

Получение радиофармацевтического препарата $[^{177}\text{Lu}]$ -PSMA-617 для таргетной радионуклидной терапии рака предстательной железы

Усаров З.О., Абдукаюмов А.М., Рихсиев А.З., Хажиев Л.О.

Государственное предприятие «РАДИОПРЕПАРАТ» ИЯФ АН РУз, Узбекистан, Ташкент

zafar.usarov@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время перспективное направление развития современной онкологии является радионуклидная терапия, с применением радиоактивных фармацевтических препаратов (РФП) прицельно направленного, т.е. таргетного воздействия на опухолевые ткани. Рак предстательной железы является вторым, наиболее часто диагностируемым раком у мужчин и пятой по значимости причиной смерти от рака во всем мире [1]. Согласно оценке GLOBOCAN 2020, в 2020 году более чем у 1,4 миллиона пациентов был диагностирован рак предстательной железы (РПЖ), что привело к 375 304 ассоциированных смертей во всем мире [2]. Исходя из этого можно сделать вывод, что для снижения уровня смертности больных раком предстательной железы, необходима ранняя диагностика с последующим лечением надлежащего терапевтического режима с использованием радиофармпрепаратов специфических к клеткам опухоли предстательной железы. К числу таких перспективных препаратов и относят $[^{177}\text{Lu}]$ -ПСМА-617, меченный радионуклидом лютеций-177, без носителя, который является на сегодняшний день новым РФП для терапии рака предстательной железы [3]. $[^{177}\text{Lu}]$ -ПСМА-617 что связывается с высокой специфичностью к простат-специфическому мембранному антигену (ПСМА), что позволяет проводить терапию бета-частицами, нацеленную на метастатический резистентный к кастрации рак предстательной железы, а также имея мягкую гамма излучение позволяет наблюдать аккумуляцию $[^{177}\text{Lu}]$ -ПСМА-617 в организме человека. Об успешном применении РФП $[^{177}\text{Lu}]$ -ПСМА-617 при клиническом лечении РПЖ с обладающей терапевтической эффективностью показывают результаты [1, 4-8].

Таким образом, необходимость исследований условия мечения радионуклида ^{177}Lu в форме хлорида с пептид-лигандом простат-специфического мембранного антигена (ПСМА) и стабильность полученного комплекса $[^{177}\text{Lu}]$ -ПСМА является очень актуальным. В данной работе исследована условия мечения пептида-лиганда ПСМА-617 с радионуклидом лютеций-177, без носителя.

ПОЛУЧЕНИЕ ^{177}Lu В ЯДЕРНОМ РЕАКТОРЕ

Радионуклид ^{177}Lu можно получать двумя способами:

В первом способе ^{177}Lu получают облучением нейтронами ядерного реактора стартового материала, обогащенного по Lu-176 по ядерной реакции $^{176}\text{Lu} (n, \gamma) ^{177}\text{Lu}$. В этом случае значение удельной активности получаемой ^{177}Lu существенно ниже теоретической удельной активности, а также неизбежность образования долгоживущего радионуклида $^{177\text{m}}\text{Lu}$ ($T_{1/2} = 160$ сут), доля (по активности) которого в ^{177}Lu может достигать 3%.

Во втором способе ^{177}Lu получают облучением нейтронами ядерного реактора материала мишени, содержащего Yb обогащенного стабильным изотопом ^{176}Yb по ядерной реакции $^{176}\text{Yb} (n, \gamma) ^{177}\text{Yb} (\beta^-) ^{177}\text{Lu}$. В этом случае независимо от интенсивности нейтронного потока образуется ^{177}Lu с удельной активностью близкой к теоретической удельной активности и отсутствие примеси долгоживущего радионуклида $^{177\text{m}}\text{Lu}$.

Результаты и обсуждения

Получение $^{177}\text{LuCl}_3$

Для получения трихлорида лютеция-177 ($^{177}\text{LuCl}_3$) облучали 100 мг стабильного иттербия обогащенного по иттербию-176 (степень обогащения-99,9) в форме нитрата $^{176}\text{Yb}(\text{NO}_3)_3$ в кварцевой ампуле в потоке тепловых нейтронов в течение 120 часов. После облучения образец выдерживали в течение 20 часов для распада короткоживущего ^{177}Yb ($T_{1/2} = 1,911$ часов) и растворяли в 0,01 М растворе азотной кислоты. Полученный раствор загружали в хроматографическую колонку, заполненной катионообменной смолой Дауэкс-50X8, с размерами частиц 200-400 меш предварительно обработанного 0,1М раствором хлорида аммония. Промывали колонку бидистиллированной водой и после элюировали ^{177}Lu и $^{175,176}\text{Yb}$ 0,15 М раствором аммонийной соли альфа-оксиизомасляной кислоты с градиентом концентрации элюента от 0,05 М до 0,15 М в течении 300 минут. Собирали фракции элюатов с Lu-177 и $^{175,176}\text{Yb}$ отдельно в течение от 340 до 440 мин. Фракции с раствором с ^{177}Lu подкисляли 6,0 М соляной кислотой до pH=1,0, пропускали через колонку заполненную твердым экстрагентом Д2ЭГФК/ФТ-4, приготовленной импрегнированием на набухшей этиловым спиртом тефлоновой пудры фторопласт-4 (ФТ-4) жидкого экстрагента (катионита) Д2ЭГФК (Ди-2-этилгексилортофосфорная кислота).

Промывали колонку 0,1 М раствором HCl и ^{177}Lu элюировали 6,0 М раствором HCl. Затем раствор упаривали до сухого остатка на ротационном испарителе, и сухой остаток растворяли в необходимом количестве 0,04 М растворе HCl, и пропустили через мембранный фильтр с размерами пор 0,22 μm .

В результате получали лютеция-177 хлорид, ($^{177}\text{LuCl}_3$) без носителя в 0,04 М растворе HCl с радиохимической чистотой $99,9 \pm 0,05\%$ и удельной активности $\geq 92,0$ Кюри/мг.

Контроль качества субстанции «Лютеция хлорид ($^{177}\text{LuCl}_3$) с ^{177}Lu , без носителя» в 0,04 М растворе HCl.

Для определения РХЧ субстанции испытуемый исходный раствор субстанции разбавили до объемной активности 740 МБк/мл и наносили аликвоту на хроматографические полоски по $7,4 \times 10^5$ Бк.

Пластинку с тонким слоем силикагеля (ТСХ) разрезали полоски размером 15×140 и 10×100 мм, на линию старта (15 мм от края полоски) наносили пробу исследуемого раствора объемом 1,0-1,5 мкл. Пластинки нанесенные на нем субстанции высушивали на воздухе. Затем пластины переносят в камеру для ТСХ и конец со стартовой линией погружали в подвижную фазу (ПФ) в вертикальном положении для хроматографирования восходящим методом. Результаты исследований определения РХЧ субстанции приведены на рисунках -1 и 2.

Получение радиофармацевтического препарата $[^{177}\text{Lu}]$ -PSMA-617

Радиофармпрепарат « $[^{177}\text{Lu}]$ -PSMA-617» получали путем смешивания раствора пептида-лиганда PSMA-617 в аскорбатном буферном растворе (АБР) с раствором субстанции «Лютеция хлорид ($^{177}\text{LuCl}_3$) с ^{177}Lu , без носителя» с последующей инкубацией на водяной бане при температуре $90-95^\circ\text{C}$ в течение 20 минут периодически перемешивая раствор реакционной смеси. Для этого 1,0 мг пептид-лиганда PSMA-617 растворяли в воде для инъекций и расфасовывали в пробирки Eppendorf и оставили на хранение в Кельвинагоре при температуре -50°C . Брали порцию/фасовку замороженного раствора пептида-лиганда PSMA-617, добавляли АБР и хорошо перемешивали.

Содержание АБР варьировалось от 50 до 150 мг. После в раствор пептида-лиганда PSMA-617 добавили раствор субстанции «Лютеция хлорид ($^{177}\text{LuCl}_3$) с ^{177}Lu , без носителя» и инкубировали на водяной термостат-бане при температуре $90-95^\circ\text{C}$ в течение 20 минут. Количество активности ^{177}Lu варьировалось от 0,37 до 18,5 Гбк. После завершения процесса инкубации пробирку с раствором извлекли из термостат-бани и охлаждали до комнатной температуры и довели объем реакционной смеси до 3,0 мл раствором натрия хлорида из расчета 8,0-10,0 мг/мл NaCl перенося в флакон для лекарственных средств. Радиохимический выход мечения оценили, определяя радиохимическую чистоту каждой реакционной смеси вышеописанной методикой контроля качества.

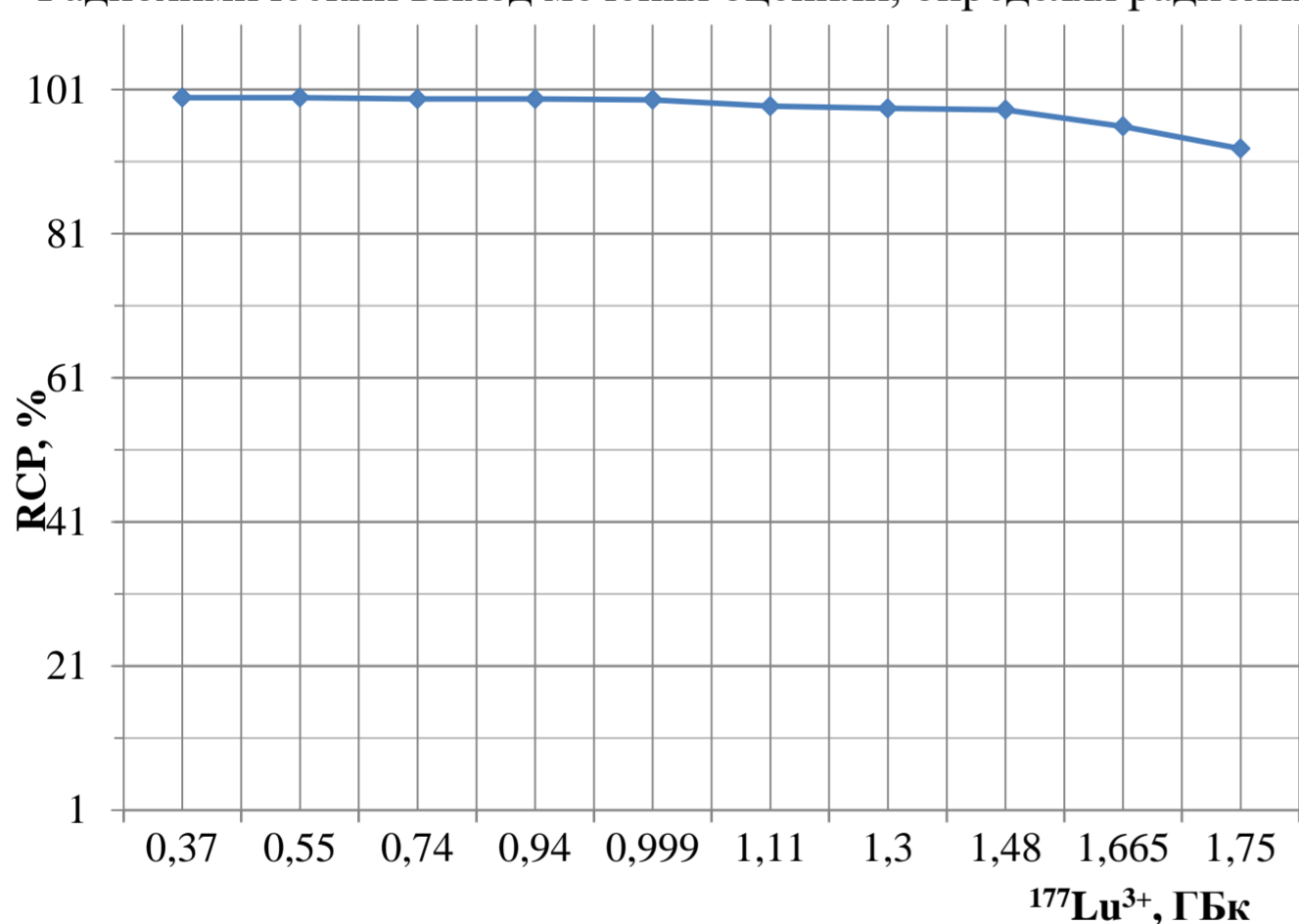


Рисунок 3. Радиохимический выход в % мечения пептида-лиганда PSMA-617 (4,8 nmol) с $^{177}\text{Lu}^{3+}$ в соотношении ^{177}Lu : PSMA-617 от 1:1,6 до 1:4,1.

Для достоверного определения радиохимического выхода (РВ) мечения пептида-лиганда PSMA-617 с радионуклидом лютеция-177 определяли РХЧ полученного радиофармацевтического препарата « $[^{177}\text{Lu}]$ -PSMA-617» в двух системах.

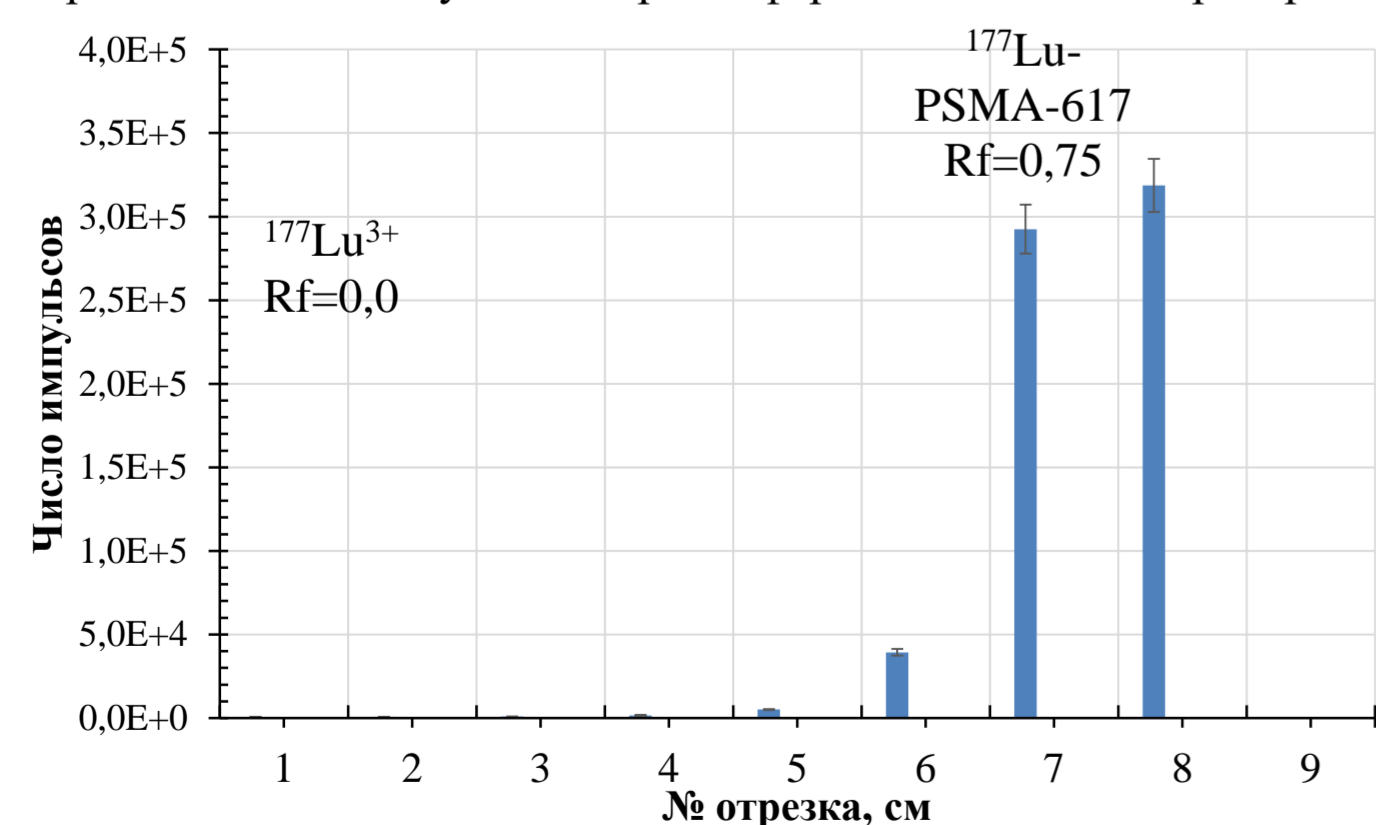


Рисунок 5. Гистограмма РФП ^{177}Lu -PSMA-617, Whatman 3MM, $\text{NH}_4\text{OH}:\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$, 1:5:10, n=6, РХЧ=99,4±0,3%

Заключение.

Таким образом, из результатов исследований следуют, что при синтезе РФП ^{177}Lu -PSMA-617 самым оптимальным соотношением субстанции $^{177}\text{LuCl}_3$ в 0,04 М растворе кислоты HCl с пептидом-лигандом PSMA-617 является 1:2, а именно при мечении 4,8 nmol PSMA-617 до 1,5 Гбк $^{177}\text{LuCl}_3$ радиохимическая чистота полученного РФП составляет более $\geq 98,0\%$.

Определена оптимальная объемная активность $^{177}\text{LuCl}_3$ добавляемой в реакционную смесь при синтезе РФП $[^{177}\text{Lu}]$ -PSMA-617, что при объемной активности менее 1000 мКюри/мл РХЧ получаемого РФП снижается в среднем до значений ниже $98,0 \pm 0,3\%$.

Разработаны воспроизводимые методики определения РХЧ РФП $[^{177}\text{Lu}]$ -PSMA-617, где расстояние между пиками коллоидной формы ^{177}Lu , ионы $^{177}\text{Lu}^{3+}$ и радиофармацевтического препарата $[^{177}\text{Lu}]$ -PSMA-617 составляет более 2,0 см, что это исключает взаимного влияние пиков.

Таким образом, из полученных результатов работы можно сделать вывод о том, что при синтезе радиофармацевтического препарата $[^{177}\text{Lu}]$ -PSMA-617 с содержанием пептида-лиганда PSMA-617 48 nmol количество добавляемой субстанции «Лютеция хлорид ($^{177}\text{LuCl}_3$) с ^{177}Lu , без носителя» с удельной активностью более 90 Кюри/мг не должно превышать 15 Гбк с объемной активностью не менее 37 Гбк/мл.

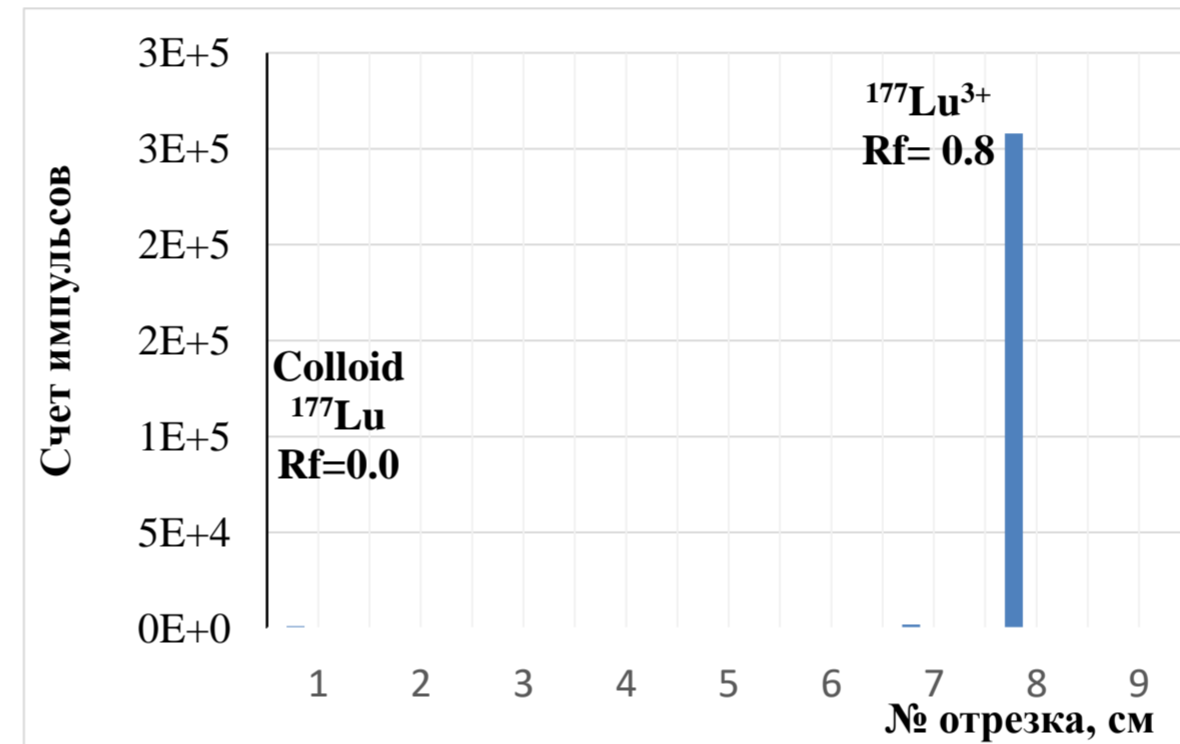


Рисунок 1. Хроматограмма субстанции «Лютеция хлорид ($^{177}\text{LuCl}_3$) с ^{177}Lu , без носителя» в 0,04 М растворе HCl. А) Подвижная фаза МЭК (Метилэтилкетон) длина полоски 10 см. РХЧ 99,5; n=3

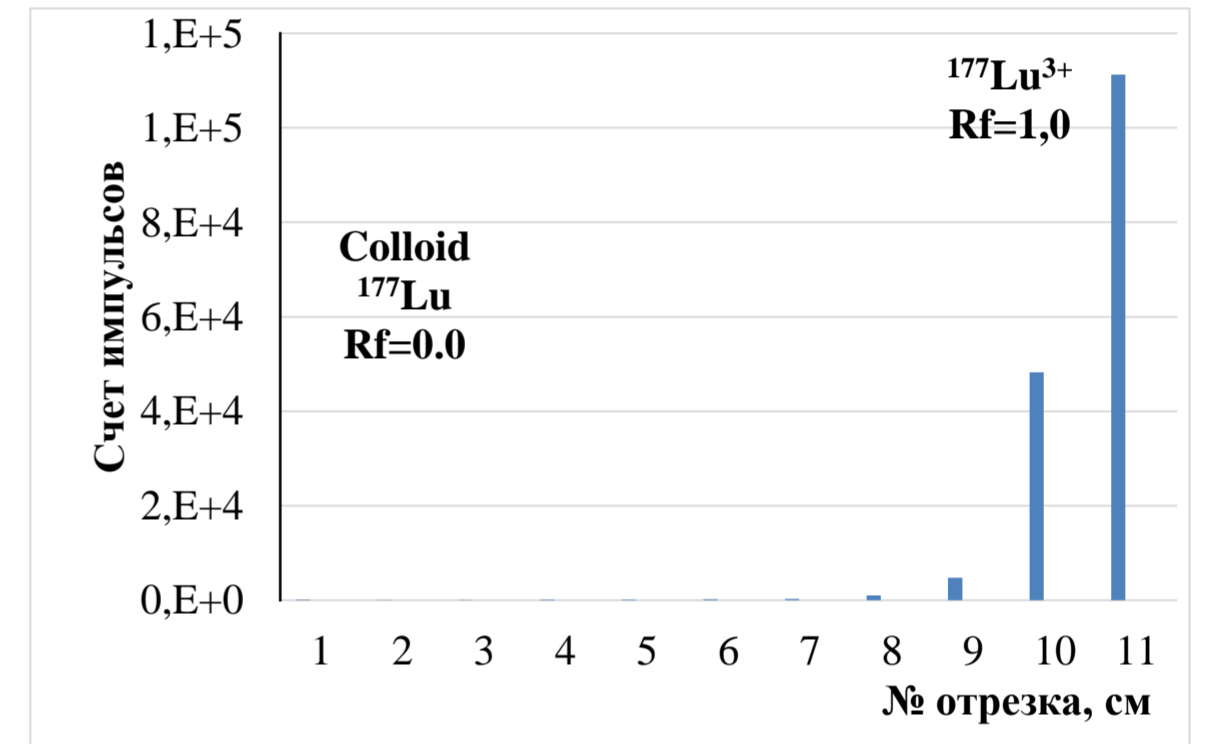


Рисунок 2. Хроматограмма субстанции «Лютеция хлорид ($^{177}\text{LuCl}_3$) с ^{177}Lu , без носителя» в 0,04 М растворе HCl. Б) Подвижная фаза 0,1 М Cit pH 5,0, длина полоски 12 см, РХЧ 99,2%; n=3

Как видно из рисунка-3 при мечении 4,8 nmol пептида-лиганда PSMA-617 с радионуклидом ^{177}Lu в соотношении PSMA-617: ^{177}Lu от 4,8:1 до 2:1 радиохимический выход мечения снижается от 99,7% до 98,2%, где количество добавляемой активности радионуклида ^{177}Lu составляло 0,37; 0,55; 0,74; 0,94; 1,0; 1,1; 1,3; 1,48 Гбк соответственно. При увеличении количества добавляемой активности ^{177}Lu более 1,5 Гбк на 4,8 nmol PSMA-617 с соотношением PSMA-617: ^{177}Lu менее 1:2 тогда радиохимический выход мечения пептида-лиганда PSMA-617 с радионуклидом ^{177}Lu составляла ниже 96%.

Для определения оптимальной объемной активности лютеция хлорида с ^{177}Lu добавляемой в реакционную смесь, исследовали радиохимический выход мечения пептида-лиганда PSMA-617 с радионуклидом ^{177}Lu . Соотношение PSMA-617 : ^{177}Lu составляло 2:1, а общий объем реакционной смеси составлял 1,0 мл. Результаты исследований синтеза радиофармацевтического препарата $[^{177}\text{Lu}]$ -PSMA-617 с соотношением PSMA-617 : ^{177}Lu 2:1, с различной объемной активностью приведены на рисунке 4.

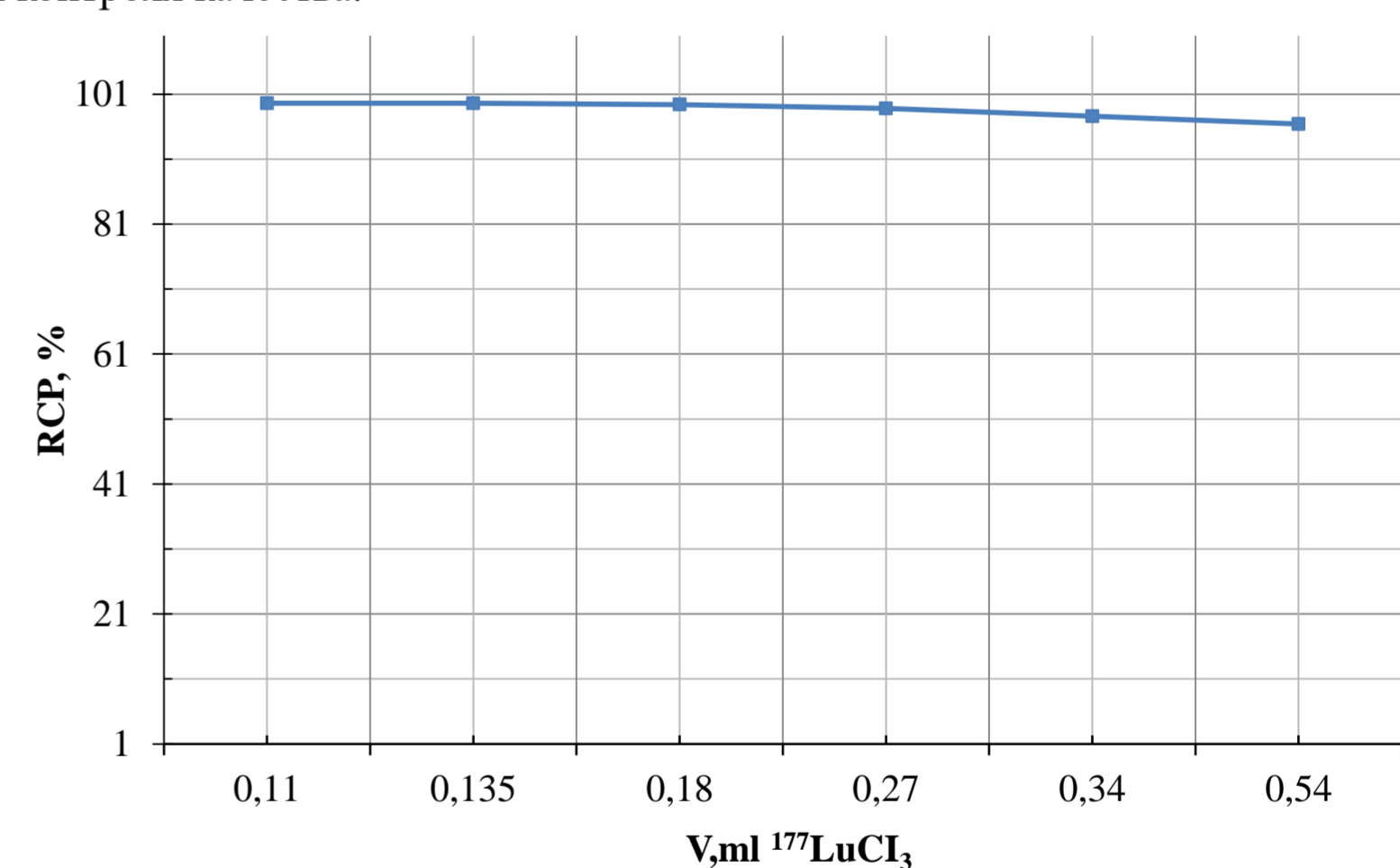


Рисунок 4. Радиохимический выход мечения пептида-лиганда PSMA-617 с ^{177}Lu различными объемными активностями $^{177}\text{LuCl}_3$.

Как видно из рис.-4, при введении радионуклида ^{177}Lu в виде $^{177}\text{LuCl}_3$ в 0,04 М растворе HCl к реакционной смеси пептида-лиганда PSMA-617 с объемной активности лютеция хлорида менее 1000 мКюри/мл радиохимическая чистота получаемого радиофармацевтического препарата снижается в среднем до значений ниже $98,0 \pm 0,3\%$.

Как видно из рис.5 в системе Whatman 3MM: $\text{NH}_4\text{OH}:\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$, с соотношением фаз 1:5:10 свободный ион $^{177}\text{Lu}^{3+}$ остается на месте нанесения пробы с (Rf=0,0), а радиофармацевтический препарат $[^{177}\text{Lu}]$ PSMA-617 продвигается подвижной фазой с значением Rf=0,75. В то время во второй системе (рис.6) и свободный ион $^{177}\text{Lu}^{3+}$ продвигается с подвижной фазой до линии финиша (Rf=0,95), и радиофармацевтический препарат $[^{177}\text{Lu}]$ PSMA-617 продвигается подвижной фазой с значением Rf=0,55, а на линии старта (Rf=0,2) остается коллоидной формы ^{177}Lu .

REFERENCES

1. Michael S Hofman, John V., Rodney J. H., at all // Lancet Oncology 2018; V. 19; pp. 825-833;
2. Hyuna Sung, Jacques F., Rebecca L., // Cancer Journal for Clinicians 2020; V. 71, pp. 209-249;
3. Kristell L.S.C., Sandra H., Mark K., Janneke D.M. at all // Theranostic Agent, *Theranostics* 2016; V. 6, pp.849-861;
4. Yasemin S., Duygu Has S., Oner S. // Biomedecines, 2021; V. 9, 430
5. L. van Kalmthout, A. Braat, M. Lam et al. // Clinical Nuclear Medicine, 2019, V. 44, pp. 446-451;
6. F. E. von Eyben, G. Roviello, T. Kiljunen et al. // EJ of NM&MI, 2018, V. 45, no. 3, pp. 496-508;
7. Louise E., Kathy W., John V., Jane S, Journal of Medical Radiation Sciences, 2017, (64), pp.52-60;
8. H. Ahmadzadehfar, S. Wegen, A. Yordanova et al. // European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, V. 44, no. 9, pp. 1448-1454, 2017.