

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 Минобрнауки России о предоставлении субсидии №14.607.21.0041 «Разработка радиоиммунного препарата с бета-излучающим радиоизотопом лютеций-177 для терапии злокачественных новообразований, гиперэкспрессирующих на поверхности клетки онкомаркер HER2/neu» от 22.07.2014 г. в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы» в период с 01.07.2015 г. по 31.12.2015 г. на этапе № 3 выполнялись следующие работы:

1. Нарботка экспериментальных образцов РФП и анализ их качества.
2. Исследование фармакокинетики РФП на основе радиоизотопа Lu-177 в организмах лабораторных животных с привитыми опухолями, гиперэкспрессирующими онкомаркер HER2/neu (исследования *in vivo*).
3. Исследование фармакокинетики РФП на основе радиоизотопа Lu-177 в организмах интактных животных (исследования *in vivo*).
4. Подведение итогов этапа и разработка отчетной документации.

В результате выполнения этапа №3 работ по Соглашению № 14.607.21.0041 о предоставлении субсидии получены нижеследующие основные результаты:

Проведен аналитический обзор современной научно-технической, нормативной, методической литературы, затрагивающей научно-техническую проблему, исследуемую в рамках ПНИ. Проведено обоснование выбора направления исследований. Проведены патентные исследования по ГОСТ 15.011-96. Разработан технологический процесс получения радиоиммунного препарата с бета-излучающим радиоизотопом Lu-177 для терапии злокачественных новообразований, гиперэкспрессирующих на поверхности клетки онкомаркер HER2/neu. Проведена модернизация автоматизированного модуля синтеза РФП и изготовление экспериментального образца. Разработаны Программы и методики исследовательских испытаний экспериментального образца автоматизированного модуля. Проведены испытания экспериментального образца автоматизированного модуля в соответствии с Программой и методиками исследовательских испытаний (на соответствие пунктам 4.3.3 ТЗ). Разработан Лабораторный технологический регламент получения РФП. Произведена наработка экспериментальных образцов РФП Разработаны Программы и методики исследовательских испытаний

экспериментальных образцов РФП (на соответствие пунктам 4.3.1-4.3.2 ТЗ). Проведены испытания экспериментальных образцов РФП в соответствии с Программой и методиками исследовательских испытаний. Разработан План доклинических исследований лекарственного средства (РФП). Разработана методика определения селективности накопления и связывания РФП с опухолевыми клетками, гиперэкспрессирующими онкомаркер HER2/neu. 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 опухолевых клетках (исследования *in vitro*).

Наработку радионуклида Lu-177 проводили в исследовательском ядерном реакторе ИР-8 по реакции радиационного захвата $^{176}\text{Yb}(n,g)^{177}\text{Yb}\rightarrow^{177}\text{Lu}$. В качестве стартового изотопа использован обогащенный до 99,74% стабильный изотоп Yb-176. Нароботаны образцы РФП состава «Человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) - мини-антитело - хелатор - радионуклид Lu-177».

Проведено радиохимическое выделение радионуклида Lu-177 из облученных мишеней и анализ его качества. Радиоиммуноконъюгат состава «ЧСА - мини-антитело - хелатор - радионуклид Lu-177» получен на автоматизированном модуле синтеза в соответствии с Лабораторным технологическим регламентом.

Исследована цитотоксичность РФП- ^{177}Lu на опухолевых клетках РМЖ ВТ-474, гиперэкспрессирующих онкомаркер HER2/neu (исследования *in vitro*). По результатам калориметрического МТТ-теста при 24-часовой инкубации клеток, гиперэкспрессирующих онкомаркер HER2/neu, показано, что образцы РФП в области терапевтических доз оказывают интенсивное, близкое к 100%, токсическое воздействие.

Разработана методика подтверждения стабильности РФП в физиологических средах - в физиологическом растворе и сыворотке крови человека. Показано, что исследуемый РФП- ^{177}Lu стабилен в физиологическом растворе - радиохимическая чистота препарата находится в пределах 92-97%. Исследована стабильность РФП в растворе сыворотки крови человека. Показано, что препарат стабилен в растворе сыворотки крови человека - РХЧ препарата находится в пределах 91-97 %.

В рамках задачи получения релевантной модели РМЖ человека *in vivo* выполнена характеристика экспрессии целевого антигена в ткани ксенографта опухоли. Отдельной технологической задачей являлось обеспечение исследований на животных опухолевым материалом - поддержание и наработка культуры клеток ВТ474. Для изучения специфических свойств РФП- ^{177}Lu отработана модель HER2-положительного ксенографта РМЖ человека у

мышей линии nude с использованием клеток культуры BT474. Экспрессия антигена-мишени в клетках опухоли *in vivo* подтверждена методом иммунагистохимического окрашивания с использованием поликлональных анти-HER2 антител.

Разработан алгоритм масштабирования и накопления культуры клеток BT474 в количестве, достаточном для инокуляции репрезентативной группе животных. Для исследования специфических свойств РФП-¹⁷⁷Lu на животных-опухоленосителях за все время работы наработано $5,2 \times 10^8$ клеток культуры BT474.

Проведено исследование фармакокинетики РФП-¹⁷⁷Lu в организмах лабораторных животных с привитыми опухолями, гиперэкспрессирующими онкомаркер HER2/neu и в организмах интактных животных (исследования *in vivo*).

На модели ксенографта BT474 у мышей показано, что при внутривенном введении РФП-¹⁷⁷Lu мышам nude с ксенографтом HER2-положительного РМЖ человека препарат в течение 7 суток удерживается в опухолевой ткани. Концентрация радиоактивной метки в опухоли на протяжении времени наблюдения составляла 3%ID/г. Как и у интактных мышей линии СВА, у мышей nude радиоактивная метка накапливалась в печени, селезенке, костях и в почках. На 7 сутки наблюдения концентрация активности в опухоли BT474 значительно превышала концентрацию активности в крови, легких, желудке, кишечнике, коже, сердечной и скелетной мускулатуре животных-опухоленосителей.

Продемонстрированная доставка и удержание препарата «ЧСА - мини-антитело - хелатор - радионуклид Lu-177» в опухоли позволяет перейти к исследованию противоопухолевой активности, токсичности, аллергенности и иммунотоксичности РФП.

В рамках внебюджетного финансирования для обеспечения выполнения работ на этапе 3 был выполнен комплекс регламентных, профилактических, пуско-наладочных мероприятий; методических и метрологических работ на электромагнитном сепараторе С-2, лаборатории химического анализа, реакторе ИР-8 и защитных камерах.

Подана заявка № 2015115120 РФ от 22.04.2015 г. на изобретение «Способ получения радионуклида лютеций-177».

Область применения - ядерная медицина, радиоиммунотерапия, биохимия.

Таким образом, все работы этапа №3 выполнены в соответствии с планом-графиком исполнения обязательств и техническим заданием Соглашения № 14.607.21.0041 о предоставлении субсидии от 22 июля 2014 г.