Оригинальная статья / Research article

УДК 616.72-018.36-002

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1966

Check for updates

CC BY 4.0

О возможности использования гиалуроновой кислоты в композиции с рением-188 для радиосиновиортеза

К. В. Майоров[1], Н. Д. Белоглазова[1]✉, Н. Г. Сашова[1], Г. Е. Кодина[2], А. О. Малышева[2], О. Е. Клементьева[3]

[1] ООО «БЕБИГ». 123458, Россия, г. Москва, ул. Твардовского, д. 8, стр. 1

[2] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна» (ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна ФМБА России). 123098, Россия, г. Москва, ул. Живописная, д. 46

[3] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России). 115522, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23

✉ **Контактное лицо:** Белоглазова Наталья Дмитриевна. **E-mail:** Natalibeloglazova1997@gmail.com

ORCID: К. В. Майоров – https://orcid.org/0000-0002-3254-2846;
Н. Д. Белоглазова – https://orcid.org/0009-0009-7784-2146;
Н. Г. Сашова – https://orcid.org/0009-0004-3588-9433;
Г. Е. Кодина – https://orcid.org/0000-0002-3415-4329;
А. О. Малышева – https://orcid.org/0000-0002-9508-2840;
О. Е. Клементьева – https://orcid.org/0000-0002-6604-0860.

Статья поступила: 07.11.2024 **Статья принята в печать:** 28.03.2025 **Статья опубликована:** 28.03.2025

Резюме

Введение. Одним из самых распространенных поражений суставов является остеоартрит. Численность больных стремительно растет, и, по прогнозам, к 2050 г. количество людей в мире, заболевших остеоартритом, превысит 1 миллиард. В ряде европейских стран в качестве лечения применяется процедура радиосиновиортеза. В ее основе лежит облучение синовии сустава при внутрисуставном введении различных радиофармпрепаратов, содержащих β-излучающие радионуклиды.

Цель. Изучение возможности создания радиофармацевтической композиции для радиосиновиортеза на основе рения-188 и гиалуроновой кислоты в качестве стабилизатора.

Материалы и методы. Раствор натрия перрената, ^{188}Re получали из генератора ^{188}W/^{188}Re «ГРЕН-1» (АО «ГНЦ РФ – ФЭИ», Россия). Активность ^{188}Re измеряли на дозкалибраторе ISOMED 2010 (PTW-Freiburg, Германия). Метод тонкослойной хроматографии на пластинках с тонким слоем силикагеля на алюминиевой подложке в ацетоне использовали для определения радиохимической чистоты. Измерение активности участков хроматограммы проводили на сканере хроматограмм Scan-RAM (LabLogic Systems Ltd., Великобритания). С помощью pH-метра S20 Seven Easy (METTLER TOLEDO, Швейцария) измеряли pH. Размер частиц определяли методом лазерной дифракции на приборе LA-350 с диапазоном определения 0,1–1000 мкм (HORIBA, Япония). Накопление ^{188}Re в суставе определяли на гамма-счетчике Wizard 2480 (PerkinElmer, США) после внутрисуставного введения композиции половозрелым крысам, конвенциональным альбиносам (самки).

Результаты и обсуждение. В рамках исследований проведено сравнение физико-химических свойств синтезированных композиций, полученных различными способами. Найдена оптимальная концентрация гиалуроновой кислоты и определена возможность лиофилизации реагента, содержащего гиалуроновую кислоту и другие вспомогательные вещества. Изучено биологическое поведение синтезированных композиций после внутрисуставного введения половозрелым крысам, конвенциональным альбиносам (самки).

Заключение. Разработана радиофармацевтическая композиция, содержащая рений-188 и гиалуроновую кислоту, с радиохимической чистотой более 95 %. Накопление радионуклида в коленном суставе составляло более 96 % через 3 ч после внутрисуставного введения. Данная композиция представляет интерес для дальнейшего изучения в качестве радиофармацевтического лекарственного препарата для радиосиновиортеза.

Ключевые слова: ядерная медицина, радиофармацевтические лекарственные препараты, рений-188, радионуклидный генератор, гиалуроновая кислота, радиосиновиортез, остеоартрит, радиохимическая чистота

© Майоров К. В., Белоглазова Н. Д., Сашова Н. Г., Кодина Г. Е., Малышева А. О., Клементьева О. Е., 2025
© Mayorov K. V., Beloglazova N. D., Sashova N. G., Kodina G. E., Malysheva A. O., Klementyeva O. E., 2025

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. К. В. Майоров, Н. Д. Белоглазова – анализ литературных данных. А. О. Малышева, Г. Е. Кодина – вклад в концепцию работы, анализ и интерпретация результатов работы. О. Е. Клементьева – планирование дизайна экспериментов, их проведение, обработка полученных результатов, разработка состава лекарственной композиции. Н. Г. Сашова, Г. Е. Кодина, А. О. Малышева, О. Е. Клементьева Н. Д. Белоглазова участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Финансирование. Результаты работы и публикация статьи выполнены при финансовой поддержке ООО «БЕБИГ».

Для цитирования: Майоров К. В., Белоглазова Н. Д., Сашова Н. Г., Кодина Г. Е., Малышева А. О., Клементьева О. Е. О возможности использования гиалуроновой кислоты в композиции с рением-188 для радиосиновиортеза. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):28–36. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1966

On the possibility of using hyaluronic acid in a composition with rhenium-188 for radiosynoviorthesis

Kirill V. Mayorov[1], Natalia D. Beloglazova[1]✉, Natalia G. Sashova[1], Galina E. Kodina[2], Anna O. Malysheva[2], Olga E. Klementyeva[3]

[1] LLC "BEBIG". 8/1, Tvardovskogo str., Moscow, 123458, Russia
[2] State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency. 46, Zhivopisnaya str., Moscow, 123098, Russia
[3] Federal State Budgetary Institution «N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation (N. N. Blokhin NMRCO). 23, Kashirskoe shosse, Moscow, 115522, Russia

✉ **Corresponding author:** Natalia D. Beloglazova. **E-mail:** Natalibeloglazova1997@gmail.com

ORCID: Kirill V. Mayorov – https://orcid.org/0000-0002-3254-2846;
Natalia D. Beloglazova – https://orcid.org/0009-0009-7784-2146;
Natalia G. Sashova – https://orcid.org/0009-0004-3588-9433;
Galina E. Kodina – https://orcid.org/0000-0002-3415-4329;
Anna O. Malysheva – https://orcid.org/0000-0002-9508-2840;
Olga E. Klementyeva – https://orcid.org/0000-0002-6604-0860.

Received: 07.11.2024 **Accepted:** 28.03.2025 **Published:** 28.03.2025

Abstract

Introduction. Osteoarthritis is one of the most common joint diseases. The number of patients is growing rapidly and by 2050, the number of people in the world suffering from osteoarthritis is expected to exceed 1 billion. In a number of European countries, radiosynoviorthesis is used as a treatment. It is based on irradiation of the joint synovium with intra-articular administration of various radiopharmaceuticals containing β-emitting radionuclides.

Aim. Development of a radiopharmaceutical composition for radiosynoviorthesis based on rhenium-188 and hyaluronic acid as a particle stabilizer.

Materials and methods Sodium perrhenate solution, ^{188}Re was obtained from a ^{188}W/^{188}Re generator "GREN-1" (JSC "SSC RF – IPPE", Russia). Eluate activity was measured on an ISOMED 2010 (PTW-Freiburg, Germany). Radiochemical purity was determined by thin-layer chromatography on thin-layer silica gel plates on aluminum substrate in acetone. The activity of chromatogram was measured on a Scan-RAM chromatogram scanner (LabLogic Systems Ltd., United Kingdom). pH was measured on S20 Seven Easy pH meter (METTLER TOLEDO, Switzerland). Particle size was determined by laser diffraction on an LA-350 device with a detection range of 0.1–1000 μm (HORIBA, Japan). Accumulation in the joint was determined on a Wizard 2480 gamma counter (PerkinElmer, USA) after intra-articular administration of the composition to mature conventional albino rats (females).

Results and discussion. The study included a comparison of the physic-chemical properties of the synthesized compositions with different volume activities, the optimal concentration of hyaluronic acid, and the methods for obtaining the radiopharmaceutical composition both from the liquid and freeze-dried reagents. The biological behavior of the radiopharmaceutical composition after intra-articular administration to mature conventional albino rats (females) were studied.

Conclusion. Radiopharmaceutical composition containing rhenium-188, tin dichloride and hyaluronic acid with a radiochemical purity of more than 95 % has been developed. The accumulation of the composition in the knee joint was more than 96 % 3 hours after intra-articular administration. This composition is of interest for further study as a radiopharmaceutical for radiosynoviorthesis.

Keywords: nuclear medicine, radiopharmaceuticals, rhenium-188, radionuclide generator, hyaluronic acid, radiosynoviorthesis, osteoarthritis, radiochemical purity

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Kirill V. Mayorov, Natalia D. Beloglazova – analysis of literature data. Anna O. Malysheva, Galina E. Kodina – significant contribution to the concept of the work, analysis and interpretation of the results. Anna O. Malysheva, Olga E. Klementyeva – planning the design of experiments, conducting them, processing the results obtained, developing the radiopharmaceutical composition. Natalia G. Sashova, Galina E. Kodina, Anna O. Malysheva, Olga E. Klementyeva participated in writing the text of the article. All authors took part in the discussion of the results.

Funding. The results of the work and the publication of the article were carried out with the financial support of LLC "BEBIG".

For citation: Mayorov K. V., Beloglazova N. D., Sashova N. G., Kodina G. E., Malysheva A. O., Klementyeva O. E. On the possibility of using hyaluronic acid in a composition with rhenium-188 for radiosynoviorthesis. *Drug development & registration*. 2025;14(2):28–36. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1966

ВВЕДЕНИЕ

Остеоартрит (ОА) продолжает оставаться самым часто встречающимся поражением суставов. По исследованиям за 2021 г. [1], проведенным Институтом измерения показателей и оценки состояния здоровья (IHME), прогнозируют, что к 2050 г. количество людей, заболевших остеоартритом, превысит 1 миллиард. Рост количества пациентов с ОА на 48 % отмечен с 2001 по 2005 г., согласно статистическим данным Минздрава России [2]. В Российских клинических рекомендациях ОА – это гетерогенная группа заболеваний различной этиологии. Принято считать, что нарушения первоначально происходят на молекулярном уровне и только потом – с образованием анатомических и функциональных изменений, таких как деградация хряща, костное ремоделирование, образование остеофитов, воспаление и т. д. [3]. В суставах кистей, стоп, а также в коленных и тазобедренных суставах такие поражения образуются чаще всего [4]. К стойкому выраженному нарушению функции сустава приводит прогрессирование ОА. Терапия с использованием внутрисуставного введения коллоидных растворов бета-излучающих радионуклидов известна более 70 лет и показана пациентам, страдающим различными заболеваниями суставов, как отмечено в Руководстве Европейской ассоциации ядерной медицины (EANM) по радиосиновиортезу [5].

Радионуклиды и препараты для радиосиновиортеза

В зависимости от размера сустава в рутинной клинической практике используют три радиоколлоида с различными физическими свойствами: [^{90}Y]иттрия цитрат только для лечения коленных суставов, [^{186}Re]рения сульфид для суставов среднего размера и [^{169}Er]эрбия цитрат для суставов малого размера (пястно-фаланговые, плюснефаланговые и межфаланговые). Эти препараты применяются в странах ЕС и некоторых других. Особенно интенсивно радиосиновиортез применяется в Германии (≈80 % европейского рынка) [5]. В течение многолетней истории применения радиосиновиортеза в оригинальной литературе и обзорах описано использование и других β^--излучающих радионуклидов, способных к образованию коллоидных растворов или суспензий, – ^{198}Au, ^{109}Pd, ^{165}Dy, ^{166}Ho, ^{177}Lu, ^{32}P, ^{188}Re, ^{153}Sm, ^{117}mSn [5–9] Ядерно-физические свойства этих радионуклидов, методы их получения, а также преимущества и недостатки препаратов на их основе подробно описаны в техническом докладе МАГАТЭ [10]. Для радионуклидной терапии рений-188 считают одним из наиболее перспективных изотопов. Энергия β^--излучения (2,12 МэВ) достаточна, чтобы проникнуть сквозь 5–10 мм утолщенной синовиальной оболочки, а период полураспада рения-188 составляет 16,9 ч. Это обеспечивает достижение ожидаемого терапевтического эффекта от воздействия радиофармацевтического препарата (РФП) с минимумом остаточных опасных эффектов. Также возможно сцинтиграфическое наблюдение за распределением активности в организме пациента благодаря гамма-излучению рения-188 (E_γ = 155 кэВ). ^{188}Re, образующийся при распаде материнского ^{188}W в колонке сорбционного генератора ^{188}W/^{188}Re, элюируют 0,9%-м раствором NaCl или получают в экстракционном генераторе путем экстракции ^{188}Re метилэтилкетоном с последующим упариванием экстракта и растворением осадка в 0,9%-м NaCl. В обоих вариантах ^{188}Re переходит в раствор в форме перрената натрия ($Na^{188}ReO_4$) [11].

Следует отметить, что в нашей стране техника радиосиновиортеза практически не применялась после первых исследований в начале 1990-х [6], не нашедших дальнейшего развития в течение двадцати последующих лет. Позднее, в рамках федеральной целевой программы (ФЦП) «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» («Фарма-2020»), практически параллельно были реализованы 2 проекта по доклиническим исследованиям инновационных РФП на основе ^{188}Re для радиосиновиортеза [8, 12–14]. В обоих случаях для изготовления РФП предложено использовать наборы лиофилизатов, состав которых представлен ниже в таблице 1.

Таблица 1. Основные характеристики препаратов для радиосиновиортеза на основе рения-188, разработанных в рамках ФЦП «Фарма-2020»

Table 1. Main characteristics of radiopharmaceuticals (RPh) for radiosynoviorthesis based on rhenium-188, developed within the framework of the Federal Target Program "Pharma-2020"

Проектное наименование препарата Project name of the radiopharmaceutical	Состав набора реагентов (лиофилизатов) Composition of the reagent kit (freeze-dried)			Источник Source of information
	Реагент № 1 Reagent No. 1	Реагент № 2 Reagent No. 2	Реагент № 3 Reagent No. 3	
«Синорен, ^{188}Re», набор для приготовления раствора для внутрисуставного введения "Synoren,^{188}Re", kit for solution preparation for intra-articular administration	$SnCl_2 \cdot 2H_2O$; полисорбат-80 $SnCl_2 \cdot 2H_2O$; polysorbate 80	Смесь фосфатов натрия и гидроксида натрия Mixture of sodium phosphates and sodium hydroxide	–	Патент РФ на изобретение № 2624237 [13] Patent RUS No. 2624237 [13]
Микросферы альбумина 5–10 мкм, набор для приготовления раствора для внутрисуставного введения «Артрорен-МРНЦ» Albumin microspheres 5–10 μm, kit for solution preparation for intra-articular administration «Arthroren-MRNC»	$SnCl_2 \cdot 2H_2O$; аскорбиновая кислота $SnCl_2 \cdot 2H_2O$; ascorbic acid	Микросферы альбумина, 5–10 мкм; полисорбат-80/твин-80 Albumin microspheres, 5–10 μm; polysorbate 80/Tween 80	K, Na виннокислый K,Na tartrate	Патент РФ на изобретение № 2698101 [14] Patent RUS No. 2624237 [14]

В 2022 г. начаты клинические исследования композиции «Артрорен-МРНЦ» [15] для терапии хронического синовита крупных суставов (коленные и локтевые; в настоящее время завершается вторая фаза). Достигнут терапевтический эффект: ликвидация/снижение воспалительной реакции.

Использование гиалуроновой кислоты для радиосиновиортеза

Применение гиалуроновой кислоты (ГлК) в составе различных лекарственных средств и/или медицинских изделий для терапии суставных заболеваний известно (например, [16]) и не является предметом настоящей статьи. Однако совмещение в составе РФП радионуклида и ГлК описано относительно недавно. В патенте [17] речь идет о коллоидной суспензии ГлК с изотопом ^{117m}Sn для лечения воспаления суставов. Долгосрочное облегчение симптомов и устранение воспалительной деструкции суставов связано с терапевтическим действием излучения ^{117m}Sn, а ГлК стабилизирует радионуклид в виде коллоида олова, который удерживается в суставе, предотвращая повреждение околосуставной ткани. Активность ^{117m}Sn варьирует в интервале 0,05–20 мКи в зависимости от размера сустава. ^{117m}Sn распадается с испусканием конверсионных электронов, которые имеют ограниченный пробег в тканях и не разрушают клетки костного мозга. К преимуществам радионуклида относится наличие в спектре излучения ^{117m}Sn гамма-квантов с удобной для регистрации энергией 159 кэВ (86 %). Основным препятствием использования ^{117m}Sn является его высокая стоимость, поскольку для его наработки требуются высокопоточные реакторы [18]. С точки зрения перспектив развития радиосиновиортеза препарат ^{188}Re представляется наиболее универсальным благодаря физическим характеристикам радионуклида, описанным выше. При получении препаратов ^{188}Re в реакции восстановления дихлоридом олова (II) в нейтральной среде и при отсутствии сильных хелаторов переходит в состояние гидролизованного восстановленного рения (IV), соосаждающегося с коллоидными частицами одновременно образующихся оксидов олова. А полисорбат-80/твин-80 или ГлК стабилизирует получаемую суспензию аналогично тому, что происходит при получении РФП с ^{117m}Sn.

Цель работы – изучение возможности замены стабилизатора частиц (полисорбата-80) в РФП «Синорен,^{188}Re» на гиалуроновую кислоту и разработка на этой основе новой радиофармацевтической композиции для радиосиновиортеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Раствор натрия перрената, ^{188}Re получали из генератора ^{188}W/^{188}Re «ГРЕН-1» (АО «ГНЦ РФ – ФЭИ», Россия) путем его элюирования 5 мл 0,9%-го раствора NaCl. В некоторых экспериментах для увеличения объемной активности проводили фракционное элюирование, отбрасывая первые 2 мл и используя только последующие 3 мл для приготовления препарата.

«ГлК,^{188}Re» изготавливали из трех компонентов: раствора реагента № 1 (позже был получен лиофилизат реагента № 1 после оптимизации состава), лиофилизата реагента № 2 и натрия перрената, ^{188}Re, получаемого из генератора ^{188}W/^{188}Re «ГРЕН-1». При этом

реагент № 1 содержал вместо полисорбата-80 определенные количества ГлК (Cat. N 51967, Sigma-Aldrich) и маннита (ТУ 6-09-5484-90), а состав реагента № 2 был полностью аналогичен применяемому для приготовления РФП «Синорен,^{188}Re» (таблица 1). Способы получения образцов, содержащих ГлК и ^{188}Re, описаны далее по тексту экспериментальной части.

Методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах с тонким слоем силикагеля на алюминиевой подложке (Cat. N 1.05553.0001, Merck) в ацетоне определяли радиохимическую чистоту (РХЧ) «ГлК,^{188}Re». На старте остается коллоид рения-188 ($R_f = 0{,}0 \pm 0{,}05$), а натрия перренат продвигается с фронтом растворителя ($R_f = 0{,}95 \pm 0{,}05$). Измерение активности участков хроматограммы проводили с использованием сканера хроматограмм Scan-RAM. Значение РХЧ (содержание ^{188}Re в суспензии коллоидных частиц) должно быть не менее 90 %.

Содержание $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ в реагенте № 1 контролировали спектрофотометрическим методом при длине волны 353 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм на спектрофотометре Helios Omeqa (Thermo Fisher Scientific, США).

Определение размера частиц в модельных растворах композиций проводили методом лазерной дифракции на приборе LA-350 с диапазоном определения 0,1–1000 фирмы Horiba.

Изучение биологического поведения препаратов проводили на половозрелых крысах-альбиносах. В коленный сустав (без патологии) вводили 0,2 мл изучаемых препаратов (6–8 МБк). Крысы были умерщвлены частичной декапитацией через 3 ч после внутрисуставной инъекции. Тушку животного до изъятия органов, а также пробы крови и мышечной ткани взвешивали. Для измерения активности были взяты: кровь (~0,5 мл), скелетная мышца (~1 г), сердце, легкие, почки, печень, желудок, селезенка, коленные суставы (в который был введен препарат и симметричный), наполненный мочевой пузырь. Радиометрия проб проведена с использованием автоматического гамма-счетчика Wizard 2480 (PerkinElmer, США). Время измерения пробы составляло 20 с по внутреннему протоколу измерения, коррекция и вычисление скорости счета (в СРМ = имп/мин) выполнялось с использованием программного обеспечения прибора. Долю РФП, аккумулированного в указанных органах, рассчитывали по формуле 1:

$$A_k = \frac{A_{\text{пробы}}}{A_{\text{эталон}}} \cdot 100\ \%, \qquad (1)$$

где $A_{\text{пробы}}$ – счет образца в импульсах/мин; $A_{\text{эталон}}$ – суммарная активность всех органов животного в импульсах/мин.

Суммарную активность органов определяли, суммируя значения счета (СРМ) от каждой пробы органов для каждого животного. Счет для всего объема циркулирующей крови и всей массы скелетных мышц вычисляли, принимая общепринятые справочные значения: массы всей циркулирующей крови – 7 %, массы всей мышечной ткани – 45 % от массы тела животных.

Данные аккумулированной активности рассчитаны на весь орган, так как только такой формат представления результатов позволяет оценить истинный характер биологического поведения радиофармацевтической композиции и объем ее «утечки» из места введения в масштабе целостного организма.

Все процедуры с экспериментальными животными выполнены согласно правилам Европейской конвенции по защите лабораторных животных, изложенной в директиве Европейского сообщества (86/609/EC) и Руководстве по лабораторным животным [19]. Исследование одобрено на заседании локального биоэтического комитета (протокол № 38 от 03.09.2020) ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им А. И. Бурназяна ФМБА России.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение степени восстановления ^{188}Re в зависимости от концентрации гиалуроновой кислоты и pH реакционной смеси

Роль ГлК при локальном введении РФП в сустав сводится к стабилизации коллоидных частиц определенного размера в препарате, а не к замене синовиальной жидкости. Поэтому концентрация ГлК в препарате должна быть значительно ниже тех, которые обычно применяют в качестве протеза синовиальной жидкости. В первую очередь на модельных растворах, в которых $Na^{188}ReO_4$ был заменен 0,9%-м раствором NaCl, была выбрана концентрация ГлК с молекулярной массой 2 000 000–2 200 000 Дальтон, достаточная для стабилизации суспензии образующихся частиц. На основе 0,1%-го и 0,2%-го растворов ГлК были приготовлены модельные растворы радиофармацевтической композиции, где раствор $Na^{188}ReO_4$ заменяли 0,8 мл 0,9%-го раствора NaCl для получения конечного объема препарата 1,0 мл. При использовании 0,1 мл 0,2%-го раствора ГлК образовывалась устойчивая и однородная суспензия с размером частиц 13,8 мкм (концентрация ГлК в препарате – 0,2 мг/мл или 0,02 %). Такая концентрация была выбрана для дальнейших экспериментов. Далее было проведено сравнение двух способов изготовления «ГлК,^{188}Re».

Способ № 1: во флакон, содержащий маннит, добавляли раствор $Na^{188}ReO_4$ и перемешивали до полного растворения маннита. Затем прибавляли 0,1 мл 0,2%-го раствора ГлК и 0,1 мл раствора $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ (200,0 мг/мл в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной). Полученную смесь перемешивали на шейкере и выдерживали при комнатной температуре 15 мин, 30 мин и 1 час. По истечении времени весь объем полученной смеси переносили во флакон с

лиофилизированным реагентом № 2, содержащий 8 мг натрия гидрофосфата додекагидрата, 1,9 мг натрия фосфата додекагидрата и 4,8 мг натрия гидроокиси. Содержимое флакона перемешивали на шейкере. Объем препарата – 1,0 мл.

Способ № 2: во флакон № 2 добавляли раствор $Na^{188}ReO_4$ и маннита. Смесь перемешивали до полного растворения лиофилизата. Далее добавляли 0,1 мл 0,2%-го раствора ГлК и 0,1 мл раствора $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ (200,0 мг/мл в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной). Полученную смесь перемешивали на шейкере и выдерживали при комнатной температуре необходимое время. Пробу для определения РХЧ отбирали через 15 мин, 30 мин и 1 час (таблица 2). Из таблицы 2 видно, что при использовании способа № 2 «ГлК,^{188}Re» всегда получались с низкими значениями РХЧ независимо от времени инкубирования. Это можно объяснить тем, что восстановление ^{188}Re преимущественно протекает в кислой среде. Поэтому для изготовления «ГлК,^{188}Re» в дальнейших экспериментах использовали способ № 1. При этом необходимо инкубирование реакционной смеси реагента № 1 и $Na^{188}ReO_4$ в течение 30–60 мин для достижения требуемого уровня РХЧ получаемого препарата. Выдерживание раствора смеси реагента № 1 и $Na^{188}ReO_4$ более 1 ч существенно не меняло значение РХЧ.

Определение радиохимической чистоты радиофармацевтических композиций «ГлК,^{188}Re», изготовленных из лиофилизированных реагентов

Ранее при разработке состава РФП «Синорен,^{188}Re» была найдена оптимальная концентрация $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ во флаконе № 1 – 20 мг/мл [10]. В настоящем исследовании установлено, что при снижении концентрации $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ восстановление ^{188}Re протекает плохо, значение РХЧ менее 65 %. Таким образом, было принято решение не менять содержание $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ в реагенте № 1. В результате был выбран следующий состав реагента № 1 во флаконе: $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ – 20,0 мг; гиалуроновая кислота – 0,2 мг; маннит – 10 мг.

Изучение возможности лиофилизации реагента № 1, содержащего ГлК, было проведено на установке Genesis 25L SQ EL. Радиофармацевтическую композицию «ГлК,^{188}Re» готовили как из лиофилизированных реагентов № 1, так и из жидкого реагента № 1 для сравнения. Для лиофилизации раствор реагента № 1 разделяли на 2 части в равных объемах. Затем одну часть раствора реагента до лиофилизации фильтровали через стерилизующий фильтр с размером пор 0,22 мкм, а другую часть оставляли нефильтрованной. Растворы реагентов фасовали во флаконы для лекарственных средств по 1 мл и помещали в предварительно охлажденную камеру лиофильной сушки (таблица 3).

По окончании процесса лиофилизации камеру лиофильной сушки заполняли аргоном, предварительно пропущенным через колонку с осушителем, укупоривали резиновыми пробками и завальцовывали алюминиевыми колпачками.

Радиофармацевтическую композицию «ГлК,^{188}Re» из лиофилизатов готовили следующим образом: во флакон с реагентом № 1 вводили 1,0 мл раствора $Na^{188}ReO_4$. Полученную радиоактивную суспензию перемешивали на шейкере в течение 10 с и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. Из флакона с реагентом № 1 отбирали все содержимое и вводили во флакон с реагентом № 2, перемеши-

Таблица 2. Результаты определения радиохимической чистоты (РХЧ) и pH «ГлК,^{188}Re» (*n* = 3)

Table 2. Results of determination of radiochemical purity (RCP) and pH of "GlK,^{188}Re" (*n* = 3)

Радиохимическая чистота, % Radiochemical purity, %	Способ № 1 (восстановление ^{188}Re при pH 2,0–2,5) Method № 1 (^{188}Re reduction at pH 2.0–2.5)	Способ № 2 (восстановление 188Re при pH 5,5) Method № 2 (^{188}Re reduction at pH 5.5)	pH готовой композиции pH of the finished composition	
			Способ № 1 Method № 1	Способ № 2 Method № 2
Время инкубирования 15 мин **Incubation time 15 min**				
РХЧ, % RCP, %	88,9 ± 0,4	35,5 ± 0,3	7,0	5,5
ReO_4^-, %	11,1 ± 0,4	64,5 ± 0,3		
Время инкубирования 30 мин **Incubation time 30 min**				
РХЧ, % RCP, %	91,0 ± 0,2	42,6 ± 0,4	7,0	5,5
ReO_4^-, %	9,0 ± 0,2	57,4 ± 0,4		
Время инкубирования 60 мин **Incubation time 60 min**				
РХЧ, % RCP, %	94,2 ± 0,1	43,1 ± 0,5	6,8	5,5
ReO_4^-, %	5,8 ± 0,1	56,9 ± 0,5		

Таблица 3. Режим лиофилизации реагента № 1

Table 3. Lyophilization mode of reagent No. 1

Шаг Move	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Температура, °С Temperature, °C	–35	–25	–20	–15	–10	0	+15	+25	+25
Время выдерживания Holding time	20 мин 20 min	2 ч 2 h	2 ч 2 h	4 ч 4 h	4 ч 4 h	4 ч 4 h	3 ч 3 h	1 ч 1 h	3 ч 3 h

Таблица 4. Результаты определения РХЧ, pH и размера частиц радиофармацевтических композиций «ГлК,^{188}Re», изготовленных из жидкого и лиофилизированного реагентов № 1 (n = 3)

Table 4. Results of determination of RCP, pH and particle size of radiopharmaceutical compositions "GlK,^{188}Re" prepared from liquid and freeze-dried reagents No. 1 (n = 3)

Реагент № 1 Reagent No. 1	**РХЧ, %** RCP, %	**pH реагента № 1** pH of reagent No. 1	**pH фармацевтической композиции** pH of radiopharmaceutical composition	**А, МБк/мл** A, MBq/ml	**Размер частиц, мкм** Particle size, μm
Жидкий Liquid	РХЧ 95,5 ± 0,2; ReO_4^- 4,5 ± 0,2 RCP 95.5 ± 0.2; ReO_4^- 4.5 ± 0.2	1,5	5,0	6,2	13,8 ± 1,1
Лиофилизат нефильтрованного раствора Lyophilisate of unfiltered solution	РХЧ 96,3 ± 0,4; ReO_4^- 3,7 ± 0,4 RCP 96.3 ± 0.4; ReO_4^- 3.7 ± 0.4	1,0	3,0	7,7	10,3 ± 1,3
Лиофилизат фильтрованного раствора Lyophilisate of filtered solution	РХЧ 96,0 ± 0,3; ReO_4^- 4,0 ± 0,3 RCP 96.0 ± 0.3; ReO_4^- 4.0 ± 0.3	1,0	3,0	7,7	9,8 ± 0,9

вали на шейкере в течение 10 с. Значения РХЧ всех композиций, полученных из жидкого и лиофилизированного реагентов № 1, составляли более 95 % (таблица 4).

Изучение биологического поведения радиофармацевтической композиции «ГлК,^{188}Re»

В таблице 5 представлены результаты распределения радиофармацевтической композиции «ГлК,^{188}Re» в сравнении с РФП «Синорен,^{188}Re» и РФП «Микросферы альбумина,^{188}Re» через 3 ч после их внутрисуставного введения. Существенных различий биологического поведения исследуемых композиций и известных РФП не установлено.

Накопление препаратов в коленном суставе через 3 ч после введения остается на уровне >90–95 %, что позволяет предположить перспективность применения композиции «ГлК,^{188}Re» для радионуклидной терапии ОА.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определена степень восстановления ^{188}Re в зависимости от концентрации ГлК, pH среды и времени реакции при выбранной концентрации ГлК. Показана возможность замены полисорбата-80 в составе реагента № 1 0,2%-м раствором гиалуроновой кислоты и получения реагента № 1 в виде лиофилизата. Радиофармацевтическая композиция, содержащая рений-188, дихлорид олова и гиалуроновую кислоту, может быть получена с РХЧ более 90 %. Накопление в коленном суставе лабораторных животных составляло более 96 % через 3 ч после внутрисуставного введения. Данная композиция представляет интерес для дальнейшего изучения в качестве радиофармацевтического лекарственного препарата для радиосиновиортеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gill T. K., Mittinty M. M., March L. M., et al. Global, regional, and national burden of other musculoskeletal disorders, 1990–2020, and projections to 2050: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet Rheumatology*. 2023;5(11):e670–e682. DOI: 10.1016/S2665-9913(23)00232-1.
2. Эрдес Ш. Ф., Фоломеева О. М. Ревматичесие заболевания и инвалидность взрослого населения Российской Федерации. *Научно-практическая ревматология*. 2007;45(4):4–9. DOI: 10.14412/1995-4484-2007-4-9.
3. Насонова Е. Л., ред. Российские клинические рекомендации. Ревматология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2017. 464 с.

Таблица 5. Распределение радиофармацевтических композиций «ГлК,188Re» в сравнении с РФП «Синорен,188Re» и РФП «Артрорен-МРНЦ» в организме крыс через 3 ч после их внутрисуставного введения (% от суммарной активности взятых органов)

Table 5. Distribution of the radiopharmaceuticals "GlK,188Re" in comparison with the RPh "Synoren,188Re" and the RPh "Arthroren-MRNC,188Re" in rats 3 h after their intra-articular administration (% of the total activity of the organs taken)

	«Синорен,^{188}Re» "Synoren,^{188}Re»	«Артрорен-МРНЦ» "Arthroren-MRNC,^{188}Re"	«ГлК,^{188}Re» из лиофилизата "GlK,^{188}Re" from freeze-dried reagent	«ГлК,^{188}Re» из жидкого реагента "GlK,^{188}Re" from liquid reagent
$C_{SnCl_2 \cdot 2H_2O}$, мг/мл $C_{SnCl_2 \cdot 2H_2O}$, mg/ml	20,0	5,0	20,0	20,0
$C_{глк}$, мг/мл C_{GlK}, mg/ml	–	–	0,2	0,2
pH	3,5	3,4	3,0	5,0
РХЧ, % RCP, %	>90	>95	96,0	95,5
Органы **Organs**	**Через 3 ч после введения, %** **3 h after administration, %**			
Кровь, мл Blood, ml	0,13 ± 0,05	0,14 ± 0,03	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Легкие Lungs	0,06 ± 0,03	0,08 ± 0,01	0,04 ± 0,03	0,04 ± 0,02
Печень Liver	0,69 ± 0,26	0,54 ± 0,14	0,23 ± 0,06	0,18 ± 0,02
Почки Kidneys	0,41 ± 0,22	0,49 ± 0,09	2,59 ± 0,69	1,72 ± 0,27
Селезенка Spleen	0,54 ± 0,23	0,42 ± 0,11	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Место введения (сустав) Place of injection (joint)	92,77 ± 3,64	95,52 ± 0,75	96,94 ± 0,81	97,52 ± 0,29

4. Cooper C., Dennison E., Edwards M. H. Epidemiology of ostheoarthritis. *Medicographia*. 2013;35(2):145–151.
5. Kampen W. U., Boddenberg-Pätzold B., Fischer M., Gabriel M., Klett R., Konijnenberg M., Kresnik E., Lellouche H., Paycha F., Terslev L., Turkmen C., van der Zant F., Antunovic L., Panagiotidis E., Gnanasegaran G., Kuwert T., van den Wyngaert T. The EANM guideline for radiosynoviorthesis. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2022;49:681–708. DOI: 10.1007/s00259-021-05541-7.
6. Дроздовский Б. Я., Иконников А. И., Крылов В. В. Радиосиновиортез в лечении больных ревматоидным артритом. *Медицинская радиология*. 1990;35(7):6–9.
7. Зверев А. В., Крылов В. В., Ханов А. Г., Кочетова Т. Ю. Радиосиновэктомия – метод лечения воспалительных заболеваний суставов с помощью изотопов. *Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение*. 2017;1(1):36–41.
8. Кодина Г. Е., Малышева А. О., Клементьева О. Е., Таратоненкова Н. А., Лямцева Е. А., Жукова М. В, Краснопёрова А. С. «Синорен,^{188}Re» – потенциальный радиофармацевтический лекарственный препарат для радиосиновэктомии. *Радиация и риск*. 2018;27(4):76–86. DOI: 10.21870/0131-3878-2018-27-4-76-86.
9. Shamim S. A., Arora G., Jha P., Gupta P., Behera A., Mukherjee A., Prabhu M., Ansari M. T., Vyas S., Bal C. Comparison of Lutetium-177 tin colloid and Rhenium-188 tin colloid radiosynovectomy in chronic knee arthritis. *Nuclear Medicine Communications*. 2020;41(8):721–726. DOI: 10.1097/MNM.0000000000001210.
10. Production, quality control and clinical applications of radiosynovectomy agents. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2021. 140 p.
11. Цивадзе А. Ю., Филянин А. Т., Романовский В. Н., Зыков М. П., Кодина Г. Е., Малышева А. О., Филянин О. А., Непомнящий О. Н. Экстракционный центробежный генератор ^{188}Re и радиофармпрепараты на его основе для радионуклидной терапии. *Радиохимия*. 2016;58(5):513–520.
12. Lunev A., Klement'eva O., Zverev A. Studying of radiation safety of ^{188}Re-labeled MAA preparation for treatment of resistant synovitis. Medical *Radiology and Radiation Safety*. 2020;65(6):38–46. DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-6-38-46.
13. Кодина Г. Е. Радиофармацевтическая композиция для радиосиновэктомии и способ ее получения. Патент РФ на изобретение № RU 2624237. 03.07.2017. Бюл. № 19. Доступно по: https://yandex.ru/patents/doc/RU2624237C1_20170703. Ссылка активна на 07.11.2024.
14. Зверев А. В., Дорватовский С. А., Петриев В. М., Скворцов В. Г., Каприн А. Д., Антонюк А. В., Ласковец Е. Ю. Ра-

диофармацевтическая композиция для терапии воспалительных заболеваний суставов на основе радионуклида ^{188}Re и микросфер альбумина крови человека, а также состав и способ ее получения. Патент РФ № RU 2698101. 22.08.2019 Бюл. № 24.

15. Степченкова Е. Д., Тищенко В. К., Власова О. П., Петриев В. М., Легкодимова Н. С., Крылов В. В., Федорова А. В., Кузенкова Е. А., Остроухов А. А., Шегай П. В. Распределение активности в крови и моче пациентов, получающих системную терапию радиофармпрепаратом с ^{177}Lu и локальную (внутрисуставную) терапию радиофармпрепаратом с ^{188}Re. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(4):404–414. DOI: 10.30895/1991-2919-2022-12-4-404-414.
16. Филатова Ю. С., Гауэрт В. Р. Гиалуроновая кислота при внутрисуставном введении: зависимость эффекта от молекулярной массы. *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2021;5(3):156–161. DOI: 10.32364/2587-6821-2021-5-3-156-161.
17. Gonzales G. R., Stevenson N. R. Hyaluronan sn-117m colloid for radiosynoviorthersis and symptomatic therapy related applications. United States patent US WO 2017/062420 A1. 13.04.2017. Available at: https://patents.google.com/patent/WO2017062420A1/en. Accessed: 07.11.2024.
18. Скуридин В. С. Фармацевтическая технология. Методы и технологии получения радиофармпрепаратов. М.: Издательство Юрайт; 2024. 139 с.
19. Белозерцевой И. В., Блинова Д. В., Красильщиковой М. С., ред. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. М.: ИРБИС; 2017. 336 с.

REFERENCES

1. Gill T. K., Mittinty M. M., March L. M., et al. Global, regional, and national burden of other musculoskeletal disorders, 1990–2020, and projections to 2050: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet Rheumatology*. 2023;5(11):e670–e682. DOI: 10.1016/S2665-9913(23)00232-1.
2. Erdes S. F., Folomeeva O. M. Rheumatic diseases and disability of Russian Federation adult population. *Rheumatology Science and Practice*. 2007;45(4):4–9. (In Russ.) DOI: 10.14412/1995-4484-2007-4-9.
3. Nasonova E. L., editor. Russian clinical guidelines. Rheumatology. Moscow: GEOTAR-Media; 2017. 464 p. (In Russ.)
4. Cooper C., Dennison E., Edwards M. H. Epidemiology of ostheoarthritis. *Medicographia*. 2013;35(2):145–151.
5. Kampen W. U., Boddenberg-Pätzold B., Fischer M., Gabriel M., Klett R., Konijnenberg M., Kresnik E., Lellouche H., Paycha F., Terslev L., Turkmen C., van der Zant F., Antunovic L., Panagiotidis E., Gnanasegaran G., Kuwert T., van den Wyngaert T. The EANM guideline for radiosynoviorthesis. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2022;49:681–708. DOI: 10.1007/s00259-021-05541-7.
6. Drozdovsky B. Ya., Ikonnikov A. I., Krylov V. V. Radiosynoviorthesis in the treatment of patients with rheumatoid arthritis. *Meditsinskaya radiologiya*. 1990;35(7):6–9. (In Russ.)
7. Zverev A. V., Krylov V. V., Khanov A. G., Kochetova T. Yu. Radiosynovectomy – a method of inflammatory joints diseases treatment with the use of isotopes. *RMJ. Medical Review*. 2017;1(1):36–41. (In Russ.)
8. Kodina G. E., Malysheva A. O., Klementyeva O. E., Taratonenkova N. A., Lyamtseva E. A., Zhukova M. V., Krasnoperova A. S. «Synoren,^{188}Re» – a promising radiopharmaceutical for radiosynovectomy. *Radiation and Risk*. 2018;27(4):76–86. (In Russ.) DOI: 10.21870/0131-3878-2018-27-4-76-86.
9. Shamim S. A., Arora G., Jha P., Gupta P., Behera A., Mukherjee A., Prabhu M., Ansari M. T., Vyas S., Bal C. Comparison of Lutetium-177 tin colloid and Rhenium-188 tin colloid radiosynovectomy in chronic knee arthritis. *Nuclear Medicine Communications*. 2020;41(8):721–726. DOI: 10.1097/MNM.0000000000001210.
10. Production, quality control and clinical applications of radiosynovectomy agents. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2021. 140 p.
11. Tsivadze A. Yu., Filyanin A. T., Romanovskii V. N., Zykov M. P., Kodina G. E., Malysheva A. O., Filyanin O. A., Nepomnyashchii O. N. Extraction centrifugal generator ^{188}Re and radiopharmaceuticals based on it for radionuclide therapy. *Radiokhimiya*. 2016;58(5):513–520. (In Russ.)
12. Lunev A., Klement'eva O., Zverev A. Studying of radiation safety of ^{188}Re-labeled MAA preparation for treatment of resistant synovitis. Medical *Radiology and Radiation Safety*. 2020;65(6):38–46. DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-6-38-46.
13. Kodina G. E. Radiopharmaceutical composition for radiosynovectomy and the method for its production. Patent RUS № RU 2624237. 03.07.2017. Byul. № 19. Available at: https://yandex.ru/patents/doc/RU2624237C1_20170703. Accessed: 07.11.2024. (In Russ.)
14. Zverev A. V., Dorvatovsky S. A., Petriev V. M., Skvortsov V. G., Kaprin A. D., Antonyuk A. V., Laskovets E. Yu. Radiopharmaceutical composition for the treatment of inflammatory joint diseases based on the radionuclide ^{188}Re and human blood albumin microspheres, as well as the composition and method for its production. Patent RUS № RU 2698101. 08.22.2019. Byul. № 24. (In Russ.)
15. Stepchenkova E. D., Tishchenko V. K., Vlasova O. P., Petriev V. M., Legkodimova N. S., Krylov V. V., Fedorova A. V., Kuzenkova E. A., Ostroukhoff A. A., Shegai P. V. Radioactivity distribution in the blood and urine of patients receiving systemic therapy with a ^{177}Lu radiopharmaceutical and local (intra-articular) therapy with a ^{188}Re radiopharmaceutical. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(4):404–414. (In Russ.) DOI: 10.30895/1991-2919-2022-12-4-404-414.
16. Filatova Yu. S., Gawert V. R. Intra-articular hyaluronic acid: dependence of the effect on molecular weight. *Russian Medical Inquiry*. 2021;5(3):156–161. (In Russ.) DOI: 10.32364/2587-6821-2021-5-3-156-161.
17. Gonzales G. R., Stevenson N. R. Hyaluronan sn-117m colloid for radiosynoviorthersis and symptomatic therapy related applications. United States patent US WO 2017/062420 A1. 13.04.2017. Available at: https://patents.google.com/patent/WO2017062420A1/en. Accessed: 07.11.2024.
18. Skuridin V. S. Pharmaceutical technology. Methods and technologies for obtaining radiopharmaceuticals. Moscow: Yurait; 2024. 139 p. (In Russ.)
19. Belozertseva I. V., Blinov D. V., Krasilshchikova M. S., editors. Guide to the Care and Use of Laboratory Animals. Moscow: IRBIS; 2017. 336 p. (In Russ.)