

Сведения о ходе выполнения проекта по Соглашению № 14.607.21.0041 от 22.07.2014г.

(Руководитель проекта, доктор ф.-м. наук Д.Ю. Чувилин)

В ходе выполнения проекта по Соглашению о предоставлении субсидии №14.607.21.0041 от 22.07.2014 г. Минобрнауки России в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы» на этапе № 1 «Разработка радиоиммунного препарата с бета-излучающим радиоизотопом лютеций-177 для терапии злокачественных новообразований, гиперэкспрессирующих на поверхности клетки онкомаркер HER/2neu» в период с 22.07.2014 г. по 31.12.2014 г. выполнялись следующие работы:

1. Проведен аналитический обзор современной научно-технической, нормативной, методической литературы, затрагивающей научно-техническую проблему, исследуемую в рамках ПНИ.
2. Проведено обоснование выбора направления исследований.
3. Проведены патентные исследования по ГОСТ 15.011-96.
4. Разработан технологический процесс получения радиоиммунного препарата с бета-излучающим радиоизотопом Lu-177 для терапии злокачественных новообразований, гиперэкспрессирующих на поверхности клетки онкомаркер HER/2neu.
5. Проведена модернизация автоматизированного модуля синтеза РФП и изготовлен экспериментальный образец.
6. Разработаны Программы и методики исследовательских испытаний экспериментального образца автоматизированного модуля.
7. Проведены испытания экспериментального образца автоматизированного модуля в соответствии с Программой и методиками исследовательских испытаний (на соответствие пунктам 4.3.3 ТЗ).
8. Разработан Лабораторный технологический регламент получения РФП.
9. Произведена наработка экспериментальных образцов РФП.
10. Разработаны Программы и методики исследовательских испытаний экспериментальных образцов РФП (на соответствие пунктам 4.3.1-4.3.2 ТЗ).
11. Проведены испытания экспериментальных образцов РФП в соответствии с Программой и методиками исследовательских испытаний.
12. Разработан План доклинических исследований лекарственного средства (РФП).

13. Разработана методика определения селективности накопления и связывания РФП с опухолевыми клетками, гиперэкспрессирующими онкомаркер HER2/neu.
14. Проведены исследования функциональной пригодности РФП: исследование специфичности связывания РФП с опухолевыми клетками, гиперэкспрессирующими онкомаркер HER2/neu в сравнении с контрольными клетками, не несущими указанные маркеры (исследования *in vitro*); исследование накопления РФП в зависимости от его концентрации в инкубационной среде в(на) опухолевых клетках (исследования *in vitro*).
15. Подведены итоги этапа и разработана отчетная документация.

В результате выполнения первого этапа работ по Соглашению № 14.607.21.0041 о предоставлении субсидии получены нижеследующие основные результаты.

Сделан обзор современной научно-технической, нормативной и методической литературы, обоснован выбор направлений исследования, как в части создания РФП, так и в части изучения его функциональной пригодности. Количество использованных источников в литературном обзоре - 94, из них 25 публикации с 2009 г. по настоящее время.

Проведенные патентные исследования подтвердили патентную чистоту методов и подходов, используемых в настоящих прикладных научных исследованиях. Анализ выявленных патентов показал, что разработка отвечает основным тенденциям развития данного направления, на дату окончания патентных исследований не выявлено решений, совпадающих с предлагаемыми разработчиками. Результаты проведенных патентных исследований позволяют на следующих этапах проведения работ выявить объекты возможной правовой охраны.

Разработан технологический процесс получения РФП с β -излучающим радионуклидом ^{177}Lu . С целью повышения качества получения РФП проведена модернизация автоматизированного модуля синтеза. Модернизация коснулась, как технологического процесса, так и архитектуры АСУ. Для сокращения времени синтеза РФП и улучшения его качества транспортировка рабочих растворов в экспериментальном образце автоматизированного модуля синтеза осуществляется перистальтическим насосом взамен шприцевого, а дозировка - посредством съёмной кассеты с дозированным количеством растворов.

Разработан Лабораторный технологический регламент получения РФП и изготовлены экспериментальные образцы РФП в количестве десяти штук и исследованы их свойства на соответствие ТЗ. Разработан план доклинических исследований РФП.

Разработана методика определения селективности накопления и связывания РФП с опухолевыми клетками, гиперэкспрессирующими онкомаркер HER2/neu, основанная на проведении *in vitro* процедур иммуноцитохимического окрашивания, иммуноферментного анализа и калориметрического МТТ-теста. По данным иммуноцитохимического окрашивания производилась визуальная оценка

экспрессии рецептора HER2/neu на поверхности раковых клеток. Методом иммуноферментного анализа, подобрав оптимальные условия иммунохимической реакции, с помощью спектрофотометра фиксировалось изменение интенсивности хромогенной реакции с коммерческими анти-HER2/neu антителами после предварительной инкубации опухолевых клеток с образцами РФП в различных концентрациях. По данным МТТ-теста оценивалось количество жизнеспособных клеток в опытной группе клеток, инкубированных с РФП, относительно контрольной группы.

Исследована специфичность связывания РФП с опухолевыми клетками, несущими онкомаркер HER2/neu в сравнении с контрольными клетками. При проведении иммуноферментного анализа в ингибиторном варианте в опытной группе HER2/neu+ клеток, инкубированных с РФП, было зафиксировано падение интенсивности окрашивания по сравнению с группой контрольных клеток. Было показано, что РФП обладает способностью ингибировать связывание коммерческих анти-HER2/neu антител с рецептором HER2/neu, что обусловлено специфической активностью рекомбинантных мини-антител в составе конструкции молекул РФП к онкомаркеру HER2/neu, обеспечивая связывание РФП с опухолевыми клетками.

Исследовано накопление РФП на опухолевых клетках в зависимости от его концентрации в инкубационной среде. Накопление препарата исследовалось с помощью калориметрического МТТ-теста. Наблюдалось выраженное ингибирующее влияние образцов РФП на рост HER2/neu+ опухолевых клеток. Было показано, что с увеличением концентрации РФП в инкубационной среде усиливается блокирующее влияние радиопрепарата на рост раковых клеток.

Область применения - ядерная медицина, радиоиммунотерапия, терапия микрометастазов, биохимия.

Таким образом, все задачи первого этапа работ выполнены в соответствии с планом-графиком исполнения обязательств и техническим заданием Соглашения № 14.607.21.0041 о предоставлении субсидии от 22 июля 2014 г.