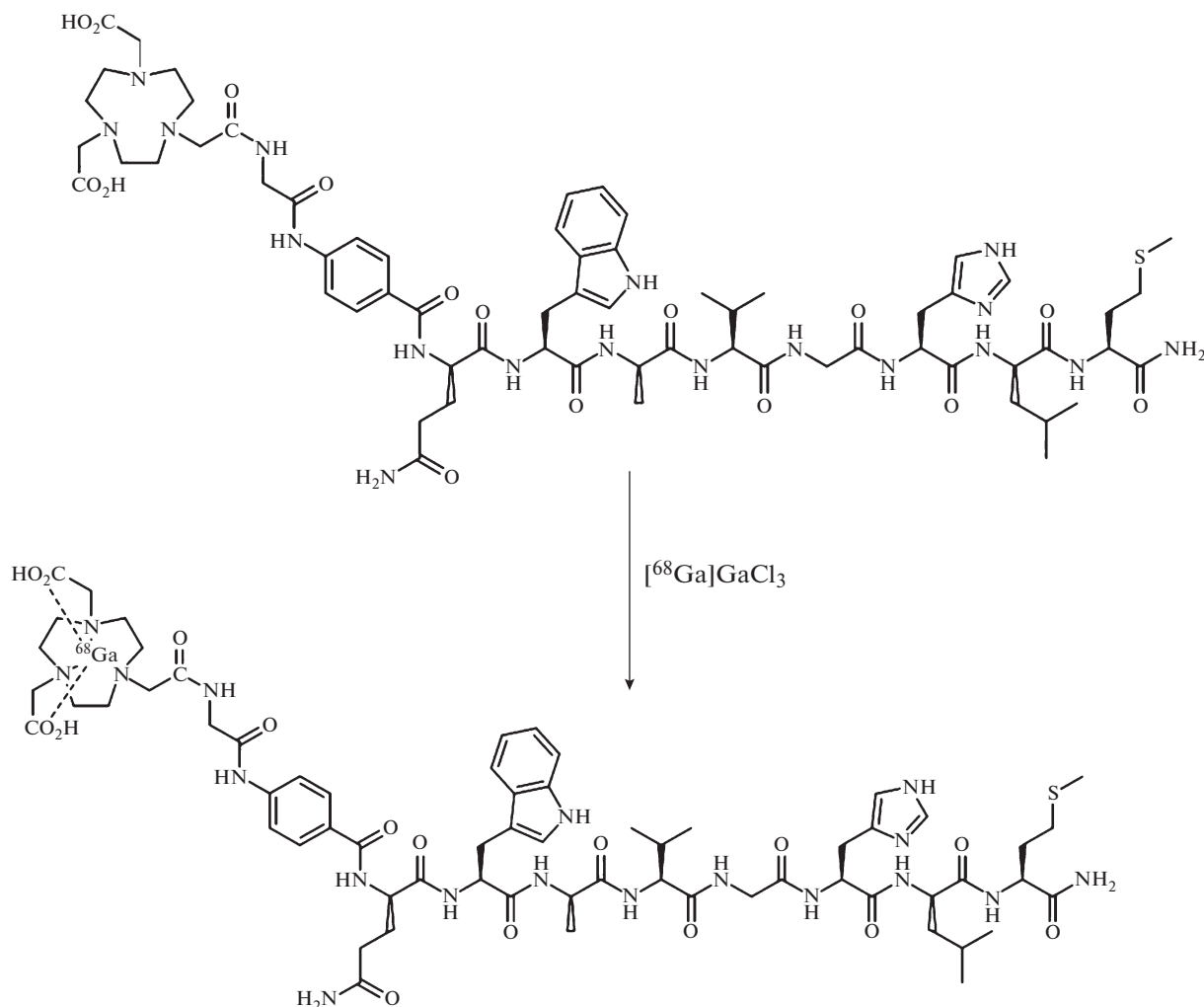


Рис. 1. Схема реакции образования хелатного комплекса галлия-68 с хелатирующим производным AMBA.

продукта. Полупродукт собирали в вials, содержащую 0.9% натрия хлорида с растворенными в нем 50 мг/мл гентизината натрия для получения раствора с объемной активностью, удобной для медицинского применения.

РФЛП ^{177}Lu -DOTA-AMBA представляет собой радионуклидный хелатный комплекс трехзарядного катиона лютеция (лютеций-177) с хелатирующим предшественником за счет связывания катиона с хелатирующей группой DOTA (тетраазациклододекантетрауксусная кислота), введенной в молекулу предшественника. Получение РФЛП на основе радионуклида лютеций-177 и хелатирующих производных олигопептидной природы основано на образовании радионуклидного хелатного комплекса трехзарядного катиона лютеция (лютеций-177) с хелатирующей группой DOTA, введенной в молекулу таргетирующего (специфично связывающегося с определенным биомар-

кером — антагонистом соматостатиновых рецепторов второго типа AMBA, экспрессирующимся в клетках тех или иных злокачественных новообразований) агента.

На рис. 2 приведена схема реакции образования хелатного комплекса лютеция-177 с хелатирующим производным AMBA для получения РФЛП ^{177}Lu -DOTA-AMBA.

В качестве радиоактивного сырья при синтезе “ ^{177}Lu -DOTA-AMBA” использовали $^{177}\text{LuCl}_3$ в 0.1 М растворе соляной кислоты. Радионуклид (производитель АО “ГНЦ НИИАР”) получали при облучении тепловыми нейтронами в ядерном реакторе стабильных изотопов лютеций-176 или иттербий-176. В качестве нерадиоактивного сырья при синтезе “ ^{177}Lu -DOTA-AMBA” использовали пептидный лиганд: Gly-(4-aminobenzoyl)-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂, модифицированный хелатирующей группой DOTA (ММ — 1509 г·мол⁻¹).

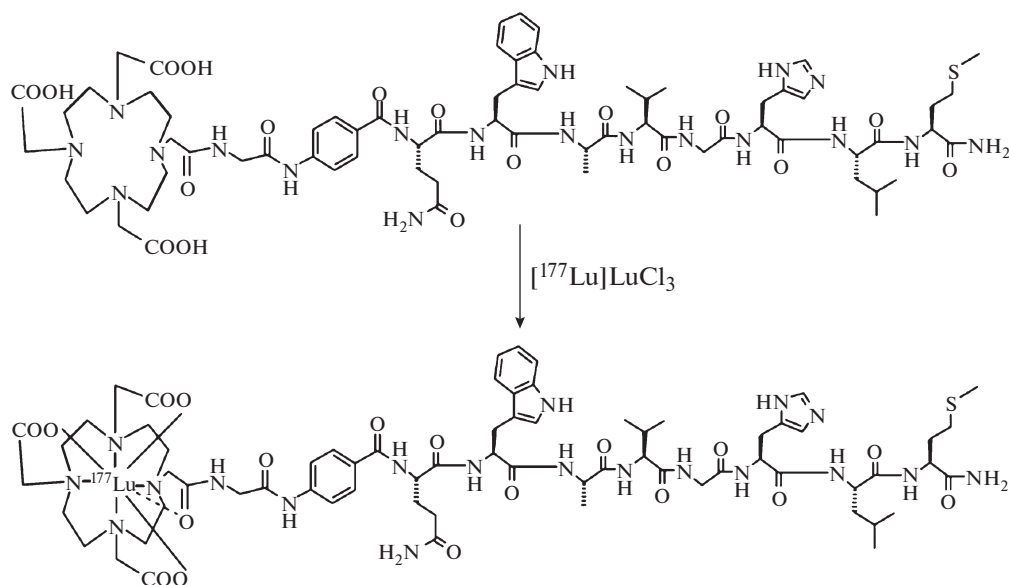


Рис. 2. Схема реакции образования хелатного комплекса лютеция-177 с хелатирующим производным AMBA.

Синтез препарата “ ^{177}Lu -DOTA-AMBA” проводили на автоматизированной установке Gerat13-Lu177 собственного изготовления. Реакция мечения протекает при температуре 70°C в течение 45 мин при периодическом перемешивании барботированием. После охлаждения до комнатной температуры реакционную массу разбавляли 5 мл воды для инъекций. Полученный раствор перенесли на сорбент Strata-X (Phenomenex, 200 мг). Сорбент промывали 20 мл воды для инъекций, меченный лютецием-177 пептид последовательно элюировали с картриджа 1.7 мл этанола 70% и 10 мл 0.9%-ного натрия хлорида с растворенными в нем 50 мг гентизината натрия во флакон для сбора продукта. Полупродукт собирали в вialу, содержащую 0.9% натрия хлорида с растворенными в нем 50 мг/мл гентизината натрия для получения раствора с объемной активностью, удобной для медицинского применения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

РФЛП ^{68}Ga -NOTA-AMBA представляет собой бесцветный, прозрачный раствор натрия хлорида в концентрации, обеспечивающей изотоничность, содержащий радионуклид галлий-68 в химической форме ^{68}Ga -NOTA-AMBA без добавления носителя. Раствор стерilen. Активность препарата уменьшается в соответствии с периодом полураспада радионуклида, который равен 67.8 мин.

Спецификация “ ^{68}Ga -NOTA-AMBA”, раствора для внутривенного введения с объемной активностью от 40 до 400 МБк/мл на дату и время изготовления, представлена в табл. 2, состав лекарственного препарата — в табл. 3.

РФЛП ^{177}Lu -DOTA-AMBA представляет собой бесцветный, прозрачный раствор натрия хлорида в концентрации, обеспечивающей изотоничность, содержащий радионуклид лютеция-177 в химической форме ^{177}Lu -DOTA-AMBA без добавления носителя. Раствор стерilen. Активность препарата уменьшается в соответствии с периодом полураспада радионуклида, который равен 6.647 дня. Спецификация на препарат представлена в табл. 4, состав препарата — в табл. 5.

ОБСУЖДЕНИЕ

Литературные данные свидетельствуют, что рецепторы гастрин-рилизинг-пептида экспрессируются на мембранах клеток целого ряда опухолей (в том числе РПЖ) и являются многообещающими мишенями для воздействия на них пептидами, мечеными терапевтическими радионуклидами. При этом наиболее часто в качестве вектора для доставки радиоизотопа к данному типу рецепторов используется аналог бомбезина AMBA. Применение тераностической пары радионуклидов $^{68}\text{Ga}/^{177}\text{Lu}$ позволяет добиться наибольшей эффективности лечебного воздействия на опухолевую ткань благодаря возможности визуализации и определения распространенности онкологического заболевания, планирования и оценки эффективности проводимой терапии. Кроме того, радионуклид ^{177}Lu обладает оптимальными физико-химическими свойствами для системного лучевого лечения. К ним относятся прежде всего подходящий период полураспада и приемлемая энергия β -частиц. Сравнительно небольшая длина пробега заряженных частиц в биологических

Таблица 2. Спецификация радиофармпрепарата “⁶⁸Ga-NOTA-AMBA”

Показатели	Методы	Нормативные характеристики
Описание	Визуальный	Прозрачная бесцветная или слегка желтоватая жидкость
Подлинность	Гамма-спектрометрия	Основные составляющие γ-спектра препарата имеют энергию $0.511 \pm \pm 0.002$ МэВ с интенсивностью $177.8 \pm 5\%$ и 1.0774 ± 0.002 МэВ с интенсивностью $3.2 \pm 0.012\%$, соответствующие γ-излучению галлия-68
	Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), радиометрия	Время удерживания основного пика на хроматограмме препарата должно совпадать со временем удерживания пика NOTA-AMBA на хроматограмме раствора сравнения 1, полученной с помощью спектрофотометрического детектора, с учетом калибровочного коэффициента (К) или отличаться не более чем на 3%
pH	С помощью индикаторной бумаги	От 4.0 до 8.0
Объемная активность	Радиометрия, весовой метод	От 40 до 400 МБк/мл на дату и время из приготовления
Радиохимическая чистота	ТСХ, радиометрия	Не менее 90.0%
Нерadioактивные примеси	ВЭЖХ	Суммарная площадь всех пиков со временем удерживания в диапазоне от 0.8 до 1.4 времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора сравнения NOTA-AMBA с концентрацией 10 мкг/мл не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения. Площадь каждого пика со временем удерживания более 0.5, но менее 0.8, а также более 1.4 времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора сравнения NOTA-AMBA с концентрацией 10 мкг/мл не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения
Этанол	ГХ	Не более 100 мг/мл
Натрия хлорид	ВЭКЭ	От 6.0 до 12.0 мг/мл
Бактериальные эндотоксины	Гель-тромб тест	Не более 35 ЕЭ/мл
Стерильность	Метод прямого посева	Препарат должен быть стерильным
Упаковка		Порциями с активностью от 280 до 4000 МБк на дату и время изготовления помещают в стерильный стеклянный флакон для лекарственных средств объемом 10 или 15 мл, укупоренный пробкой резиновой медицинской типа 1-1 и обжатый колпачком алюминиевым. На флакон наклеивают этикетку из бумаги писчей или этикеточной. Флакон помещают в контейнер транспортный для радиоактивных веществ типа КТ1-20. К флакону прилагают инструкцию по медицинскому применению и паспорт
Срок годности		4 ч с даты и времени изготовления

Таблица 3. Состав лекарственного препарата “⁶⁸Ga-NOTA-AMBA”, раствор для внутривенного введения

Активное вещество	
⁶⁸ Ga	от 40 до 400 МБк
Вспомогательные вещества	
Натрия хлорид ФС 2.2.0012.18	9 мг
Гентизинат натрия CAS: 4955-90-2 Aldrich, Cat. № G5129	5 мг
Вода для инъекций ФС.2.2.0019.18	до 1.0 мл

тканях при локализации значительного количества атомов радионуклида в непосредственной близости от опухолевой клетки позволяют обеспечить избирательное уничтожение опухоли при минимальном повреждении окружающих тканей. При этом изотоп ¹⁷⁷Lu наряду с основными заряженными частицами (электронами) излучает γ-кванты, что позволяет использовать сцинтиграфию для контроля лечения без дополнительного введения диагностического РФЛП.

В рамках фармацевтической разработки в РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова Минздрава России

Таблица 4. Спецификация радиофармпрепарата “¹⁷⁷Lu-DOTA-AMBA”

Показатели	Методы	Нормативные характеристики
Описание	Визуальный	прозрачная бесцветная или слегка желтоватая жидкость
Подлинность	Гамма-спектрометрия	основные составляющие γ -спектра препарата имеют энергию 0.208 ± 0.001 МэВ с интенсивностью $11 \pm 0.3\%$ и 0.113 ± 0.001 МэВ с интенсивностью $6.3 \pm 0.18\%$, соответствующие γ -излучению лютеция-177
	Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), радиометрия	время удерживания основного пика на хроматограмме препарата должно совпадать со временем удерживания пика DOTA-AMBA на хроматограмме раствора сравнения 1, полученной с помощью спектрофотометрического детектора, с учетом калибровочного коэффициента (К) или отличаться не более чем на 3%
pH	С помощью индикаторной бумаги	от 4.0 до 8.0
Объемная активность	Радиометрия, весовой метод	от 1000 до 1600 МБк/мл на дату и время изготовления
Радиохимическая чистота	ТСХ, радиометрия	не менее 90.0%
Нерadioактивные примеси	ВЭЖХ	суммарная площадь всех пиков со временем удерживания в диапазоне от 0.8 до 1.4 времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора сравнения DOTA-AMBA с концентрацией 10 мкг/мл не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения. Площадь каждого пика со временем удерживания более 0.5, но менее 0.8, а также более 1.4 времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора сравнения DOTA-AMBA с концентрацией 10 мкг/мл, не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения
Этанол	ГХ	не более 100 мг/мл
Натрия хлорид	ВЭКЭ	от 6.0 до 12.0 мг/мл
Натрия гентизинат	ВЭЖХ	от 4 до 6 мг/мл
Бактериальные эндотоксины	Гель-тромб тест	не более 35 ЕЭ/мл
Стерильность	Метод прямого посева	препарат должен быть стерильным
Упаковка		порциями с активностью от 10000 до 16000 МБк на дату и время изготовления помещают в стерильный стеклянный флакон для лекарственных средств объемом 10 или 15 мл, укупоренный пробкой резиновой медицинской типа 1-1 и обжатым колпачком алюминиевым на флакон наклеивают этикетку из бумаги писчей или этикеточной. Флакон помещают в контейнер транспортный для радиоактивных веществ типа КТ1-20. К флакону прилагают инструкцию по медицинскому применению и паспорт
Срок годности		120 ч с даты и времени изготовления

Таблица 5. Состав РФЛП “ ^{177}Lu -DOTA-AMBA”, раствор для внутривенного введения

Активное вещество	
^{177}Lu	от 1000 до 1600 МБк
Вспомогательные вещества	
Натрия хлорид ФС 2.2.0012.18	9 мг
Гентизинат натрия CAS: 4955-90-2 Aldrich, Cat. № G5129	5 мг
Вода для инъекций ФС 2.2.0019.18	до 1.0 мл

для радионуклидной диагностики и пептид-рецепторной радиолигандной терапии метастатического кастрационно-резистентного РПЖ были созданы РФЛП на основе аналога бомбезина — лиганда гастрин-релизинг-пептида. Осуществлена разработка технологии введения хелатирующих групп в молекулу пептида, а также методики получения основного действующего вещества РФЛП, меченных радионуклидами ^{68}Ga и ^{177}Lu , и их готовой лекарственной формы с выбором оптимального состава вспомогательных веществ для обеспечения стабильности радионуклидного комплекса и молекулы предшественника. Были достигнуты высокие показатели радиохимического выхода конечного продукта (до 79%). Разработанные технологии производства РФЛП на основе аналогов бомбезина, меченных ^{68}Ga и ^{177}Lu , а также методики контроля качества РФЛП могут быть внедрены и тиражированы в центрах и подразделениях позитронной эмиссионной томографии, а также отделениях радионуклидной терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Канприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М.: Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ “Национальный медицинский исследовательский центр радиологии” Министерства здравоохранения РФ, 2018. 250 с.
2. Пойда М.Д., Рыжкова Д.В., Станжевский А.А. // Трансляционная медицина. 2018. Т. 5. № 5. С. 46. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2018-5-5-46-52>
3. Долбов А.Л., Станжевский А.А., Розенгауз Е.В. // Лучевая диагностика и терапия. 2021. № 3. Т. 12. С. 80. <https://doi.org/10.22328/2079-5343-2021-12-3-80-86>
4. Синякин И.А., Баталова Т.А., Мироненко Е.Л. // Современные проблемы науки и образования. 2021. № 1. С. 139. <https://doi.org/10.17513/spno.30529>
5. Jagaru A. // J. Nucl. Med. 2017. V 58. P. 1883. <https://doi.org/10.2967/jnumed.117.198192>
6. Mansi R., Fleischmann A., Mäcke H.R., Reubi J.C. // Nat. Rev. Urol. 2013. V. 10. P. 235. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2013.42>
7. Faviana P., Boldrini L., Erba P.A. et al. // Front. Oncol. 2021. V. 11. P. 650249. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.650249>
8. Van de Wiele C., Dumont F., Vanden Broecke R. et al. // Eur J. Nucl. Med. 2000. V. 27. P. 1694. <https://doi.org/10.1007/s002590000355>
9. Nock B.A., Kaloudi A., Kanellopoulos P. et al. // Cancers. 2021. V. 13. P. 5093. <https://doi.org/10.3390/cancers13205093>
10. Maina T., Nock B.A., Kulkarni H. et al. // PET Clin. 2017. V. 12. № 3. P. 297. <https://doi.org/10.1016/j.cpet.2017.02.007>
11. Kähkönen E., Jambor I., Kempainen J. et al. // Clin. Cancer Res. 2013. V. 19. P. 5434. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-3490>
12. Bodei L., Ferrari M., Nunn A. et al. // Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 2007. V. 34. S2. P. S221.