

UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DE SANTE
DEPARTEMENT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2023

THESE 2023/TOU3/2076

THESE D'EXERCICE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

PHASE D'APPROFONDISSEMENT

Interne en PHARMACIE HOSPITALIERE

Présentée et soutenue publiquement
par

Côme FRUIT

**Validation d'une méthode de préparation d'un médicament
radiopharmaceutique innovant : le [⁶⁸Ga]-Pentixafor**

Le 02 Octobre 2023 à Toulouse

Directeur de thèse : Dr Frédéric DEBORDEAUX

JURY

Président : Pr Philippe CESTAC
1er assesseur : Dr Frédéric DEBORDEAUX
2ème assesseur : Dr Isabelle QUELVEN-BERTIN
3ème assesseur : Dr Florent PUISSET
4^{ème} assesseur : Pr Pierre PAYOUX

PERSONNEL ENSEIGNANT
du Département des Sciences Pharmaceutiques
de la Faculté de santé
au 08 mars 2023

Professeurs Emérites

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B. (Directrice-adjointe)	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BERNARDES-GENISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COSTE A.	Parasitologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Doyen-directeur)	Physiologie
Mme DERA EVE C.	Chimie Thérapeutique
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAUTMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
Mme WHITE-KONING M.	Mathématiques

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
Mme KELLER L.	Biochimie
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S.	Biophysique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C. (*)	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie Analytique
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C. (*)	Immunologie
Mme ECHINARD-DOUIN V. (*)	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme GADEA A.	Pharmacognosie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C. (*)	Pharmacognosie
M. LE NAOUR A.	Toxicologie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S	Biochimie
M. PILLOUX L.	Microbiologie
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

M. AL SAATI A	Biochimie
Mme BAKLOUTI S.	Pharmacologie
Mme CLARAZ P.	Pharmacie Clinique
Mme CHAGNEAU C.	Microbiologie
Mme DINTILHAC A.	Droit Pharmaceutique
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
Mme RIGOLOT L.	Biologie Cellulaire, Immunologie
Mme STRUMIA M.	Pharmacie Clinique

Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Mme HAMZA Eya	Biochimie
Mme MALLI Sophia	Pharmacie Galénique
M. TABTI Redouane	Chimie Thérapeutique

Remerciements :

Au Pr Philippe Cestac, merci d'avoir accepté de présider cette soutenance. Merci d'avoir toujours su donner de ton temps pour l'enseignement, et de l'intérêt pour le devenir des étudiants en pharmacie.

Au Dr Frédéric Debordeaux, merci de m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse. Tu m'as accueilli à Bordeaux et fait découvrir de nombreux aspects de la radiopharmacie. Pour cela, je resterai toujours ton « padawan ».

Au Dr Isabelle Quelven, merci d'avoir accepté de juger ce travail. Merci pour ton encadrement lors de mon premier stage à Rangueil, ta bienveillance, et pour m'avoir permis d'intégrer la filière radiopharmacie.

Au Dr Florent Puisset, depuis tes premiers cours à la faculté, tu représentes pour moi un modèle de ce que doit être un pharmacien hospitalier. Pour tes enseignements, tes conseils en cyclisme, et pour me faire l'honneur de juger ce travail, je te remercie chaleureusement. « La médecine est un art ! »

Au Pr Pierre Payoux, merci de me faire l'honneur de juger de ce travail. J'ai hâte d'intégrer votre service et de travailler à vos côtés lors de mon année de Dr Junior.

A l'équipe de la radiopharmacie Toulousaine. A Marie, pour m'avoir donné l'envie de poursuivre dans cette filière si particulière. A Mathieu, merci de m'avoir intégré dans cette grande famille. Derrières toutes les blagues, j'ai un profond respect pour toi. A Anne-Sophie, j'ai hâte de travailler à tes côtés pour profiter de tes connaissances et de ton exemplarité. A toutes les préparatrices et préparateurs, vous m'avez énormément appris !

A la Radiopharmacie et au service de médecine nucléaire du CHU de Haut-Lévêque, merci d'avoir accueilli un étranger. Certains Toulousains me reprochent déjà de donner un peu trop de place à Bordeaux dans mon cœur.

A la team UPCO, internes, préparatrices, pharmaciens, merci pour ce semestre. Sandrine et Paupau, merci d'avoir eu la patience nécessaire pour endurer toutes nos boulettes. Vous avez rendu ce semestre plus joyeux ! A Rico, j'espère que tu reviendras à Toulouse, tu as une revanche à prendre à Nailloux. Chloé, merci de me suivre dans tous ces délires sans jamais te poser de questions ! A l'image de notre amitié, tu soutiens ta thèse juste un jour après moi...

Aux internes de Lavoisier, je ne sais pas si ma « prime de responsabilité » était mérité, mais j'ai passé un super semestre à vos côtés. Zoubeir, merci d'avoir partagé ton savoir. Camille, merci pour ta bienveillance, et tout ce que tu nous as appris.

A mes parents, merci pour tout.

A mes frères et sœurs, Ronan et Delphine, pour votre joie de vivre, et les beaux moments que vous m'avez fait vivre. Inès et Antoine, votre aventure est une véritable inspiration, et j'espère avoir le courage de marcher dans vos pas.

A mes grands-parents, j'espère vous rendre fiers.

A tous les amis de la faculté de Pharmacie. Sami, Rémi, Paul, les premiers et ceux qui resteront pour toujours. Sami, à tout le temps perdu passé à ne rien faire, mais dont je me souviendrai toute ma vie. A Paul, merci pour ta joie de vivre. Je pense être le seul à reconnaître le sportif incompris en toi. A Rémi, le fraté, te voilà maintenant pharmacien titulaire ! Je suis fier de ce que tu as accompli. A Anaëlle, ma « sœur » (désolé Lolo), je me souviendrai toujours des quelques souvenirs qu'il me reste de notre baptême. A Marion, merci d'avoir partagé ton amour de la montagne (et du pâté au sanglier) ! Ton hospitalité est un modèle.

A Laura, mon amour, ces 7 années sont passées si vite. Je ne te remercierai jamais assez pour tous ces moments vécus ensemble. Il nous reste tellement à vivre, et la fin de l'internat va marquer le début d'une nouvelle aventure. J'ai hâte de la vivre à tes côtés.

Table des matières

I.	La TEP et les médicaments radiopharmaceutiques en oncologie	11
1)	La Tomographie par émission de positons et les médicaments radiopharmaceutiques utilisés en oncologie	11
a.	Médecine nucléaire, radiopharmacie et tomographie par émission de positons	11
b.	Les radionucléides et médicaments radiopharmaceutiques utilisés en imagerie TEP en oncologie	14
2)	Le développement des médicaments radiopharmaceutiques marqués au Gallium-68	21
a.	Propriétés physico chimiques et production du Gallium-68.....	21
b.	Principes du radiomarquage au Gallium-68.....	24
c.	Exemple de médicaments radiopharmaceutiques marqués au Gallium-68.....	30
3)	Le concept de théragnostique	33
a.	Définition et généralités	33
b.	La radiothérapie interne vectorisée	34
c.	Le concept de couple théragnostique	37
d.	Etat des lieux et perspectives.....	38
4)	Une cible innovante en médecine nucléaire : le récepteur CXCR4.....	41
a.	Le récepteur CXCR4	41
b.	Développement d'un médicament pour l'imagerie des récepteurs CXCR4	42
c.	Le [⁶⁸ Ga]-Pentixafor en imagerie des tumeurs solides et cancers hématologiques.....	44
d.	Radiothérapie interne vectorisée des récepteurs CXCR4 : ¹⁷⁷ Lu et ⁹⁰ Y.....	46
II.	Synthèse d'un médicament radiopharmaceutique expérimental dans le cadre d'un essai clinique : exemple de l'essai Penti-MIDAS	50
1)	La législation des Essais Cliniques et des médicaments radiopharmaceutiques	50
a.	La recherche médicale en France.....	50
b.	La recherche portant sur les médicaments expérimentaux	52
c.	Les autorisations et la mise en place d'un essai clinique portant sur un médicament expérimental radiopharmaceutique	54
2)	Contenu du dossier de médicament expérimental.....	57
a.	Partie I du DME : qualité pharmaceutique	57
b.	Partie 2 du DME : données non cliniques	58
c.	Partie 3 du DME : données cliniques.....	59
3)	L'essai clinique Penti-MIDAS.....	59
III.	Préparation du [⁶⁸ Ga]-Pentixafor à la radiopharmacie du CHU de Bordeaux	62
1)	Processus de préparation et matériels et réactifs utilisés.....	62

a.	Le radiomarquage du Pentixafor.....	62
b.	Matériels et réactifs utilisés.....	67
2)	Contrôles qualité du [⁶⁸ Ga]-Pentixafor.....	68
a.	Caractères organoleptiques.....	68
b.	Pureté radiochimique et identification du produit fini.....	68
c.	Identification du radionucléide.....	70
d.	Détermination du pH.....	71
e.	Stérilité et recherche d'endotoxines.....	71
f.	Teneur en éthanol.....	71
3)	Validation des méthodes de contrôle qualité du [⁶⁸ Ga]-Pentixafor.....	72
a.	Validation de la méthode HPLC.....	72
b.	Validation de la méthode CCM.....	76
4)	Synthèse des 3 lots de validation au CHU de Bordeaux.....	78
5)	Etude de stabilité du [⁶⁸ Ga]-Pentixafor.....	80
6)	Préparation du [⁶⁸ Ga]-Pentixafor grâce à une trousse de radiomarquage : l'essai FORPAN	83
a.	Préparation du [⁶⁸ Ga]-Pentixafor dans le cadre de l'essai FORPAN.....	84
b.	Contrôles qualité et libération du [⁶⁸ Ga]-Pentixafor dans le cadre de l'essai FORPAN.....	85
c.	Validation de la méthode de préparation du [⁶⁸ Ga]-Pentixafor à l'aide d'un kit de radiomarquage.....	85
IV.	Discussion :	87
1)	Aspects médico-économiques :	87
2)	Conditions de marquage et pré-purification.....	88
3)	Radiosynthèse du [⁶⁸ Ga]-Pentixafor : module de synthèse, précurseur chimique, trousse ou cassette ?.....	91
4)	Perspective d'utilisation du Pentixafor et radiothérapie interne vectorisée.....	95

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Liste et caractéristiques des principaux radionucléides utilisés en TEP	16
Tableau 2 : Représentation des agents de chélation cycliques du ⁶⁸ Ga les plus utilisés	27
Tableau 3 : Représentation des agents de chélation non cycliques du ⁶⁸ Ga les plus utilisés.....	28
Tableau 4 : Principales paires théragnostiques utilisées en recherche ou en routine clinique	38
Tableau 5 : Radionucléide, activité injectée et données de survie pour les 8 patients traités	49
Tableau 6 : Comparaison des deux générateurs de ⁶⁸ Ga ayant une AMM en France	67
Tableau 7 : Gradient de solvant de la séquence HPLC utilisée.....	69
Tableau 8 : Contrôles qualités effectués après chaque synthèse. Les astérisques indiquent le caractère libératoire du contrôle qualité.....	72
Tableau 9 : Méthode, spécification et résultats de la validation de la méthode CCM.....	77
Tableau 10 : Etude de stabilité du [⁶⁸ Ga]-Pentixafor à H+1 et H+2 après la synthèse.....	81
Tableau 11 : Calcul des rendements de radiomarquage des 3 lots de validation du [⁶⁸ Ga]-Pentixafor	82
Tableau 12 : Résultats des trois synthèses selon le procédé de l'essai FORPAN	86

Liste des Figures :

Figure 1 : Principe physique de la TEP	13
Figure 2 : Voie métabolique du [¹⁸ F]-FDG	17
Figure 3 : Exemple de TEP au [¹⁸ F]-FDG chez un patient atteint d'un lymphome non hodgkinien, avant (A) et après traitement (B). L'accumulation physiologique du MRP est visible au niveau de la vessie, du cœur et du cerveau.....	18
Figure 4 : Schéma de désintégration du ⁶⁸ Ga.....	22
Figure 5 : Schéma d'élution d'un générateur de ⁶⁸ Ge/ ⁶⁸ Ga	23
Figure 6 : Radiomarquage par utilisation d'un chélateur bifonctionnel	25
Figure 7 : Comparaison d'une scintigraphie au ¹¹¹ In-pentétréotide (d) et d'un TEP-TDM (a et c) au ⁶⁸ Ga-DOTATOC chez une patiente atteinte de TNE	30
Figure 8 : Nombre de publications ayant le mot theranostic ou theragnostic dans le titre ou résumé de 2003 à 2021 (extraction faite sur PubMed le 03/08/2022).....	34
Figure 9 : Schéma de désintégration de l'Actinium 225	35
Figure 10 : Radiobiologie des rayonnements ionisants	35
Figure 11 : Schéma représentant les cellules tumorales concernées par l'effet crossfire (CF), bystander (RIBE) et abscopal (AbsE). Les points rouges représentent les radionucléides, les cercles gris les cellules tumorales.	37
Figure 12 : Données de survie sans progression et survie globale issues de l'essai de phase III NETTER 1.....	39
Figure 13 : Structure chimique du Pentixafor	44
Figure 14 : Structure chimique du Pentixather comparée à celle du pentixafor	47
Figure 15 : Obtention d'une réponse métabolique complète chez le patient 3, 2 semaines après traitement par 1 injection de [⁹⁰ Y]-Pentixather.....	48
Figure 16 : Démarches règlementaires selon la catégorie de recherche impliquant la personne humaine	52
Figure 17 : Déroulement d'une demande d'autorisation d'essai clinique en France d'après le nouveau règlement européen.....	56
Figure 18 : Déroulement de l'essai Penti-MIDAS.....	61

Figure 19 : Schéma des étapes de synthèse du [⁶⁸ Ga]-Pentixafor.....	65
Figure 20 : Exemple de courbe de température et de pression obtenues lors d'une synthèse de [⁶⁸ Ga]-Pentixafor	66
Figure 21 : Critères de validation d'une méthode analytique adaptée aux médicaments radiopharmaceutiques.....	73
Figure 22 : Exemple de radiochromatogramme obtenu avec une solution de [⁶⁸ Ga]-Pentixafor.....	74
Figure 23 : Droite de régression obtenue sur la gamme d'activité spécifique croissante d'une solution de chlorure de ⁶⁸ Ga.....	75
Figure 24 : Linéarité du détecteur UV de l'HPLC	76
Figure 25 : Droite de régression obtenue avec les mesures successives des échantillons B1, B2, B3, B4	77
Figure 26 : Exemple de CCM obtenue sur un échantillon de [⁶⁸ Ga]-Pentixafor (Rf>0,7).....	78
Figure 27 : CCM effectués à H0, H+1 et H+2 sur un lot de [⁶⁸ Ga]-Pentixafor.....	80
Figure 28 : Variation du temps de réaction et rendement en fonction de la température de réaction	91
Figure 29 : différence de protocole de radiomarquage de la trousse SOMAKIT® en fonction du générateur utilisé.....	93
Figure 30 : Essais cliniques en cours en oncologie solide utilisant le [⁶⁸ Ga]-Pentixafor	95
Figure 31 : Essais cliniques en cours en hématologie utilisant le [⁶⁸ Ga]-Pentixafor	96
Figure 32 : Essais cliniques en cours utilisant le [⁶⁸ Ga]-Pentixafor hors oncologie	96

Liste des abréviations :

AMM : Autorisation de mise sur le marché

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

ASMR : Amélioration du service médical rendu

ASN : Autorité de sûreté nucléaire

BPP : Bonnes pratiques de préparation

CCM : Chromatographie sur couche mince

CCPPRB :

CHU : Centre hospitalier universitaire

CPP : Comité de protection des personnes

CSP : Code de la santé publique

DME : Dossier du médicament expérimental

EMA : European medicines agency

HAS : Haute autorité de santé

HPLC : Chromatographie liquide haute performance

ICH : International Council for Harmonisation

IRM : Imagerie par résonance magnétique

MRP : Médicament radiopharmaceutique

PRC : Pureté radiochimique

PSRP : Produit de santé radiopharmaceutique

PUI : Pharmacie à usage intérieur

RCP : Résumé des caractéristiques du produit

RIPH : Recherche impliquant la personne humaine

RIV : Radiothérapie interne vectorisée

SMR : Service médical rendu

TDM : Tomodensitométrie

TEMP : Tomographie par émission monophotonique

TEP : Tomographie à émission de positons

TNE : Tumeur neuro-endocrine

INTRODUCTION :

La médecine nucléaire a progressivement vu son implication évoluer dans le domaine de l'oncologie au cours de ces 20 dernières années. La tomographie par émission de positons (TEP) peut en effet permettre le diagnostic, apporter une information pronostique et participer au suivi de nombreuses pathologies cancéreuses.

Les médicaments radiopharmaceutiques (MRP), indispensables à l'activité de médecine nucléaire, sont préparés et dispensés au sein d'une radiopharmacie, rattachée à la Pharmacie à Usage Intérieure (PUI), et sous l'autorité d'un radiopharmacien. La nature des MRP, et notamment des radionucléides utilisés, a également évolué. Si le Fluor-18 (^{18}F) reste le radionucléide le plus utilisé à ce jour en imagerie TEP, le radiomarquage au Gallium-68 (^{68}Ga) connaît un développement exponentiel grâce aux nombreux avantages qu'il présente.

L'innovation croissante en médecine nucléaire implique donc le développement de MRP expérimentaux. L'utilisation de ces MRP innovants n'est rendue possible qu'après la rédaction et la validation par l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) d'un dossier du médicament expérimental (DME). Ce dossier, en plus de contenir des informations générales sur le médicament, contient un rapport sur la préparation de 3 lots de validation. La description du procédé utilisé et les résultats des contrôles qualité doivent ainsi démontrer la capacité de préparer le médicament expérimental selon les bonnes pratiques, avant une administration à un patient.

Parmi les nouvelles cibles d'intérêt en oncologie, le récepteur CXCR4, surexprimé par de nombreux type de cancers, solides et hématologiques, semble être un candidat prometteur. Le [^{68}Ga]-Pentixafor est à ce jour le MRP ciblant CXCR4 qui fait l'objet du développement le plus abouti. L'essai Penti-MIDAS a pour but d'évaluer l'intérêt du [^{68}Ga]-Pentixafor dans le diagnostic et le suivi du myélome multiple. Dans le cadre de la participation du CHU de Bordeaux à cet essai clinique, la radiopharmacie de l'Hôpital Haut-Lévêque a procédé au développement du radiomarquage et aux validations de méthodes analytiques du [^{68}Ga]-Pentixafor. Puis, 3 lots de validations ont été préparés afin d'entériner le procédé utilisé. Cette thèse d'exercice a donc pour but de présenter le travail effectué. Ce travail représente donc un exemple de la procédure à laquelle les radiopharmacies doivent se soumettre afin d'obtenir la validation et la reconnaissance de l'ANSM dans le cadre de la préparation d'un médicament radiopharmaceutique expérimental.

I. La TEP et les médicaments radiopharmaceutiques en oncologie

1) La Tomographie par émission de positons et les médicaments radiopharmaceutiques utilisés en oncologie

a. Médecine nucléaire, radiopharmacie et tomographie par émission de positons

La médecine nucléaire est une spécialité médicale définie dans le code de la santé publique (CSP) par l'article R6122-25 comme « consistant en l'utilisation, dans un but diagnostique ou thérapeutique, d'un médicament radiopharmaceutique ou d'un dispositif médical implantable actif, en sources non scellées, émetteur de rayonnements ionisants, administré au patient, incluant l'utilisation d'une caméra à tomographie d'émission mono photonique ou à tomographie par émission de positons et intégrant, le cas échéant, d'autres systèmes d'imagerie ». (1)

Comme le montre cette définition issue du code de la santé publique, le médicament radiopharmaceutique (MRP) est au centre de l'activité de médecine nucléaire. Les MRP sont également définis dans le CSP, comme des médicaments contenant un ou plusieurs radionucléides et pouvant être utilisés à des fins diagnostiques et/ou thérapeutiques.

Après administration au patient, le MRP est distribué dans l'organisme en fonction de ses caractéristiques physico-chimiques et pharmacocinétiques. Contrairement à la plupart des médicaments, il est administré dans des quantités très faibles, en général de l'ordre du nanomolaire, ce qui ne provoque en principe aucun effet pharmacodynamique. C'est la distribution du MRP, sa fixation à des récepteurs particuliers ou son intégration dans des voies métaboliques, puis sa détection grâce aux rayonnements émis, qui permettront de produire des informations sur un éventuel état pathologique. Dans le cas de la thérapie, l'effet est obtenu grâce à l'énergie déposée dans les tissus par les rayonnements.

Il existe deux grandes familles de MRP, ceux dit prêts à l'emploi, et les préparations radiopharmaceutiques. Les MRP prêts à l'emploi sont produits et livrés par un établissement pharmaceutique, prêts pour une utilisation directe. Les préparations radiopharmaceutiques sont quant à elles réalisées dans une radiopharmacie à l'aide de trousse, précurseur ou générateur, disposant d'une AMM (autorisation de mise sur le marché), et sous l'autorité d'un

radiopharmacien. La radiopharmacie est une activité de pharmacie hospitalière relative aux produits de santé radiopharmaceutiques (PSRP) à destination exclusive des services de médecine nucléaire. Les locaux de l'unité de radiopharmacie font partie intégrante de la PUI. Néanmoins, ils sont implantés à proximité immédiate du service de médecine nucléaire afin d'optimiser le circuit du MRP. Le radiopharmacien est responsable de la gestion, de l'approvisionnement, de la détention, de la préparation, du contrôle qualité et de la dispensation du MRP. (2) Il dispose d'une délégation de l'activité de radiopharmacie octroyée par le pharmacien gérant de la PUI. Il est le seul à pouvoir libérer un lot de MRP. L'activité de Radiopharmacie est régie, entre autres, par les Bonnes pratiques de préparation (BPP). Les MRP sont pour la quasi-totalité des médicaments injectables et stériles. A ces caractéristiques s'ajoute la radioactivité, inhérente à la définition du MRP. C'est pourquoi la préparation et la dispensation des MRP sont considérées comme des activités à risque.

La Tomographie par émission de positons est une technique d'imagerie nucléaire par transmission, fonctionnelle et quantitative. Elle permet de suivre la distribution tridimensionnelle d'un radionucléide émetteur de positons, seul ou couplé à une molécule vectrice.

Le concept de TEP a commencé à émerger dans les années 1960, mais il faut attendre le début des années 1970 pour voir apparaître la première véritable caméra TEP. Depuis, le développement de cette technologie ne cesse de continuer.

Le principe de l'imagerie TEP repose sur l'utilisation de radionucléides émetteurs de positons. Le positon (noté β^+) est une particule issue d'une désintégration radioactive. Après avoir effectué un certain parcours dans la matière, celui-ci s'annihile avec un électron, ce qui conduit à l'émission en coïncidence de deux photons gamma de 511 keV. La caméra, grâce à une couronne de détecteurs constitués d'un cristal scintillant et d'un photomultiplicateur, permet de détecter la position de l'annihilation (Figure 1). La caméra accepte la coïncidence si les deux photos interagissent avec le cristal scintillant au même moment (avec une tolérance

de l'ordre de quelques nanosecondes), et si leur énergie est proche de 511 keV. Grâce à un algorithme, la détection du lieu d'annihilation permet ensuite de reconstituer une image.

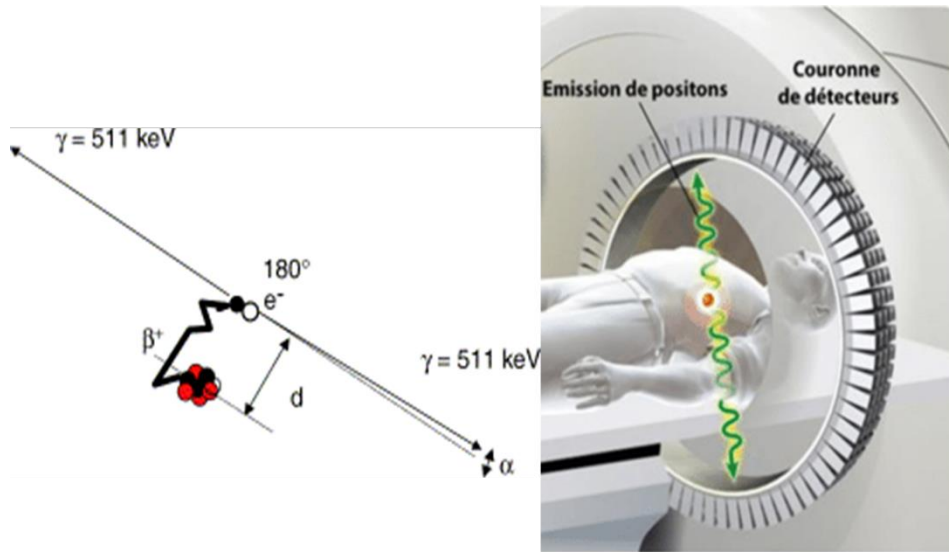


Figure 1 : Principe physique de la TEP

Aujourd'hui, la grande majorité des caméras TEP est couplée à une tomodensitométrie (TDM). L'imagerie multimodale TEP/TDM associe donc l'imagerie fonctionnelle par TEP à l'imagerie anatomique par TDM. Une nouvelle génération d'imagerie multimodale TEP/IRM voit également le jour depuis quelques années, sa place en routine clinique restant à déterminer.

La TEP est par définition un examen irradiant pour le patient. La dosimétrie dépend de nombreux facteurs, notamment du radionucléide utilisé et de l'activité injectée. La dose corps entier reçue par un patient est variable, en fonction du radionucléide utilisé, de l'activité injectée, de la pharmacocinétique du MRP et de l'irradiation liée au scanner.

Les examens d'imageries irradiants doivent répondre à deux grands principes de radioprotection que sont la justification et l'optimisation. Tout acte médical entraînant une irradiation du patient doit être justifié par le bénéfice apporté (diagnostique ou thérapeutique), par rapport au risque encouru du fait de l'irradiation. De plus, le niveau d'exposition doit être maintenu le plus bas possible, on parle de principe ALARA pour « As Low As reasonably Achievable ».

La TEP est progressivement devenue un examen de référence en oncologie dans la prise en charge et le suivi de nombreuses pathologies. Le dynamisme de la recherche dans ce domaine ouvre la voie à l'utilisation de nombreux nouveaux médicaments radiopharmaceutiques et de nouvelles indications dans les années futures.

b. Les radionucléides et médicaments radiopharmaceutiques utilisés en imagerie TEP en oncologie

i. Les radionucléides en TEP

Les radionucléides utilisables en TEP doivent répondre à un certain nombre de critères. Comme énoncé précédemment, la TEP nécessite l'usage de radionucléides émetteurs β^+ . Le parcours de la particule β^+ (appelé libre parcours moyen) dépend directement de son énergie. Plus celle-ci est importante, plus le libre parcours sera grand. Etant donné que la caméra TEP localise le lieu d'annihilation et non le lieu de désintégration, un libre parcours trop important entraînera une diminution de la résolution. De plus, plus la particule est énergétique, plus la dose efficace reçue par le patient et l'opérateur sera importante. C'est pourquoi l'énergie $E_{\beta\max}$ de la particule β^+ est un facteur majeur à prendre en compte dans le choix de l'isotope.

La demi-vie du radionucléide doit être compatible avec sa préparation, son transport et son utilisation en médecine nucléaire (diagnostic ou thérapie). Elle doit être assez longue pour permettre la distribution du médicament dans l'organisme et permettre la réalisation de l'examen. Cependant, plus elle sera longue, plus le patient et son environnement seront exposés. De manière générale, la demi-vie recherchée en imagerie TEP est de l'ordre de l'heure.

L'intensité d'émission doit également être prise en compte. En effet, peu d'isotopes sont émetteurs β^+ à 100%. Par exemple, si la désintégration produit également un rayonnement gamma avec une énergie proche de 511 keV, les détecteurs TEP pourront l'interpréter comme une coïncidence, et la qualité de l'image s'en trouvera modifiée. De plus, la dosimétrie du patient dépend également des intensités d'émissions et des rayonnements émis par la désintégration du noyau père.

La filiation radioactive de l'isotope doit également être prise en compte. Le noyau fils doit être si possible stable, et non toxique aux quantités formées. S'il est radioactif, les particules ou rayonnements émis doivent être pris en compte pour l'imagerie et la dosimétrie. L'élément fils doit si possible rentrer le moins possible en compétition avec l'isotope d'intérêt pour faciliter le radiomarquage de molécules.

Les caractéristiques physico-chimiques du radionucléide définiront également sa biodisponibilité et sa pharmacocinétique s'il est utilisé seul, ou les conditions de radiomarquage s'il est couplé à un vecteur.

On peut distinguer deux grandes familles chimiques de radionucléides utilisés en médecine nucléaire. Les métaux (Cuivre, Gallium, Technetium, Rubidium), dits « accepteurs d'électrons » répondent aux lois de la chimie de complexation, alors que les halogènes (Fluor, Iode), dits « donneurs d'électron » répondent à une chimie covalente en faisant intervenir des réactions de substitution.

Le Carbone, l'Oxygène et l'Azote sont les trois éléments chimiques de base de la chimie du vivant. Cependant, leur demi-vie courte et leur moyen de production par un cyclotron rendent leur utilisation délicate, c'est pourquoi ils sont principalement utilisés en recherche. Le Fluor-18, de par ses propriétés, est aujourd'hui le radionucléide le plus utilisé en TEP, avec derrière lui le Gallium-68, de plus en plus utilisé en Oncologie.

Le tableau 1 récapitule les principaux radionucléides utilisés en TEP, avec leurs différentes caractéristiques.

Tableau 1 : Liste et caractéristiques des principaux radionucléides utilisés en TEP

Isotope	Intensité d'émission β^+ (%)	E β_{\max} (keV)	Parcours moyen (eau en mm)	Demi-vie	Noyau fils	Production
Fluor 18	97	630	2.4	110 min	Oxygène 18	Cyclotron
Cuivre 64	19	650		12.7 h	Zinc 64	Cyclotron
Carbone 11	99.9	960	4.1	20,4 min	Bore 11	Cyclotron
Azote 13	100	1200	5.1	9.96 min	Carbone 13	Cyclotron
Oxygène 15	100	1740	7.3	123 sec	Azote 15	Cyclotron
Gallium 68	88	1830	8.2	68.3 min	Zinc 68	Cyclotron Générateur
Rubidium 82	95.5	3400		78 sec	Krypton 82	Cyclotron Générateur
Zirconium 89	22	990		3,27 jours	Yttrium 89	Cyclotron
Iode 124	25	2130		4.2 jours	Tellurium 124	Cyclotron

ii. Les Médicaments radiopharmaceutiques fluorés utilisés en oncologie

Les MRP fluorés ont été les premiers à être utilisés en routine en imagerie TEP. Plusieurs de ces médicaments bénéficient aujourd'hui d'une Autorisation de mise sur le marché dans le cadre de l'imagerie en oncologie. D'autres sont en développement et actuellement utilisés dans le cadre d'essais cliniques.

Le 2-[18]fluoro-2-désoxy-D-glucose ($[^{18}\text{F}]$ -FDG) est le premier à avoir obtenu une AMM en 1998 (laboratoire Cis Bio International). Il s'agit d'un analogue structural fluoré du glucose. Le $[^{18}\text{F}]$ -FDG rentre dans les cellules via les transporteurs du glucose GLUT, puis est phosphorylé en position 6 par une hexokinase. L'absence de groupement hydroxyle en position 2 empêche l'action de la glucose-6-phosphate isomérase et donc l'avancée dans la glycolyse. L'activité de

la glucose-6-phosphatase étant faible, le [^{18}F]-FDG ne peut plus ressortir de la cellule, et s'accumule alors dans le compartiment intracellulaire, plus ou moins selon leur consommation en glucose (Figure 2). L'intensité du signal TEP sera donc proportionnelle à la consommation glucidique de l'organe ou de la tumeur.

Parce qu'elles surexpriment les transporteurs GLUT, et ont une activité hexokinase augmentée, les cellules tumorales consomment souvent plus de glucose que les cellules saines, on parle de cellules hypermétaboliques. Le [^{18}F]-FDG a donc tendance à s'y accumuler, ce qui en fait un MRP de choix dans l'exploration tumorale.

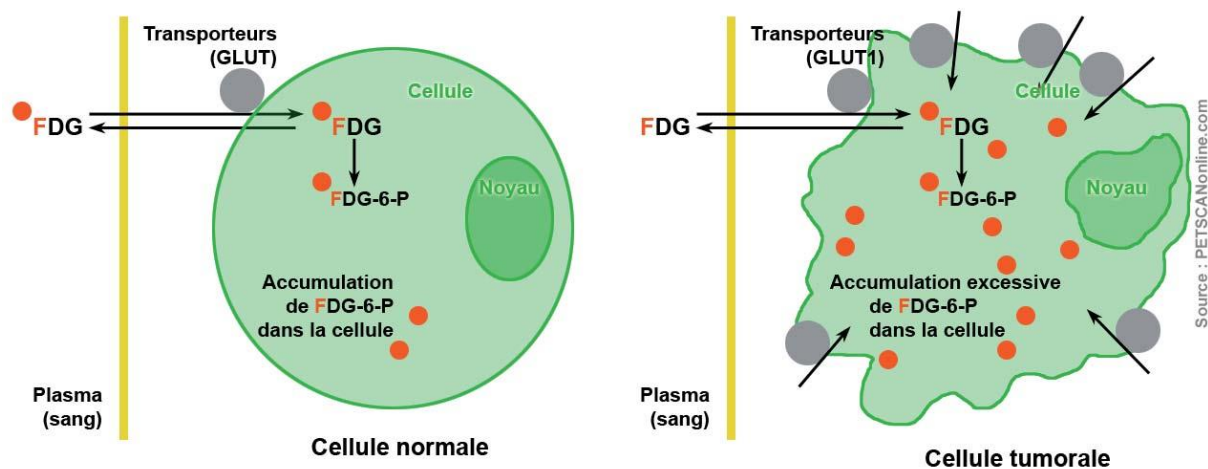


Figure 2 : Voie métabolique du [^{18}F]-FDG

Les indications du [^{18}F]-FDG en oncologie mentionnées dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP) sont multiples :

- Détection d'un cancer primitif d'origine inconnue
- Caractérisation d'une masse pancréatique
- Stadification de nombreux cancers (pulmonaire, sein, œsophage, pancréas, colorectal, lymphome, mélanome)
- Suivi de la réponse thérapeutique (lymphome, cancer ORL...) (exemple en figure 3)
- Détection de récives (sein, pancréas, ovaire, lymphome...)

Cependant, le [^{18}F]-FDG s'accumule aussi de manière physiologique dans certains organes particulièrement consommateurs de glucose tels que le cerveau et le cœur, et le système

urinaire (reins, uretères, vessie) qui est la voie d'élimination du MRP. Certaines pathologies non cancéreuses peuvent s'avérer positives au FDG comme certaines infections (tuberculose, aspergillose, endocardite), des maladies auto-immunes (sarcoïdose, polyarthrite), ou des fractures. De plus, certaines tumeurs, de par leurs tailles infracentimétriques, ou à cause d'une faible activité métabolique, ne seront pas visibles à la TEP au [¹⁸F]-FDG (tumeur neuro endocrine bien différenciée, adénocarcinome prostatique bien différencié...). Avant un examen, le patient doit être à jeun pour éviter une hyperglycémie, et au repos pour éviter une activation musculaire qui entrainerait une accumulation de [¹⁸F]-FDG dans le tissu musculaire. Pour éviter l'activation de la graisse brune, tissu consommant beaucoup de glucose, le patient doit être placé dans un environnement tempéré. Afin que l'examen soit contributif, il faut donc tenir compte de ces éléments et du contexte clinique.

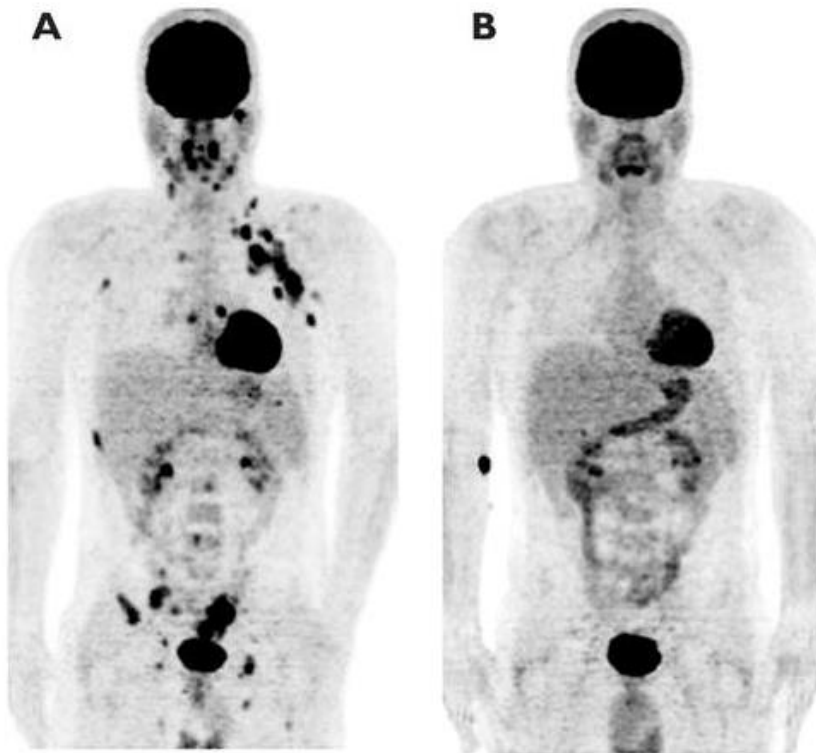


Figure 3 : Exemple de TEP au [¹⁸F]-FDG chez un patient atteint d'un lymphome non hodgkinien, avant (A) et après traitement (B). L'accumulation physiologique du MRP est visible au niveau de la vessie, du cœur et du cerveau.

Bien qu'étant aujourd'hui le MRP TEP le plus utilisé en Oncologie, le [¹⁸F]-FDG n'est donc en aucun cas un MRP universel, utilisable pour toutes les pathologies en oncologie. C'est

pourquoi de nombreuses recherches ont progressivement amené au développement de nouveaux médicaments utilisant des voies métaboliques différentes.

Par exemple, la [^{18}F]-FluoroCholine est un dérivé fluoré de la Choline. *In vivo*, la choline est phosphorylée puis métabolisée en phosphatidylcholine, composant essentiel des membranes phospholipidiques. Certaines cellules tumorales accumulent la choline en intracellulaire et sont donc visibles à l'examen TEP après injection de [^{18}F]-FluoroCholine. Ce MRP est notamment utilisé pour la caractérisation du cancer de la prostate, du carcinome hépatocellulaire bien différencié ou de certaines tumeurs cérébrales pour lequel ses performances sont meilleures que celles du [^{18}F]-FDG.

La [^{18}F]-FluoroDOPA est un analogue fluoré de la DOPA, précurseur de la dopamine. Certains cancers issus de la crête neurale ont tendance à accumuler et décarboxyler la [^{18}F]-FluoroDOPA. C'est notamment le cas de certains insulinomes, paragangliomes phéochromocytomes, ou autres tumeurs neuro-endocrines. La [^{18}F]-FluoroDOPA peut donc être utilisée pour le diagnostic, la stadification ou la détection de récurrence de ces cancers.

Le [^{18}F]-Fluorure de Sodium ([^{18}F]-FNa) est quant à lui un exemple de MRP utilisant le radionucléide seul, sans vecteur. Étant donné ses caractéristiques physico-chimiques, il est directement intégré à l'os par échange avec les ions OH^- sur les cristaux d'hydroxyapatite en formation. Il est 3 à 10 fois plus incorporé dans les zones osseuses atteintes d'une affection maligne avec une augmentation de l'activité ostéoblastique. Ce médicament est donc utilisé dans la recherche de métastases osseuses, notamment dans le cadre du cancer de la prostate. Malgré une meilleure qualité d'image en comparaison avec la scintigraphie osseuse au $^{99\text{m}}\text{Tc}$, le [^{18}F]-Na reste relativement peu utilisé en routine. En effet, la scintigraphie osseuse est la plupart du temps suffisante, et son coût financier et organisationnel est bien moindre qu'une TEP au [^{18}F]-FNa.

Les MRP détaillés jusqu'ici sont tous des analogues de molécules physiologiques, et s'intègrent dans des voies métaboliques, plus ou moins utilisées par les cellules tumorales. Ils ont prouvé leur performance diagnostique, et parfois pronostique, dans la prise en charge de nombreux cancers. Cependant, ces médicaments peuvent manquer de spécificité puisque ces voies métaboliques sont physiologiquement utilisées par des cellules saines. Pour remédier à ce problème, une nouvelle famille de MRP fait l'objet d'un développement important.

Ce nouveau concept consiste à utiliser les caractéristiques phénotypiques des cellules tumorales, et notamment l'expression de récepteurs ou de protéines, membranaires, transmembranaires ou intracellulaires. Le but est d'identifier des cibles spécifiques des cellules tumorales, ou largement surexprimées par celle-ci par rapport à un tissu sain. Ce nouveau mode d'imagerie a un double intérêt :

- Détecter des affections malignes, au même titre que la TEP ciblant des voies métaboliques
- Caractériser le phénotype des cellules tumorales pour prédire l'évolution clinique et adapter le traitement

La technique de référence pour caractériser le phénotype des cellules tumorales est l'anatomopathologie après biopsie. Cependant, la biopsie est un geste invasif douloureux, parfois impossible selon la localisation des lésions, et ne permet de caractériser que les lésions biopsées. Or, chez 18 à 55% des patients, le cancer primitif et les métastases peuvent exprimer des phénotypes différents. L'imagerie TEP peut donc permettre de s'affranchir de ces limites en établissant une cartographie de l'ensemble des lésions.

Le premier médicament fluoré de cette famille ayant obtenu l'AMM est le [¹⁸F]-fluoroestradiol, utilisé dans le cancer du sein. Les cancers du sein peuvent être séparés en deux entités selon qu'ils expriment (environ 75%) ou non (environ 25%) des récepteurs aux œstrogènes.(3) Deux sous-types de récepteurs existent, les récepteurs α et β . Le [¹⁸F]-fluoroestradiol ([¹⁸F]-FES) se lie aux récepteurs œstrogéniques (ER), avec une affinité plus importante pour les récepteurs α . Le [¹⁸F]-FES permet donc de détecter et caractériser les métastases ER-positives des cancers du sein, avec une sensibilité de 84% et une spécificité de 98%.(4) Cependant, ce MRP présente également des limites. Pour éviter les faux négatifs, les traitements anti-hormonaux doivent être arrêtés plusieurs semaines avant l'examen, et l'élimination de la [¹⁸F]-FES étant principalement hépatique, le bruit de fond est souvent trop important pour détecter des lésions hépatiques. Malgré un développement qui date de plusieurs dizaines d'années, la place de cet examen dans la prise en charge des patients est encore mal définie, et son utilisation fait encore débat.

La production des médicaments fluorés est complexe. En effet, le ¹⁸F est produit grâce à un cyclotron, ce qui rend sa production *in situ* impossible pour la plupart des centres de médecine

nucléaires. L'approvisionnement de ces MRP dépend donc des industries et de leur calendrier de production. De plus, la chimie du Fluor fait intervenir des réactions de substitutions nucléophiles, souvent complexes à réaliser et limitant le développement de nouveaux MRP. Pour ces raisons, l'utilisation de nouveaux radionucléides en TEP a progressivement vu le jour.

2) Le développement des médicaments radiopharmaceutiques marqués au Gallium-68

a. Propriétés physico chimiques et production du Gallium-68

i. Propriétés chimiques du Gallium

Le Gallium est un élément découvert en 1875 par le chimiste Français Paul-Emile Lecoq de Boisbaudran. Avec son numéro atomique égal à 31, il appartient au groupe 13 du tableau périodique des éléments. Il est considéré comme un élément de transition, ou métal pauvre, et ses propriétés chimiques présentent donc des similitudes avec d'autres métaux du même groupe, également utilisés en médecine nucléaire comme l'Indium, le Bismuth, le Plomb ou le Thallium. Sa masse molaire est de $69,72 \text{ g.mol}^{-1}$, et sa température de fusion de $29,8 \text{ }^\circ\text{C}$. (5)

Le Gallium est un ampholyte, il peut se comporter comme un acide ou une base selon le pH du milieu. En solution aqueuse acide, le gallium est présent sous forme ionique Ga^{3+} (degré d'oxydation +III). De par sa forte densité de charge et son faible rayon ionique, l'ion Ga^{3+} est un acide dur de Lewis. Il aura donc tendance à réagir avec des bases dures de Lewis donneuses d'électrons, tels que les atomes d'Oxygène ou d'Azote, selon les lois de la chimie de complexation. La forme ionique Ga^{3+} n'est stable qu'en milieu acide, si le pH du milieu augmente ($\text{pH} > 3,5$), une hydrolyse entrainera la formation de Gallium trihydroxyde $\text{Ga}(\text{OH})_3$ sous forme de précipité. Si le pH continue d'augmenter, la forme hydroxyde se dissoudra sous forme de ion gallate $\text{Ga}(\text{OH})_4^-$, incomplexable. (6)

Le Gallium est donc un élément très sensible au pH du milieu, lequel se doit d'être parfaitement contrôlé afin de permettre la présence de l'ion Ga^{3+} en majorité. Cette forme rend possible des réactions de complexation afin de réaliser le radiomarquage de molécules d'intérêt.

ii. Propriétés physiques et production du Gallium-68

Le Gallium-68 est un des 34 isotopes connus du Gallium. Il est l'un des deux isotopes du Gallium qui peuvent être utilisés en médecine nucléaire, avec le Gallium-67. Cependant, l'intérêt pour ce dernier est faible étant donné l'existence de radionucléides plus favorables en termes de dosimétrie et d'imagerie TEMP.

Le ^{68}Ga se désintègre selon une désintégration β^+ à 88%, ou par capture électronique à 11% en Zinc 68 stable, avec une demi-vie de 67.7 minutes (Figure 4). L'énergie maximale (E_{\max}) du rayonnement β^+ issu de la désintégration est de 1899 keV. (7) Cette particule β^+ aura donc un libre parcours moyen plus important que celle issue de la désintégration du ^{18}F , en résulte une résolution légèrement inférieure sur les images obtenues grâce au ^{68}Ga par rapport à celles obtenues avec du ^{18}F . (8)

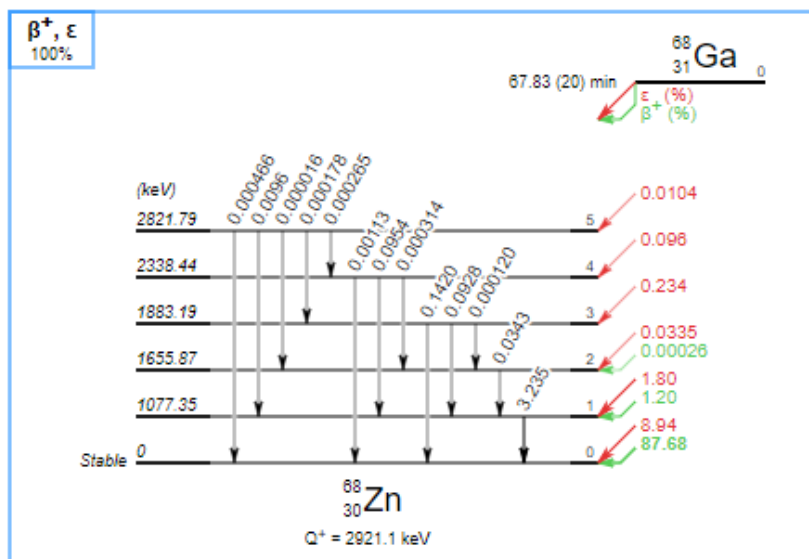


Figure 4 : Schéma de désintégration du ^{68}Ga

Au-delà de ses propriétés chimiques qui rendent son utilisation en radiochimie possible, les propriétés physiques du Gallium en font un isotope parfaitement adapté à l'usage en routine dans un service de médecine nucléaire en imagerie TEP.

Il existe aujourd'hui deux modes de production du ^{68}Ga . La première consiste à récupérer le ^{68}Ga issu de la désintégration radioactive du ^{68}Ge par capture électronique selon une demi-

vie de 270 jours. Cette filiation a permis le développement de générateur de ^{68}Ga . Le générateur permet de récupérer une solution de chlorure de ^{68}Ga par élution d'une colonne de TiO_2 sur laquelle est adsorbé le chlorure de ^{68}Ge , noyau père, par une solution d'acide chlorhydrique 0,1 mol/L. L'équilibre séculaire entre le ^{68}Ge et le ^{68}Ga rend possible l'élution du générateur plusieurs fois par jour (figure 6). (9) En effet, une élution 4 heures après la première élution permet en théorie de récupérer 91% de l'activité maximale. Grâce à la longue période du ^{68}Ge , la durée de vie d'un générateur est de 12 mois. (10) Grâce au générateur, il est possible d'avoir du ^{68}Ga à disposition, indépendamment des contraintes industrielles (heure de livraison, prix, échec de synthèse, calendrier de production...).

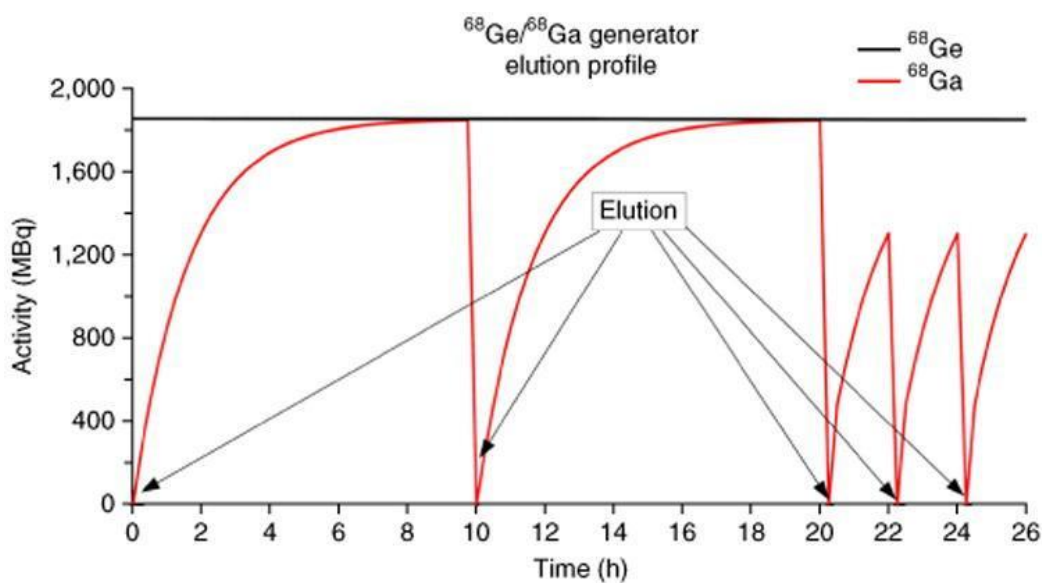


Figure 5 : Schéma d'élution d'un générateur de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

Le ^{68}Ga peut également être produit grâce à un cyclotron, par une réaction $^{68}\text{Zn}(p,n)^{68}\text{Ga}$. Avec ce moyen de production, l'activité de ^{68}Ga produite peut être nettement supérieure à celle d'un générateur (de l'ordre de plusieurs dizaines de GBq). (11) Cette méthode permet également de s'affranchir de l'achat annuel d'un générateur, présentant un coût non négligeable. Cependant, étant donné le coût d'un cyclotron (achat, entretien, maintenance...) et les moyens humains et techniques nécessaires à son utilisation, très peu d'hôpitaux en France en sont aujourd'hui équipés. De plus, la demi-vie courte du ^{68}Ga rend la production et livraison par un industriel délicates.

b. Principes du radiomarquage au Gallium-68

Le concept du radiomarquage consiste à fixer un isotope radioactif sur une molécule vectrice non radioactive, dite « froide ». Cette fixation peut être issue de la création d'une liaison covalente, ou bien de la formation d'un complexe entre la molécule froide et le radionucléide, on parle alors de liaison de coordination. L'ion Ga^{3+} étant un métal et acide fort de Lewis, celui-ci est un candidat idéal à la chimie de complexation. Il peut établir entre 4 et 6 liaisons de coordination.

Cependant, la plupart des vecteurs (peptides, anticorps et autres) présentant un intérêt diagnostique ou thérapeutique en médecine nucléaire ne permettent pas à eux seuls d'établir des liaisons de complexations. C'est pourquoi le radiomarquage au Gallium fait intervenir un chélateur bifonctionnel. Le chélateur bifonctionnel permet de complexer à la fois le radionucléide d'intérêt, mais également d'établir une liaison covalente avec le vecteur froid. *In fine*, il permet de former un ensemble vecteur/chélateur/radionucléide pour former le médicament radiopharmaceutique. (12)

Le radiomarquage faisant intervenir un chélateur bifonctionnel peut être effectué de deux manières (Figure 6) :

- Formation du complexe chélateur/radionucléide puis fixation au vecteur
- Fixation du chélateur au vecteur, puis radiomarquage

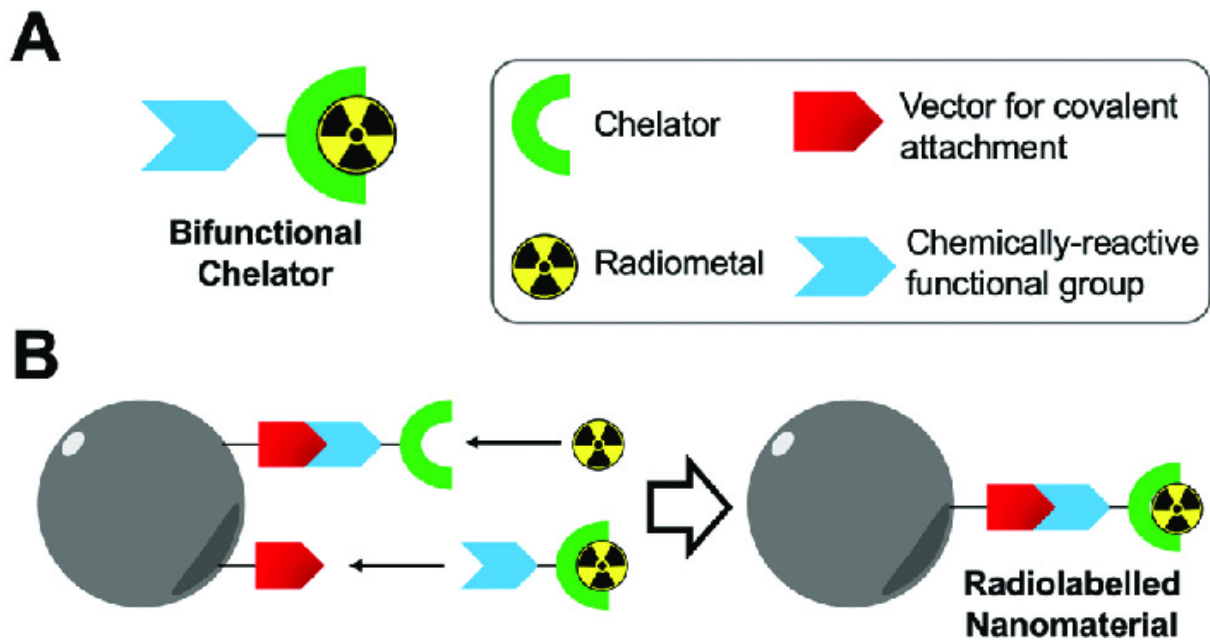


Figure 6 : Radiomarquage par utilisation d'un chélateur bifonctionnel

Le ^{68}Ga ayant une demi-vie courte, le temps perdu à réaliser la conjugaison du complexe chélateur/radionucléide au vecteur rend cette technique peu utilisée en pratique. C'est pourquoi, dans la plupart des cas, la conjugaison du chélateur au vecteur est réalisée en amont du radiomarquage.

Aujourd'hui, de nombreux chélateurs existent. Cependant, les caractéristiques communes recherchées sont les suivantes (13) :

- Une constante de formation importante et constante de dissociation faible permettant d'éviter une dissociation du complexe *in vivo*
- Une chimie permettant la conjugaison au vecteur dans des conditions simples (pH, température)
- Pas d'altération des fonctions biologiques du vecteur après conjugaison
- Inerte *in vivo* afin de ne pas provoquer d'effets indésirables
- Cinétique de complexation compatible avec le radionucléide utilisé (ici une demi-vie courte)
- Une certaine tolérance vis-à-vis de la présence d'autres métaux (Fe^{3+} , Zn^{2+})

Le chélateur idéal a donc une cinétique de complexation rapide, et une cinétique de dissociation lente. Le gallium ayant des propriétés physico-chimiques proches du Fer, il doit

avoir plus d'affinité pour le chélateur que pour la transferrine, afin d'éviter le transfert vers cette protéine présente en grande quantité dans l'organisme. Afin de comparer les différents ligands entre eux et avec la transferrine, il est nécessaire de définir certains paramètres :

- On considère $[M]$ comme la masse de métal non complexé, et $p(M) = -\log[M]$.
- La constante de dissociation K_d est définie par :

$$K_d = ([M] \times [\text{ligand}]) / [\text{complexe}]$$

- La constante de formation est définie par $K_f = \frac{1}{K_d}$

Plus $p(M)$ et K_f sont grands, plus le ligand a une affinité importante pour le métal. Pour exemple, le K_f du complexe Ga-transferrine est égal à 20.3.

Plusieurs chélateurs du gallium ont été développés depuis des dizaines d'années. Cependant, on peut distinguer deux grandes familles, les agents cycliques ou macrocycliques, et les agents non cycliques.

- Les agents cycliques (tableau 2) :

De nombreux agents cycliques existent, les principaux sont listés dans le tableau 2. Ce tableau regroupe également la constante de formation du complexe, et la pureté radiochimique obtenue en utilisant les conditions de marquages détaillées dans la colonne 3.

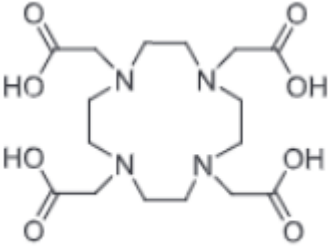
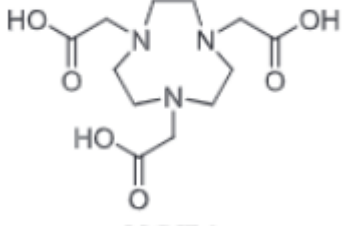
Malgré une constante de formation relativement faible ($K_f=21.3$), et des conditions de radiomarquages exigeantes (température et pH), le DOTA est aujourd'hui largement utilisé en routine radiopharmaceutique pour la complexation du Ga^{3+} . (14) Le premier MRP gallié ayant une AMM est d'ailleurs le ^{68}Ga -DOTA-TOC pour l'imagerie des récepteurs de la somatostatine. Depuis la découverte du DOTA, de nombreux dérivés ont été synthétisés et étudiés. Par exemple, le PCTA, et l'oxo-DO3A avec une géométrie d'anneau différente, permettent de s'affranchir de l'étape de chauffage pour la complexation. (15)

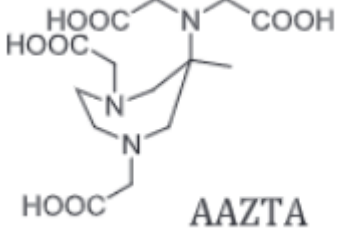
Le NOTA, présente quant à lui une cage plus petite qui accepte mieux le Ga^{3+} que le DOTA, le K_f est donc plus important ($K_f=31$). Le NOTA peut complexer le Ga^{3+} à température ambiante, mais la réaction est parfois faite à 95°C pour accélérer la réaction et optimiser les rendements. La limite du NOTA réside dans la perte de la structure hexadentée après liaison à un vecteur,

entraînant l'apparition d'une charge positive, et altérant donc ses propriétés et notamment sa distribution *in vivo*. (16) Le NODAGA est un dérivé du NOTA qui permet de conserver la structure hexadentée après conjugaison. Il est de plus en plus utilisé en recherche et développement et tend à s'imposer comme une référence pour la complexation du gallium. Cependant, ce chélatant n'est pas capable de complexer des atomes tels que le Lutetium-177, nécessitant 8 liaisons de complexations.

L'AAZTA a quant à lui été initialement développé pour la complexation du gadolinium, utilisée pour l'imagerie à résonance magnétique (IRM). Il a depuis été montré que l'AAZTA est capable de complexer rapidement le Ga^{3+} à température ambiante. Cependant, le complexe semble présenter une certaine instabilité *in vivo*. Le fait de pouvoir complexer à la fois le gadolinium et le Ga^{3+} permet d'envisager l'utilisation d'imagerie multimodale comme le TEP-IRM. (17)

Tableau 2 : Représentation des agents de chélation cycliques du ^{68}Ga les plus utilisés

Nom et structure	Kf	Conditions de radiomarquage	Pureté radiochimique obtenue
 <p>DOTA</p>	21.3	95°C, 5 minutes	>90%
 <p>NOTA</p>	31	95°C 10 minutes	>95%

	22.2	Température ambiante, 10 minutes	>95%
---	------	--	------

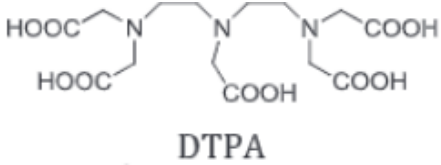
- Les agents non cycliques (tableau 3) :

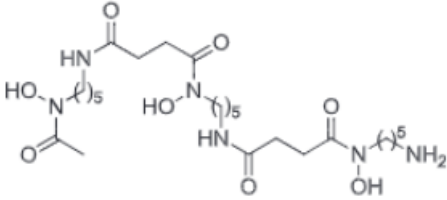
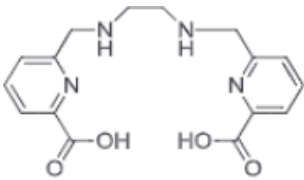
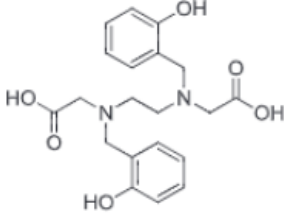
Le DTPA (acide diéthylèntriaminopentaacétique) est un des premiers agents non cycliques développé. Il a depuis servi comme modèle pour créer de nombreux dérivés pour la complexation de différents ions métalliques comme le ^{64}Cu , ^{111}In , ^{177}Lu . (18) Il est notamment utilisé dans le ^{111}In -DTPA-Octreotide, MRP fixant les récepteurs à la somatostatine, progressivement remplacé par le ^{68}Ga -DOTA-TOC.

Le DFO et H2dedpa sont tous deux des composés acycliques, qui complexent le Ga^{3+} à température ambiante, avec un Kf supérieur au DOTA et AAZTA.

La structure du HBED repose sur celle du DTPA avec un ajout de deux groupements phénol. Cette modification permet d'augmenter l'affinité du complexe pour le Gallium (Kf=38,5). L'avantage du HBED repose aussi sur une complexation rapide, et possible à température ambiante. (19) Le HBED-CC, dérivé du HBED, est par exemple utilisé dans l'imagerie du cancer de la prostate *via* le Glu-CO-Lys(Ahx)- [^{68}Ga (HBED-CC)], aussi appelé ^{68}Ga -PSMA-11.

Tableau 3 : Représentation des agents de chélation non cycliques du ^{68}Ga les plus utilisés

Nom et structure	Kf	Caractéristiques de radiomarquage	Pureté radiochimique obtenue
	24.3	/	/

 <p style="text-align: center;">DFO</p>	28.6	T° ambiante, 5 min	96%
 <p style="text-align: center;">H₂dedpa</p>	28.1	T° ambiante, 10 min	97%
 <p style="text-align: center;">HBED</p>	38.5	95°C/Température ambiante, 4 minutes	99%

Il existe donc de nombreux chélateurs, cycliques ou non, permettant de former des agents bifonctionnels. Le choix du chélateur est une des étapes clés du développement d'un nouveau MRP, et dépendra principalement de la nature du vecteur à radiomarquer et des conditions expérimentales. Le DOTA, même si certains agents de chélation semblent démontrer des propriétés supérieures, reste l'un des plus utilisés pour plusieurs raisons :

- Des conditions de complexation relativement simples
- Des études de toxicité validées
- Un bon recul sur son utilisation
- La possibilité de complexer à la fois le ⁶⁸Ga mais aussi d'autres radionucléides comme le ¹⁷⁷Lu

c. Exemple de médicaments radiopharmaceutiques marqués au Gallium-68

Pour pallier aux limites des MRP fluorés, et parce que le ^{68}Ga présente des caractéristiques intéressantes et applicables à une utilisation en routine, des MRP marqués au ^{68}Ga ont été mis sur le marché relativement récemment, d'autres sont disponibles au stade d'accès précoce, et d'autres encore sont encore au stade d'essais cliniques.

Le premier MRP marqué au Gallium-68 ayant obtenu une AMM (2016), est le [^{68}Ga]-édotrétotide (Somakit-TOC[®]). L'édotrétotide est un décapeptide marqué au Gallium-68, ayant une affinité importante pour les récepteurs de la somatostatine en particulier le sous-type 2 (SST2). Ces récepteurs sont surexprimés à la surface des cellules de tumeurs neuroendocrines. Le Somakit-TOC[®] est donc indiqué pour l'imagerie par tomographie par émission de positons (TEP) de la surexpression de récepteurs de la somatostatine afin de localiser les tumeurs primitives et leurs métastases chez des patients adultes atteints de tumeurs neuroendocrines gastro-entéro-pancréatiques (TNE-GEP) bien différenciées confirmées ou suspectées. (20) La TEP au [^{68}Ga]-édotrétotide a démontré une sensibilité de 97% et spécificité de 92% dans cette indication.

Les performances de cet examen sont supérieures à la scintigraphie au [^{111}In]-pentétrétotide, qui était jusqu'alors un des examens de référence dans cette indication. En effet, la résolution largement améliorée grâce à la technologie TEP permet d'augmenter la sensibilité et la spécificité. (Figure 7).(21)

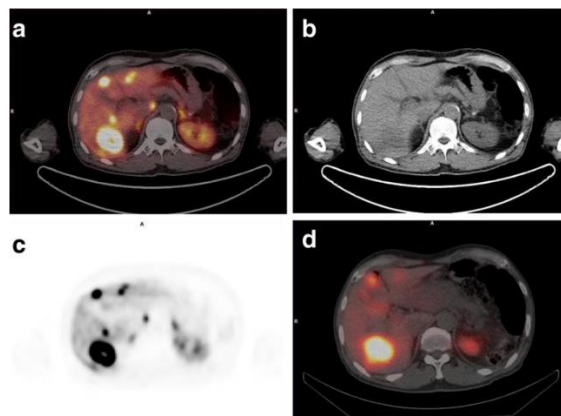


Figure 7 : Comparaison d'une scintigraphie au ^{111}In -pentétrétotide (d) et d'un TEP-TDM (a et c) au ^{68}Ga -DOTATOC chez une patiente atteinte de TNE

Dans une étude sur 90 patients atteints de TNE bien différenciée, la prise en charge a été modifiée chez plus de la moitié des patients (50/90, 55,5%) suite à une TEP au [⁶⁸Ga]-édotrétotide : indication à une chirurgie, indication à un traitement par analogue de la somatostatine, ou indication à une radiothérapie métabolique. (22) La mise sur le marché de ce MRP a donc permis d'améliorer le diagnostic, la caractérisation et la prise en charge des patients atteints de TNE digestives.

Les récepteurs SST2 sont également surexprimés par d'autres types de cellules tumorales, par exemple les méningiomes. Malgré un diagnostic relativement aisé par IRM, la TEP au [⁶⁸Ga]-édotrétotide apporte un complément d'information dans cette indication quand l'aspect de l'IRM est équivoque. De plus, le SUVmax semble être un facteur prédictif des méningiomes à évolution rapide, permettant d'adapter la prise en charge. (23) Enfin, la TEP aux analogues de la somatostatine peut être utilisée pour l'évaluation post-chirurgicale et la détection de récurrences. La TEP au [⁶⁸Ga]-édotrétotide n'est donc pas limitée à l'imagerie des tumeurs neuro-endocrines, et d'autres indications sont en cours de développement.

L'intérêt diagnostique du [⁶⁸Ga]-édotrétotide a ouvert la voie au développement d'autres MRP pour visualiser d'autres cibles cellulaires. Le PSMA est une glycoprotéine transmembranaire, faiblement exprimée au niveau des glandes lacrymales et salivaires, des tubules rénaux, de l'intestin grêle et de la glande prostatique. Le PSMA est 100 à 1000 fois plus exprimé à la surface de 90 à 95% des carcinomes prostatiques, primitifs ou métastatiques. (24) Plusieurs ligands du PSMA ont été développés à ce jour. La dernière génération de MRP ligands du PSMA correspond à des petits peptides.

Aujourd'hui, le [⁶⁸Ga]-PSMA-11 a été disponible plusieurs années en France en autorisation d'accès compassionnel (AAC) (25), et a récemment obtenu une AMM pour les patients en récurrence biologique d'un cancer de la prostate, avec augmentation sérique du PSA, pour lesquels les examens classiques sont discordants ou négatifs. La TEP au [⁶⁸Ga]-PSMA est supérieure à l'IRM ou au scanner pour la stadification des carcinomes prostatiques, et permet donc d'améliorer la prise en charge des patients. (26) De plus, plusieurs études montrent que la TEP au [⁶⁸Ga]-PSMA-11 est supérieure à la TEP à la [¹⁸F]-FluoroCholine dans le carcinome prostatique en récurrence biologique (taux de détection plus élevé, et meilleur contraste dans la

détection des métastases ganglionnaires et osseuses).(27) Récemment, le laboratoire ABX a obtenu une autorisation d'accès précoce pour un ligand fluoré du PSMA, le [¹⁸F]-PSMA-1007 (Radelumin®), puis un avis favorable pour le remboursement (SMR important et ASMR mineur). (28) La résolution en imagerie TEP est supérieure avec le Fluor-18. De plus, cette spécialité prête à l'emploi permet de s'affranchir de la synthèse au ⁶⁸Ga. L'imagerie TEP PSMA sera donc possible dans des centres de médecine nucléaire ne disposant pas d'un générateur de ⁶⁸Ga et du matériel nécessaire associé. La proximité géographique avec un site de production reste cependant nécessaire.

Les recherches récentes en oncologie ont permis de mettre en évidence l'importance des fibroblastes associés aux cancers (CAFs pour « cancer-associated fibroblasts ») présents dans le microenvironnement tumoral. Ces CAFs surexpriment dans 90% des cas la protéine FAP α dans les cancers épithéliaux, qui participe à l'effet pro-tumoral des CAFs. Cette protéine semble donc être un marqueur de choix pour l'imagerie phénotypique du microenvironnement tumoral. Des molécules inhibitrices de FAP (FAPI pour « FAP inhibitors ») radiomarquées au ⁶⁸Ga, FAPI-02 et FAPI-04 font actuellement l'objet de nombreuses recherches. Une méta-analyse récente a sélectionné 23 études concernant l'utilisation de FAPI en imagerie TEP, avec 17 études concernant l'oncologie. (29) Ces études s'intéressent notamment à la stadification tumorale et à l'adaptation du traitement. Le [⁶⁸Ga]-FAPI semble supérieur au [¹⁸F]-FDG dans le cas des tumeurs malignes abdominales, dans la détection de la tumeur primaire (96-100% contre 53-65%), et des métastases ganglionnaires ou distales (89-93% versus 39-57%). Cependant, la détection des métastases ganglionnaires présente une forte variabilité (sensibilité de 59% à 100%) selon les études et le type de cancer. Cette méta-analyse souligne donc une qualité variable des études publiées, et montre la nécessité de poursuivre la recherche avant d'espérer utiliser ce nouveau MRP en routine.

Ces trois exemples illustrent le dynamisme de la recherche dans ce domaine, avec un médicament ayant une AMM récente, l'autre en cours d'obtention et sous régime d'accès compassionnel, et un troisième en essai clinique. Jusqu'alors, la majorité des médicaments développés en médecine nucléaire l'étaient en tant que médicament à visée diagnostique isolés. Cependant, l'apparition d'un nouveau concept, la théragnostique, ou théranostique,

(30) a provoqué un changement de paradigme dans le développement de nouveaux MRP, principalement en oncologie.

3) Le concept de théragnostique

a. Définition et généralités

Depuis le début des années 2000, les termes « médecine personnalisée », ou « médecine de précision » sont de plus en plus utilisés dans le monde médical. Même s'il n'existe pas de définition précise et consensuelle, la majeure partie des acteurs s'accordent pour dire que la médecine personnalisée correspond à une médecine sur mesure, où les caractéristiques uniques du patient et de sa maladie permettent d'en adapter la prise en charge. Même si le concept d'ajuster un traitement aux caractéristiques du patient (surface corporelle, fonction rénale...) n'est pas nouveau, l'émergence de nouvelles technologies permet d'aller beaucoup plus loin dans la caractérisation des patients et de leurs maladies. Parmi ces technologies émergentes se trouvent la génomique, la pharmacogénétique, la bio-informatique, mais aussi l'imagerie médicale. En médecine nucléaire, le concept se rapprochant le plus de la médecine personnalisée est celui de théragnostique. (31)

La théragnostique désigne l'utilisation de molécules de ciblage marquées soit avec des radionucléides diagnostiques, soit avec des radionucléides thérapeutiques. Le concept est d'identifier une cible exprimée par la maladie à traiter, puis de la détruire de manière précise et ciblée, cela en utilisant le même vecteur mais couplé à un radionucléide différent. En réalité, le concept de théragnostique correspond donc plus à une médecine « stratifiée » qu'à une médecine « personnalisée ». En effet, la stratification permet de définir des sous-populations selon un critère binaire (exemple : une population exprime un récepteur, l'autre non), alors que la médecine personnalisée s'intéresse au profil détaillé de l'individu (son mode de vie, son environnement...). (32)

Le terme de théragnostique est apparu pour la première fois dans le début des années 2000. Depuis, la recherche et le développement dans ce domaine est en constante augmentation (Figure 8).

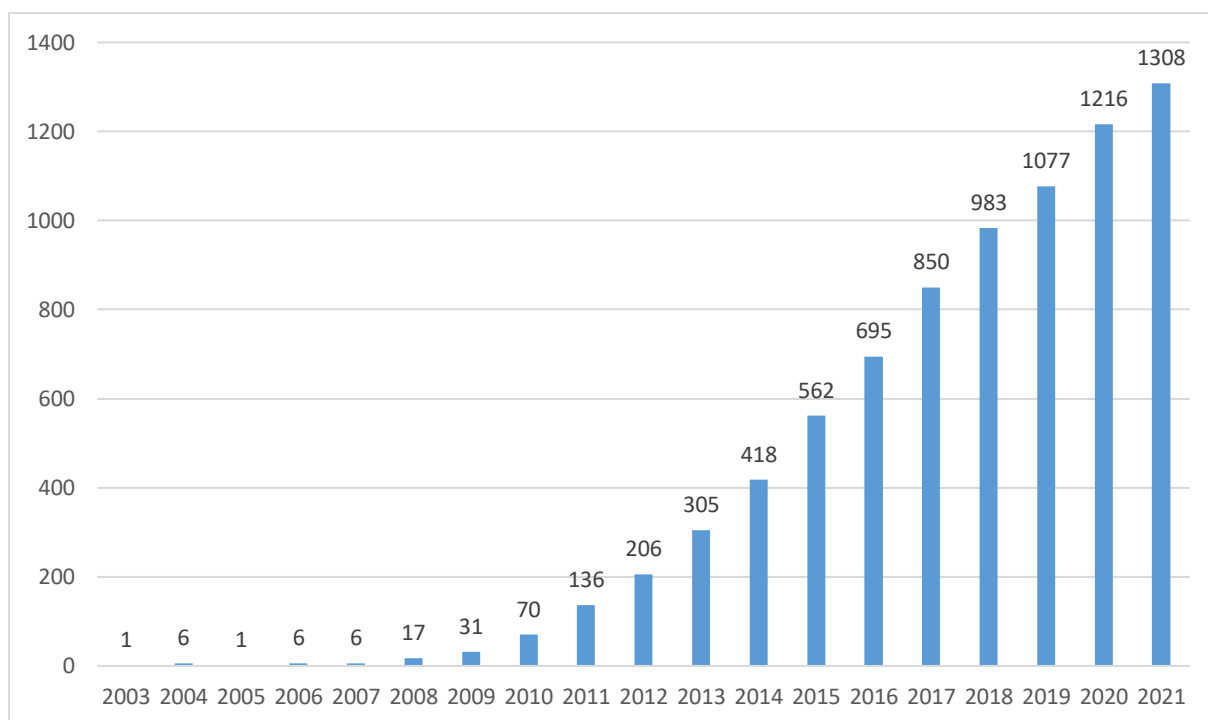


Figure 8 : Nombre de publications ayant le mot theranostic ou theragnostic dans le titre ou résumé de 2003 à 2021 (extraction faite sur PubMed le 03/08/2022)

b. La radiothérapie interne vectorisée

La radiothérapie interne vectorisée (RIV) consiste en un traitement par radiothérapie reposant sur l'administration par voie orale ou parentérale d'un radionucléide seul ou vectorisé. Les radionucléides utilisés en RIV doivent émettre des particules ou rayonnements ionisants, capables de détruire les cellules tumorales. Les particules peuvent être de différents types.

Les particules alpha sont composées de deux protons et deux neutrons, ce qui correspond à un noyau d'Hélium. Les isotopes qui se désintègrent en émettant une particule alpha sont des isotopes plutôt lourds. Les particules alpha ont un parcours très limité dans la matière (de l'ordre du micromètre dans les milieux organiques), avec un haut transfert linéique d'énergie (TEL). Ces caractéristiques en font une particule de choix en RIV pour détruire de manière précise des masses tumorales de faible taille, tout en évitant d'endommager les tissus sains voisins. Les désintégrations de ces noyaux lourds sont souvent à plusieurs étapes, avec des

noyaux fils qui sont eux-mêmes émetteurs de particule α ou β^- (Figure 10).

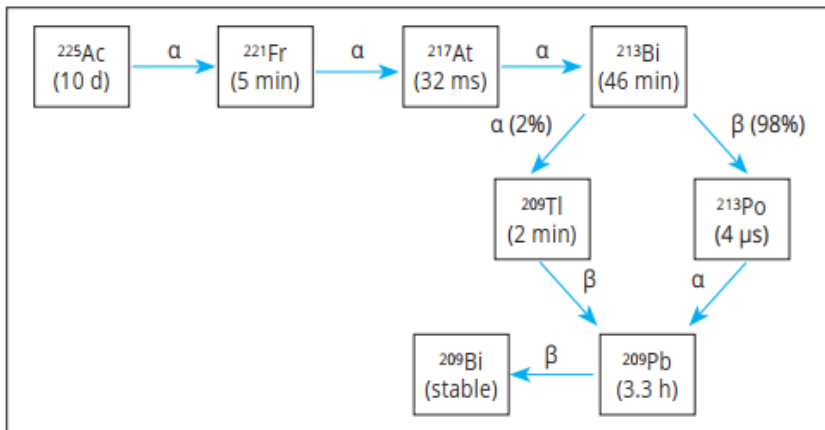


Figure 9 : Schéma de désintégration de l'Actinium 225

La particule β^- est quant à elle un électron. Les noyaux en excès de neutrons se désintègrent en transformant un neutron en proton, et en émettant un électron. La particule β^- a un parcours dans la matière plus grand (de l'ordre du mm) et un TEL plus faible que la particule α .

En déposant de l'énergie dans les tissus, ces particules vont provoquer des dommages à l'ADN, soit de façon directe en provoquant des cassures (simple brin ou double brin) des liaisons covalentes de l'ADN, soit indirecte *via* la production d'espèces réactives de l'oxygène (figure 10). L'accumulation des lésions moléculaires (oxydation des lipides membranaires, de protéines, cassures simple brin ou double brin de l'ADN) provoquera *in fine* la mort cellulaire.

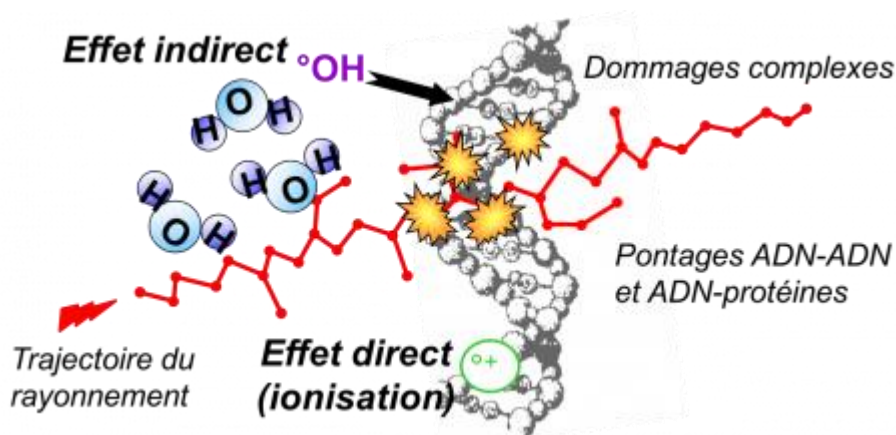


Figure 10 : Radiobiologie des rayonnements ionisants

Le choix du type de particules utilisées en radiothérapie interne fait intervenir plusieurs paramètres. En effet, les caractéristiques de ces particules présentent des avantages et des inconvénients qu'il convient d'utiliser au mieux en fonction de l'objectif.

L'utilisation d'émetteurs α présente plusieurs avantages. Tout d'abord, la chaîne de décroissance en plusieurs étapes augmente l'exposition des cellules tumorales. Le fort TEL permet d'assurer une efficacité peu importe la phase du cycle cellulaire par formation de lésions doubles brin d'ADN non réparables. De plus, malgré un parcours court dans la matière, les particules α ont un effet « bystander » plus important. Cela signifie qu'elles peuvent provoquer la mort cellulaire de cellules non irradiées, en périphérie des cellules atteintes.(33) De plus, *via* l'effet abscopale, l'irradiation permet de stimuler le système immunitaire, et d'améliorer son efficacité sur les cellules tumorales environnantes non irradiées (figure 11). La létalité des particules alpha sur les cellules saines est compensée par le faible parcours de celles-ci dans la matière. En principe, la vectorisation du radionucléide permet donc d'épargner au maximum les tissus sains. Pour les radionucléides présentant une décroissance en plusieurs étapes comme l'actinium-225, les radionucléides fils peuvent avoir une affinité moindre pour le vecteur et s'en détacher. Le problème ne se pose pas si le MRP est internalisé par la cellule, mais doit être étudié pour des vecteurs qui restent extracellulaires. (34)

Les particules β présentent quant à elle un effet « crossfire » plus important. En effet, grâce à un parcours dans la matière plus long, une même particule peut traverser et endommager plusieurs cellules, tumorales ou saines. Elle est potentiellement plus adaptée pour traiter des masses tumorales plus importantes, et son utilisation en RIV est pour le moment plus courante que celle des α .

Ces deux types de particules présentent donc des avantages et des inconvénients différents. Le choix du radionucléide utilisé peut être influencé par la situation clinique et le type d'envahissement tumoral. L'utilisation concomitante de radionucléides différents est en cours d'investigation. En effet, l'utilisation des particules β peut permettre un « debulking », puis l'utilisation de particules α pourrait permettre de cibler des sous-populations tumorales plus résistantes. (35)

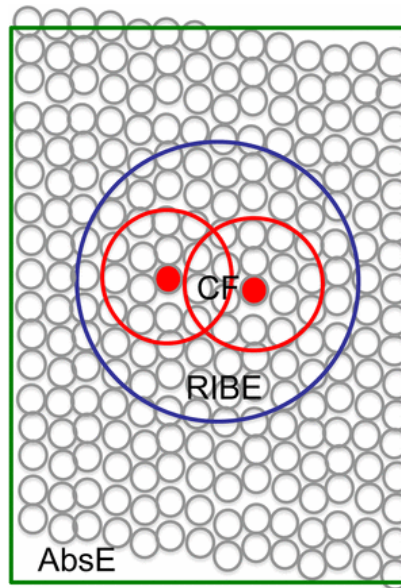


Figure 11 : Schéma représentant les cellules tumorales concernées par l'effet crossfire (CF), bystander (RIBE) et abscopal (AbsE). Les points rouges représentent les radionucléides, les cercles gris les cellules tumorales.

c. Le concept de couple théragnostique

L'approche théragnostique fonctionne donc avec une « paire » de radionucléides, un pour le diagnostic, un pour la thérapie. Les caractéristiques idéales de cette paire sont les suivantes :

- Des caractéristiques chimiques et biologiques les plus identiques possible pour faciliter le radiomarquage et le comportement du radionucléide *in vivo*
- Une demi-vie relativement courte pour l'isotope diagnostique pour des questions de dosimétrie et radioprotection du patient (de l'ordre de l'heure)
- Une demi-vie plus longue pour l'isotope « thérapeutique » (de l'ordre du jour), afin d'augmenter le temps d'exposition et donc la dose délivrée aux cellules tumorales.
- Le radionucléide doit être émetteur γ ou β^+ à des fins d'imagerie. L'émission β^+ sera privilégiée afin d'obtenir une meilleure résolution en imagerie.
- Emission β^- ou α pour l'isotope thérapeutique, en fonction des objectifs et des possibilités
- Les isotopes doivent pouvoir être produits de manière simple afin d'assurer une chaîne d'approvisionnement stable.

Les paires théragnostiques utilisées ou qui font l'objet des principales recherches sont résumées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Principales paires théragnostiques utilisées en recherche ou en routine clinique

Famille Chimique	Thérapeutique	Imagerie TEMP	Imagerie TEP
Halogènes	^{131}I , ^{18}F	^{123}I , ^{131}I	^{124}I
Métaux trivalents	^{90}Y , ^{177}Lu , ^{212}Pb , ^{225}Ac , ^{227}Th	^{111}In , ^{67}Ga , (^{177}Lu)	^{68}Ga , ^{86}Y , ^{89}Zr
Métaux divalents	^{67}Cu	-	^{62}Cu , ^{64}Cu

d. Etat des lieux et perspectives

Même si le terme théragnostique a été introduit relativement récemment, l'utilisation de faibles activités d'iode 131 à des fins diagnostiques puis d'activités plus importantes à des fins thérapeutiques remonte au milieu du XXe siècle. Dans un second temps, la ^{131}I -MIBG a été développée pour le diagnostic puis le traitement des phéochromocytomes. (36) Ces deux exemples montrent que l'utilisation du même isotope mais à des activités différentes est possible. Depuis, la majeure partie des MRP développés utilisent une paire diagnostique comme vu précédemment. C'est également le cas de la MIBG qui a évolué avec l'utilisation de l'iode 123 en diagnostic, et de l'iode 131 en thérapeutique.

Le couple théragnostique ayant popularisé ce concept est le [^{68}Ga]édotrétotide/[^{177}Lu]Lutathéra®), utilisé dans la prise en charge des tumeurs neuro-endocrines (TNE). Le ^{177}Lu se désintègre en Hafnium 177 en émettant une particule β^- . Couplé à un vecteur ayant une affinité pour les récepteurs SST2, il est utilisé dans le traitement des TNE. L'essai de phase III NETTER 1 (37) a permis de démontrer l'efficacité et la supériorité du traitement par Lutathéra + analogue de la somatostatine à faibles doses face aux analogues seuls à forte dose (traitement médicamenteux de référence au moment de l'étude) pour la prise en charge des TNE métastatiques, progressives bien différenciées et exprimant les récepteurs à la somatostatine. Le traitement par Lutathéra consiste en 4 injections de 7,4 GBq espacées de 8 semaines.

La survie sans progression (SSP), critère principal de l'étude, est de 65,2% à 20 mois dans le bras Lutathéra contre 10,8% dans le bras contrôle, avec un hazard ratio à 0.21 (95% IC : 0,15

à 0,33, $p < 0,001$) (Figure 12). L'analyse intermédiaire de la survie globale montre une médiane atteinte en 20 mois pour le groupe contrôle, et non atteinte au bout de 30 mois pour le groupe Lutathera. Cependant, l'analyse définitive des données après 5 ans de suivi des patients inclus ne montre pas de différence significative de survie globale entre les deux groupes. D'après les auteurs, ce manque de significativité peut toutefois être dû à un taux important de cross-over (36%). Enfin, les effets indésirables sont principalement hématologiques, de grades 3 principalement, et réversibles.

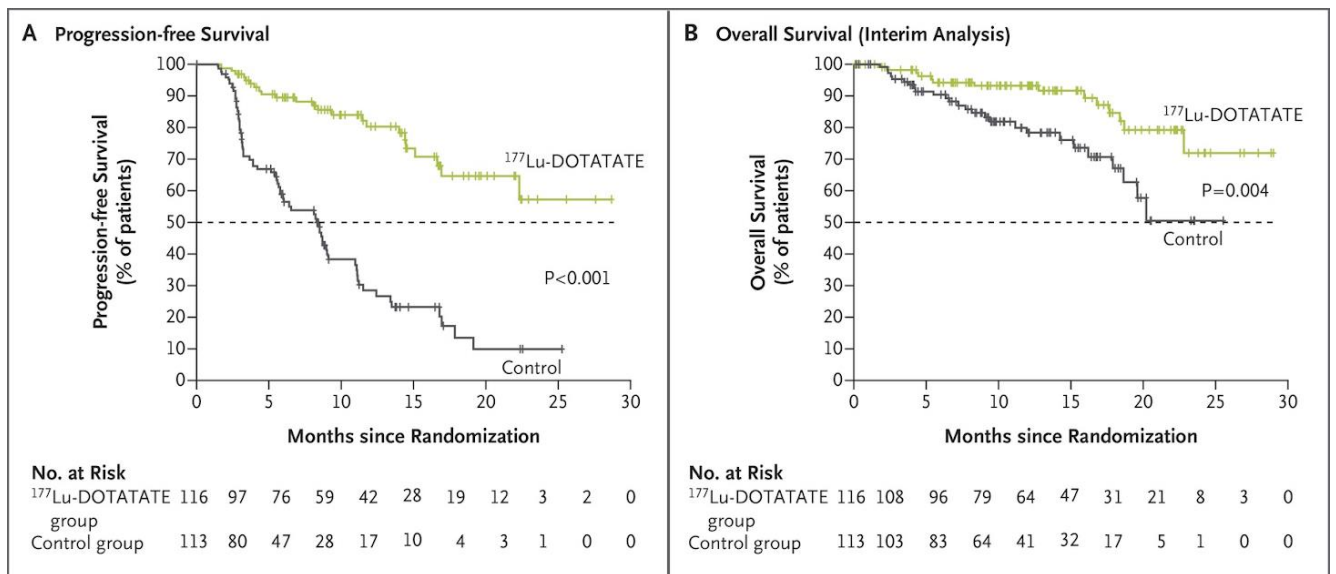


Figure 12 : Données de survie sans progression et survie globale issues de l'essai de phase III NETTER 1

Jusqu'alors, les patients atteints de TNE gastro-entéro-pancréatiques progressives étaient la plupart du temps en impasse thérapeutique, avec une prise en charge principalement symptomatique. Le développement et la mise sur le marché du Lutathera ont permis d'améliorer le pronostic de ces patients, grâce à un traitement avec un profil d'effet indésirable avantageux. Depuis peu, le Lutathera est également disponible dans le cadre de la prescription compassionnelle dans 5 nouvelles indications, après vérification de la surexpression des récepteurs à la somatostatine par TEP (38) :

- Phéochromocytomes/paragangliomes métastatiques ou localement avancés après échec ou contre-indication à un traitement par $^{131}\text{I-MIBG}$

- TNE bronchique, métastatique ou localement avancée
- TNE, y compris TNE de primitif inconnu, ne correspondant pas à l'autorisation de mise sur le marché
- Méningiome de tous grades

Le couple [⁶⁸Ga]édotréotide/[¹⁷⁷Lu]-oxodotréotide, faisant preuve d'une efficacité indéniable, a donc démontré la faisabilité et l'efficacité de la RIV par approche théragnostique. Depuis, plusieurs autres MRP utilisant cette approche sont donc en cours de développement.

Par exemple, le [¹⁷⁷Lu]-PSMA-617 (Pluvicto®), est aujourd'hui disponible en accès précoce, et a récemment obtenu une évaluation positive du « committe for medicinal products for human use » au niveau européen pour le traitement des cancers prostatiques exprimant le récepteur PSMA, résistant à la castration chimique, et préalablement traité par au moins une ligne de taxane et un anti androgène. L'essai VISION (39) comparant l'efficacité du traitement par « [¹⁷⁷Lu]-PSMA-617+standard care » au « standard care alone » dans cette indication, a montré un allongement de la SSP (médiane 8,7 vs 3,4 mois ; hazard ratio de 0,4 avec un IC 99% 0,29 à 0,57, p<0,001) et de la survie globale (médiane 15,3 vs 11,3 mois ; HR de 0,62 IC95% 0,52 à 0,74 ; p<0,001). De même que pour le Lutathera®, le traitement est bien toléré, avec des effets indésirables hématologiques réversibles, sécheresse buccale et fatigue, de grade 3 ou moins.

De plus, des études montrent que l'utilisation du [²²⁵Ac]-PSMA-617 peut être intéressante, avec toutefois des xérostomies plus importantes, responsables de l'arrêt du traitement avec une proportion différente selon les études (0%, 10% ou 25%). (40) (41) Le choix de l'isotope est un facteur clé, en termes d'efficacité et de toxicité, qui doit être adapté en fonction de l'objectif recherché.

L'approche théragnostique est donc un domaine de recherche dynamique, avec la mise sur le marché récente de médicaments efficaces dans la prise en charge de pathologies rares ou avec une forte prévalence. Cependant, la croissance importante de la demande de traitement impose une réorganisation des services de médecine nucléaire, souvent non dimensionnés pour accueillir cette hausse d'activité. De plus, les industriels montrent des difficultés à répondre à la demande de médicament, comme l'ont montré les récentes difficultés d'approvisionnement en [¹⁷⁷Lu]-PSMA-617. Le défi des futures années sera de pouvoir

répondre à cette demande, afin de faire bénéficier les patients de traitements efficaces. L'identification de nouvelles cibles est également un objectif clé des futures années afin de pouvoir traiter de nouveaux types de cancers.

4) Une cible innovante en médecine nucléaire : le récepteur CXCR4

a. Le récepteur CXCR4

Le récepteur CXCR4 est un récepteur membranaire à sept domaines transmembranaires, de la famille des récepteurs couplés aux protéines G. Il a initialement été découvert en tant que cofacteur permettant l'entrée du VIH-1 dans les cellules. (42) Son unique ligand physiologique, la chimiokine CXCL 12 (ou SDF1 pour stromal cell-derived factor 1), le classe dans la famille des récepteurs aux chimiokines. (43) Deux caractéristiques différencient CXCR4 des autres récepteurs aux chimiokines :

- sa monospécificité envers son ligand CXCL12
- son expression ubiquitaire sur de nombreux types tissulaires (cellules hématopoïétiques, cellules épithéliales, endothéliales, neuronales...)

CXCL12 est sécrété par plusieurs organes, dont les principaux sont le foie, les poumons, les reins, le cerveau et la moelle osseuse. La fixation de CXCL12 sur son récepteur entraîne un ensemble d'activation de plusieurs voies de signalisation. Physiologiquement, la voie CXCR4/CXCL12 est impliquée dans de nombreuses fonctions (44) :

- migration des cellules durant l'embryogénèse
- régulation de l'hématopoïèse
- inflammation et réparation tissulaire
- réponse immunitaire innée et adaptative

Des modèles murins sur lesquels le gène codant pour CXCR4 est invalidé (« knocked out ») mènent à des défauts d'organogénèse (hématopoïèse et cardiogénèse) qui provoquent *in fine* la mort *in utero* ou à la naissance. Le rôle du couple CXCR4/CXCL12 est donc essentiel dans le développement fœtal.

Cependant, les nombreuses recherches ont également montré son implication dans différents types de cancers. CXCR4 est en effet surexprimé dans plus de 23 types de cancers (cancer du

rein, des poumons, du cerveau, du sein, du pancréas, myélome, leucémie...). Le rôle de ce récepteur en cancérologie est multiple. Son activation peut contribuer à la croissance tumorale, l'angiogenèse, la formation de métastases et la résistance aux traitements. (45) En effet, l'effet chimio attracteur de CXCL12 attire les cellules tumorales dans les organes où la chimiokine est fortement exprimée comme le cerveau, la moelle osseuse, les poumons ou le foie. Ces organes sont ceux où l'on retrouve communément le plus de métastases. De plus, l'effet chimiotactique attire également des cellules pro-inflammatoires et mésenchymateuses qui sécrètent des facteurs de croissance, des cytokines ou des facteurs angiogéniques, favorisant la croissance tumorale. Enfin, l'expression de CXCR4 dans les cellules souches tumorales favorise la survie et le renouvellement des cellules tumorales. (46)

L'expression de CXCR4 à la surface des blastes est un facteur pronostique défavorable dans les leucémies aiguës myéloïdes. Dans cette pathologie, une forte expression de CXCR4 est corrélée avec une survie globale réduite, et un risque de rechute plus élevé. De plus, la surexpression de CXCR4 au moment de la rechute semble montrer que des clones leucémiques avec une expression initiale de CXCR4 élevée peuvent être à l'origine de la maladie résiduelle et de la rechute. (47) De même dans le cancer du pancréas, pour lequel l'expression de CXCR4 pourrait être un marqueur de mauvais pronostic en termes de progression de la maladie et de survie globale. (48)

En plus d'être un facteur pronostique, l'expression de CXCR4 est également une cible en thérapie ciblée. En effet, les antagonistes de CXCR4 pourraient bloquer la dissémination des cellules tumorales, rendre les cellules leucémiques plus sensibles à la chimiothérapie, bloquer les signaux de survie et de prolifération et inhiber la néoangiogenèse. De nombreux essais cliniques sont en cours pour évaluer l'efficacité d'antagonistes de CXCR4 en association avec des chimiothérapies, notamment dans la prise en charge des leucémies aiguës myéloïdes. (49)

b. Développement d'un médicament pour l'imagerie des récepteurs CXCR4

La surexpression de CXCR4 par de nombreux types de cancers en fait un candidat idéal pour l'imagerie TEP. C'est pourquoi, depuis plus d'une quinzaine d'année, de nombreuses équipes travaillent sur la mise au point de médicaments permettant d'en visualiser l'expression. Le développement des ligands de CXCR4 repose sur des travaux existant sur la mise au point

d'antagonistes de CXCR4 dans le traitement de l'infection par VIH. Les premières molécules développées antagonistes du récepteur CXCR4 étaient basées sur la structure du ligand physiologique SDF1- α , comme la molécule T140 (50). Cependant, les premiers essais de radiomarquage sont peu concluants. Les MRP développés présentent une clairance importante, une stabilité faible, et un rapport signal/bruit faible. En comprenant les interactions entre le ligand et son récepteur, d'autres ligands ont ensuite été développés comme le pentapeptide cyclique FC131 (50). La molécule ^{124}I -FC131 fut le premier MRP TEP en essai pré-clinique développée sur ce modèle. (51) Cependant, la grande lipophilie de cette molécule entraîne un important phénomène de captation hépatique et intestinale. D'autres essais ont été faits, à partir d'anticorps radiomarqués (52), ou encore directement *via* un marquage de SDF-1 α au $^{99\text{m}}\text{Tc}$. (53)

Suite au développement de l'imagerie TEP au ^{68}Ga , des équipes ont cherché à développer une molécule radiomarquée au ^{68}Ga . Grâce à des travaux déjà effectués, la molécule CPCR4, de par son affinité au récepteur CXCR4, a été choisie comme peptide. Cependant la conjugaison de l'agent complexant (DOTA) *via* un acide 4-aminométhylbenzoïque entraîne une perte d'affinité pour le récepteur CXCR4. Des recherches ont donc été menées afin de déterminer le site de conjugaison le plus optimal, et ont enfin permis de développer le Pentixafor, ou CPCR4.2 (Figure 13). (54) Cette molécule est à ce jour le médicament radiopharmaceutique qui fait l'objet du plus de recherches et d'essais cliniques pour l'imagerie TEP des récepteurs CXCR4.

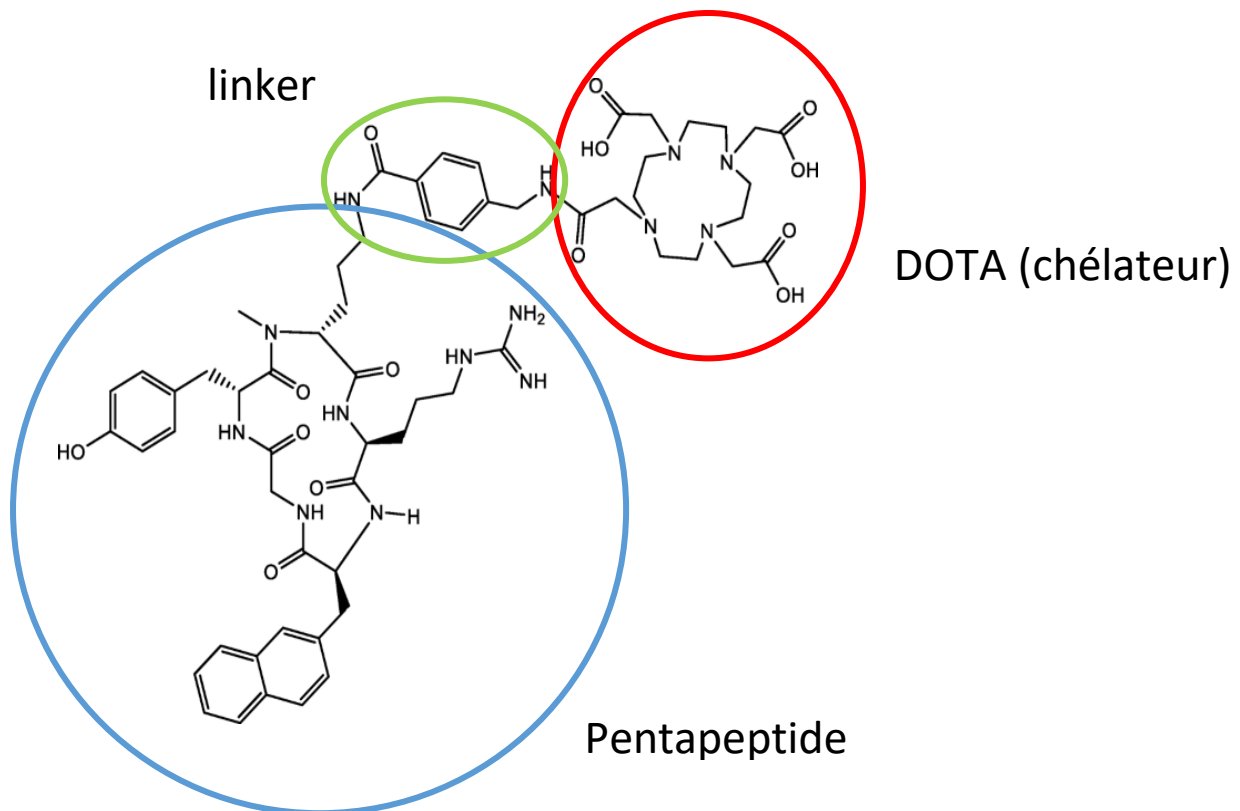


Figure 13 : Structure chimique du Pentixafor

c. Le $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor en imagerie des tumeurs solides et cancers hématologiques

Les indications de l'imagerie TEP au $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor sont multiples. Tout d'abord, le $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor peut être utilisé dans l'imagerie des lymphomes. Une méta-analyse (55) montre que la plupart des types de lymphomes surexpriment fortement les récepteurs CXCR4, même lorsqu'ils sont négatifs au $[^{18}\text{F}]$ -FDG, comme c'est souvent le cas pour les lymphomes lymphoplasmocytaires, les leucémies lymphoïdes chroniques, les lymphomes de la zone marginale ou les lymphomes du système nerveux central. Dans ces indications, le $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor semble donc meilleur que le $[^{18}\text{F}]$ -FDG pour la détection et la stadification de la maladie.

Le myélome multiple (MM) représente environ 1% des cancers, et 10% des cancers hématologiques. La TEP au $[^{18}\text{F}]$ -FDG est un des examens de référence pour le pronostic et le

suivi de cette maladie. Cependant, dans une étude récente sur 227 patients, 11% des patients présentaient un TEP au [¹⁸F]-FDG négatif.(56) Cela s'explique notamment pour des types de myélomes ayant une faible expression de l'hexokinase. Il a été montré que l'axe CXCR4/CXCL12 joue un rôle important dans la prolifération, l'invasion et la dissémination des myélomes multiples. La TEP au [⁶⁸Ga]-Pentixafor pourrait donc permettre d'apporter des informations supplémentaires sur les caractéristiques de la maladie. Dans une étude sur 30 patients atteints de myélome multiple, et ayant bénéficié d'une TEP métabolique et phénotypique, la TEP au [⁶⁸Ga]-Pentixafor était positive pour 28 patients, contre 16 patients pour la TEP au [¹⁸F]-FDG. (57)

Le myélome indolent, ou myélome asymptomatique, est une gammopathie monoclonale qui évolue fréquemment vers le myélome multiple. Cette maladie est le plus souvent non traitée, mais les patients font l'objet d'une surveillance annuelle ou biannuelle. Les cellules tumorales de myélome indolent ont le plus souvent un faible métabolisme, la TEP au [¹⁸F]-FDG est donc le plus souvent négative. Dans une étude (58), chez 10 patients atteints de myélome indolent, tous étaient négatifs à la TEP au [¹⁸F]-FDG, alors que la TEP au [⁶⁸Ga]-Pentixafor était positive pour 5 patients. La sensibilité du [⁶⁸Ga]-Pentixafor semble donc plus satisfaisante, en plus d'apporter des informations phénotypiques qui peuvent aider à établir un pronostic.

Dans une autre étude (59), 15 patients atteints de glioblastomes ont eu une TEP/TDM au [⁶⁸Ga]-Pentixafor. Les résultats de la TEP ont été comparés à l'IRM, la biopsie, et la TEP à la [¹⁸F]-FET. Pour tous les patients, la TEP au [⁶⁸Ga]-Pentixafor était positive pour les tumeurs exprimant CXCR4 (confirmée par la biopsie). De plus, au sein de la même tumeur, certaines régions n'exprimant pas CXCR4 n'étaient pas visibles à la TEP, confirmant la spécificité du MRP. Le rapport tumeur/bruit de fond est significativement meilleur pour le [⁶⁸Ga]-Pentixafor que pour la [¹⁸F]-FET. Le diagnostic du glioblastome est le plus souvent rendu possible par l'IRM. Récemment, le développement de thérapies ciblées dirigées contre l'axe CXCR4/CXCL12 montre des résultats intéressants dans la prise en charge du glioblastome. L'utilisation du [⁶⁸Ga]-Pentixafor en tant que test compagnon pourrait donc permettre de sélectionner les patients pour qui cette thérapie serait indiquée.

De nombreuses études ou essais cliniques en cours ont pour but de démontrer l'apport de la TEP au [⁶⁸Ga]-Pentixafor dans la prise en charge de nombreux cancers hématologiques.

Cependant, ce nouveau MRP semble également prometteur pour l'imagerie des tumeurs solides. En effet, plusieurs études ont montré la faisabilité de la TEP au [⁶⁸Ga]-Pentixafor dans l'imagerie des cancers du poumon, adénocarcinome de l'œsophage, cancer du sein, cholangiocarcinome ou encore cancer des ovaires. (60) Pour conclure, cette nouvelle modalité d'imagerie phénotypique apporte donc plusieurs avantages dans la prise en charge de cancers hématologiques et solides :

- permettre un diagnostic ou un suivi, notamment dans des maladies faiblement métaboliques pour lesquelles la TEP au [¹⁸F]-FDG n'est pas adaptée
- apporter des éléments pronostiques *via* la quantification de l'expression de CXCR4
- cibler les candidats potentiels à des thérapies ciblées dirigées contre l'axe CXCR4/CXCL12

d. Radiothérapie interne vectorisée des récepteurs CXCR4 : ¹⁷⁷Lu et ⁹⁰Y

Le récepteur CXCR4, faiblement exprimé par le tissu sain et surexprimé par de nombreux cancers, et dont l'expression est quantifiable par imagerie TEP, semble être un candidat idéal à la RIV.

Lors des recherches concernant le développement d'un médicament de RIV ciblant CXCR4, il s'est avéré que le Pentixafor, s'il était associé à un atome de ¹⁷⁷Lu ou de ⁹⁰Y perdait alors une partie de son affinité pour CXCR4. C'est pourquoi, un dérivé du Pentixafor a dû être synthétisé. Il s'agit du Pentixather (3-iodo-D-Tyr-pentixafor) (61) . Grâce à cette substitution par un atome d'iode en position 3 de la tyrosine, l'affinité du Pentixather pour CXCR4 une fois complexé à un radionucléide (¹⁷⁷Lu ou ⁹⁰Y) est même supérieure à celle du Pentixafor (Figure 15). L'augmentation de la lipophilie causée par l'ajout d'un atome d'iode entraîne une plus grande liaison aux protéines plasmatiques, et retarde donc la clairance plasmatique, permettant une meilleure disponibilité pour la fixation sur les sites tumoraux.

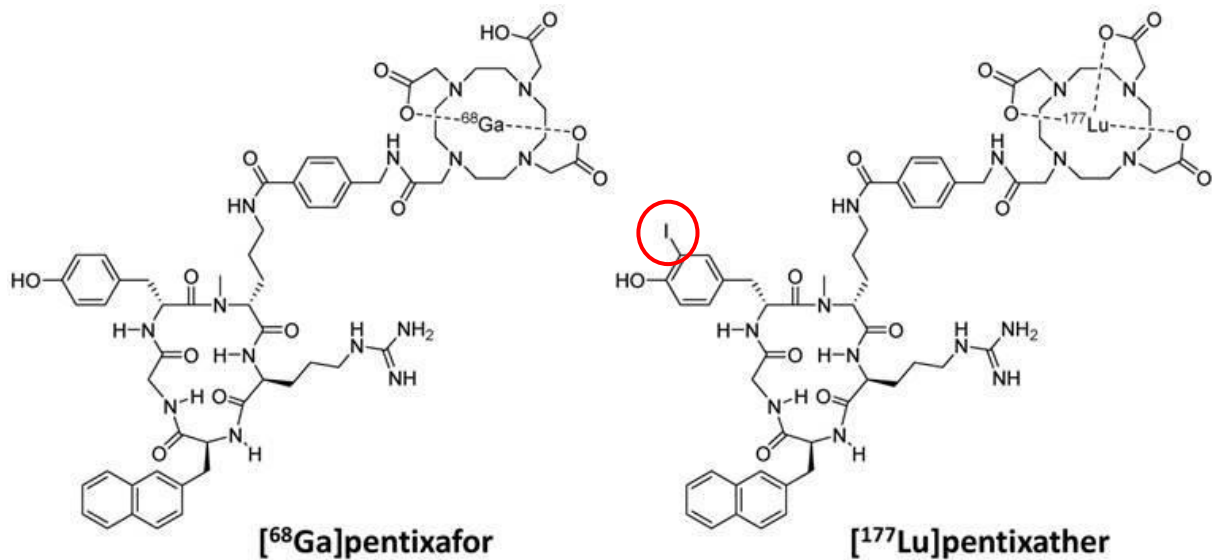


Figure 14 : Structure chimique du Pentixather comparée à celle du Pentixafor

Il s'avère que contrairement au parcours classique du développement d'un nouveau médicament, les essais précliniques portant sur le Pentixather ont été conduits parallèlement aux premières administrations à l'Homme. Cette particularité est rendue possible par la législation Allemande, qui autorise l'administration extrêmement précoce de médicament à l'Homme dans un cadre compassionnel.

Dans ce cadre, en 2016, une étude rapporte le traitement de 3 patients atteints de myélome multiple en rechute et échec de traitement. (62) Les patients ont d'abord bénéficié d'un TEP au [⁶⁸Ga]-Pentixafor afin de vérifier l'expression de CXCR4 par les cellules tumorales. Une dosimétrie pré-traitement a été effectuée après administration de 200 MBq de [¹⁷⁷Lu]-Pentixather. La dosimétrie montrant une dose délivrée aux reins relativement importante, un protocole de néphroprotection a été mis en place avec l'administration d'un mélange d'acides aminés (L-arginine et L-lysine) débutée 1h avant l'injection du MRP, et pendant 4h. Les patients 1 et 2 ont reçu respectivement 15,2 et 23.5 GBq de [¹⁷⁷Lu]-Pentixather. Le troisième patient ayant des masses tumorales plus importantes, a été traité par 6.3 GBq de [⁹⁰Y]-Pentixather. La réponse au traitement a été évaluée par une TEP/TDM au [¹⁸F]-FDG. Une réponse partielle avec une réduction de 35% du SUVmax sur l'ensemble des lésions a été obtenue chez le patient 1, et une réponse métabolique complète chez le patient 3 (Figure 15). De plus, la concentration en chaînes légères libres (marqueur sérique de suivi du myélome

multiple) a été divisée par deux chez ces deux patients après traitement. Le patient 2 est décédé suite à une complication infectieuse après la greffe de cellules souches autologues. Le traitement par RIV a en effet été suivi d'une chimiothérapie et greffe de cellules autologues. Aucun effet indésirable n'a été observé dans la semaine après le traitement, hormis la myélosuppression attendue. Malheureusement, les trois patients sont décédés après 6 mois, 3 semaines et 3 mois (patient 1, 2, 3).

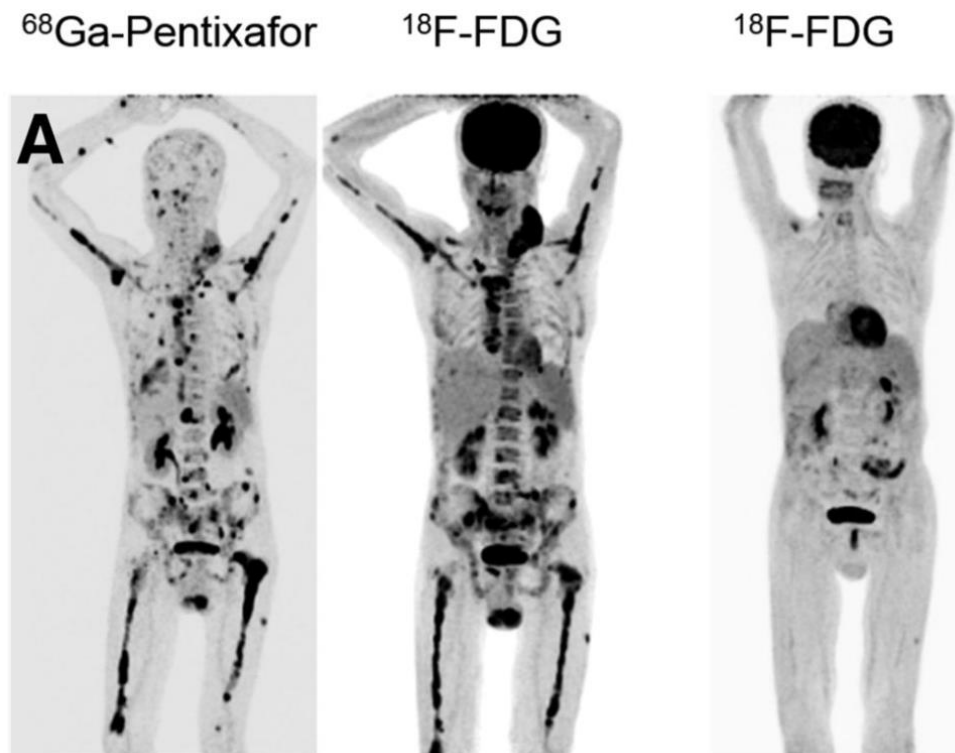


Figure 15 : Obtention d'une réponse métabolique complète chez le patient 3, 2 semaines après traitement par 1 injection de [⁹⁰Y]-Pentixather

En 2017, la même équipe a traité 8 patients atteints de myélome multiple en rechute, sans réponse aux traitements classiques. (63) Tous les patients ont reçu une injection de Pentixather, et un patient a reçu trois injections (10 injections, 6 de [¹⁷⁷Lu]-Pentixather, 4 de [⁹⁰Y]-Pentixather). L'activité administrée est choisie suite à une dosimétrie pré-traitement, de telle manière que la dose absorbée par le rein ne dépasse pas 23 Gray (organes dose limitant). Le traitement par RIV était suivi d'une chimiothérapie haute dose avant d'effectuer une greffe de cellules souches autologues. Comme attendu, tous les patients ont présenté une

myélosuppression entre 7 et 23 jours après le traitement (médiane = 11 jours). Un patient est mort treize jours après le traitement suite à un syndrome de lyse tumoral (avec un début à J+2), et un autre d'un sepsis à J=22. Un patient a présenté une rémission complète, et 5 patients une rémission partielle. Sur les 6 patients suivis, un patient est décédé de complications infectieuses, deux suite à la progression du MM, et les trois autres sont encore vivants, à J+241 pour deux patients et J+311 pour un patient. Sur la cohorte, la médiane de survie sans progression est de 54 jours (de 13 à 175), et la médiane de survie est égale à 223 jours (de 13 à 313 jours). Ces données sont résumées dans le Tableau 5. Ces données sont peu représentatives avec des écarts types importants étant donné l'effectif extrêmement réduit.

Tableau 5 : Radionucléide, activité injectée et données de survie pour les 8 patients traités

Patient	Activité injectée (GBq)	Radionucléide	Survie sans progression (jours)	Survie globale (jours)
1	15.2	¹⁷⁷ Lu	29	204
	4.6	⁹⁰ Y	41	
	4.5	⁹⁰ Y	38	
2	6.3	⁹⁰ Y	110	115
3	23.5	¹⁷⁷ Lu	22	22
4	7.8	¹⁷⁷ Lu	175	313
5	9.9	¹⁷⁷ Lu	86	311
6	7.6	¹⁷⁷ Lu	67	241
7	14.6	¹⁷⁷ Lu	120	241
8	2.6	⁹⁰ Y	13	13

Ces deux études, malgré un nombre limité de patients, démontrent la faisabilité d'une RIV au pentixather chez des patients atteints de MM en impasse thérapeutique. Exceptée la myélodépression attendue, un seul patient a été atteint d'un effet indésirable grave (syndrome de lyse tumorale), et plusieurs patients ont montré une réponse au traitement. Des études supplémentaires sont nécessaires afin d'avancer sur le choix du radionucléide, la place de la RIV dans la prise en charge du MM, les modalités de traitement (activité injectée, nombre de traitements) et son efficacité face aux traitements existants.

II. Synthèse d'un médicament radiopharmaceutique expérimental dans le cadre d'un essai clinique : exemple de l'essai Penti-MIDAS

1) La législation des Essais Cliniques et des médicaments radiopharmaceutiques

a. La recherche médicale en France

La recherche médicale, parce qu'elle s'intéresse au corps humain, est encadrée par des enjeux éthiques et déontologiques. Les grands principes de la bioéthique s'appliquent donc à la recherche médicale : la bienfaisance, la non malfaisance, le respect de l'autonomie et de la justice. Ces concepts ont été repris et transcrits dans des textes de loi afin d'en assurer le respect.

La loi Huriet Sérusclat (64), votée en 1988, définissait la recherche biomédicale comme étant « l'atteinte au corps des personnes qui s'y prêtent dans une finalité autre que thérapeutique ». Elle pose les premiers jalons de la recherche médicale en France et comble ainsi un vide juridique. Cette loi introduit notamment la notion de recueil du consentement libre et éclairé du patient avant sa participation à une étude. C'est suite à cette loi que les comités consultatifs des protections des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales (CCPPRB) sont créés.

La loi de Santé publique 2004 (65) correspond en grande partie à la transposition d'une directive européenne de 2001 dans les textes Français. Les rôles des promoteurs et investigateurs sont précisés, et la recherche est divisée en deux parties : la recherche interventionnelle et la recherche non-interventionnelle. L'avis du Comité de Protection des Personnes (CPP, anciennement CCPPRB), qui était consultatif, devient obligatoire.

La loi Jardé de 2012, modifiée en 2018 (66) a pour objectif de simplifier le cadre juridique de la recherche médicale, sans toutefois que la protection des personnes participant à la recherche en soit atteinte. On ne parle désormais plus de recherche biomédicale mais de recherche impliquant la personne humaine (RIPH). Les différents types de recherches sont désormais séparés en trois catégories (Figure 16) :

- La catégorie 3 représente les recherches non interventionnelles. Les actes, les médicaments et dispositifs médicaux utilisés le sont dans le même cadre qu'habituellement et la recherche ne modifie en aucun cas la prise en charge du patient.
- La catégorie 2 est relative aux recherches interventionnelles à risques et contraintes minimales. La liste précise des interventions correspondant à cette catégorie est définie dans l'arrêté du 12 Avril 2018 fixant la liste des recherches mentionnées au 2° article L.1121-1 du CSP. Il s'agit principalement de recherches n'impliquant pas de prise en charge médicamenteuse, mais plutôt par exemple des prélèvements de sang supplémentaires pour recueillir des données biologiques.
- La catégorie 1 regroupe les recherches interventionnelles, pour lesquelles l'intervention n'est pas justifiée par sa prise en charge habituelle. Cela correspond par exemple à l'administration de nouveaux médicaments expérimentaux, de nouvelles techniques de chirurgie ou à l'utilisation de nouveaux dispositifs médicaux innovants.

DÉMARCHES RÉGLEMENTAIRES EN FONCTION DU PROJET

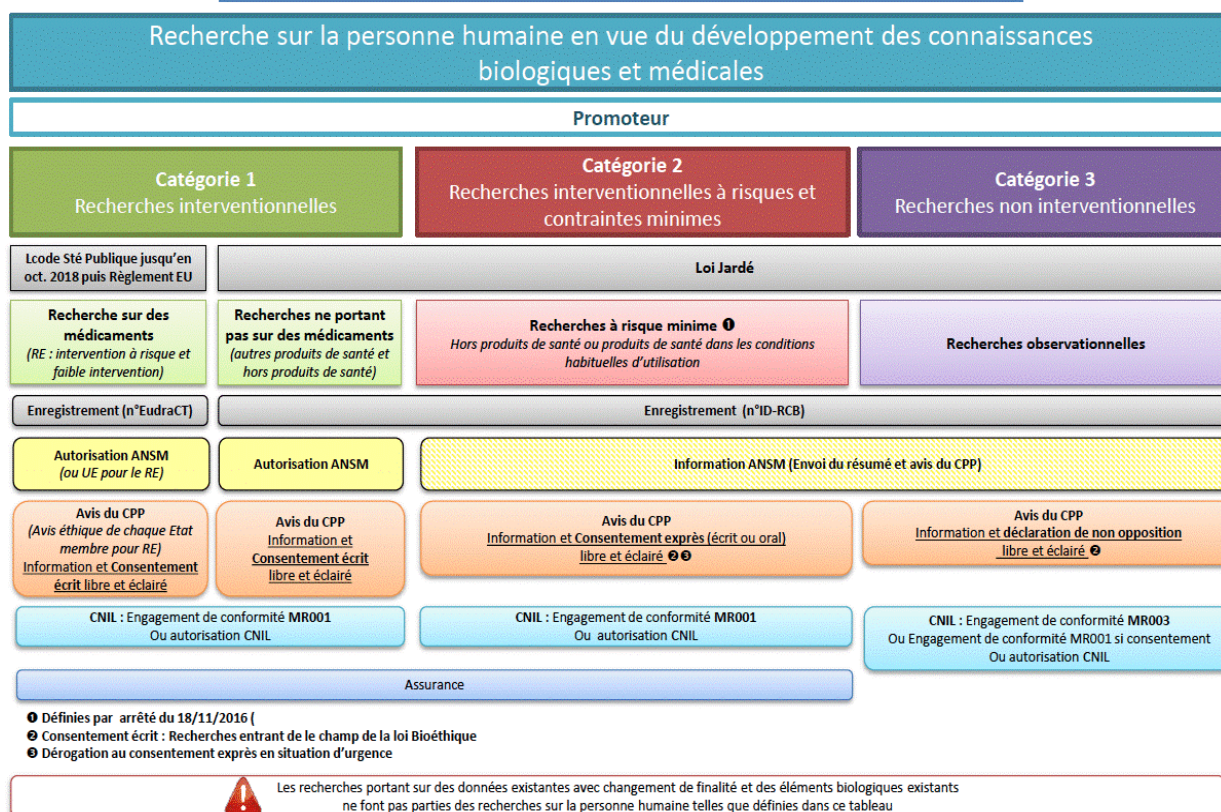


Figure 16 : Démarches réglementaires selon la catégorie de recherche impliquant la personne humaine

b. La recherche portant sur les médicaments expérimentaux

Avant d'être mis sur le marché, un médicament fait l'objet d'un développement long qui s'étale sur plusieurs années. Il s'agit tout d'abord de déterminer une cible, diagnostique ou thérapeutique, ayant un potentiel pour améliorer la prise en charge de patients atteints d'une pathologie définie. Puis, le développement à proprement parler du médicament peut commencer. Il peut être séparé en 5 grandes phases, qui durent en moyenne plus de 15 ans.

La recherche pré-clinique consiste à développer des nouvelles molécules d'intérêt, et d'en évaluer l'effet, d'abord *in vitro* sur des modèles cellulaires puis *in vivo* sur des êtres vivants non humains. L'expérimentation animale permet d'apporter des premières données pharmacodynamiques, pharmacocinétiques et toxicologiques. Dans le cas des MRP, la phase pré-clinique permet d'obtenir les premières données de dosimétrie chez le petit animal, en

fonction de la distribution du MRP dans l'organisme. Ces données peuvent être utilisées et extrapolées à l'Homme et sont indispensables avant d'envisager une première administration à l'Homme.

Après la validation de l'intérêt et de l'innocuité d'une molécule chez l'animal, son développement clinique se déroule en 4 phases. La phase I correspond à la première administration chez l'homme. La substance active est administrée à des sujets sains, à doses croissantes et sur des petits effectifs (en général 10 à 50 personnes). Le but est de déterminer la dose maximale tolérée, les différents modes d'administrations possibles, et d'obtenir des premières données pharmacocinétiques. En oncologie, la phase I est légèrement différente puisque le principe actif est le plus souvent administré à des patients atteints d'un cancer. En effet, les anti-cancéreux sont souvent trop toxiques pour être administrés à des sujets sains. De plus, le médicament peut permettre d'aider des patients en impasse thérapeutique. Dans la plupart des cas, les médicaments en oncologie sont donc administrés dès la phase I à des patients atteints d'une pathologie. Les MRP à visée diagnostique sont le plus souvent dénués d'effets pharmacologiques, ils peuvent ainsi être administrés à des sujets sains sans autres risques que l'irradiation, inhérente à leurs modes d'action. Dans le cas des MRP, la phase I permet également de recueillir les premières données de dosimétrie chez l'Homme. La dosimétrie interne permet de déterminer l'énergie absorbée par unité de masse, appelée dose absorbée. Elle dépend principalement du rayonnement émis (énergie et type de rayonnement), de la demi-vie du radionucléide, de l'activité injectée et de la distribution du MRP dans l'organisme. Ces calculs font intervenir le formalisme du MIRD (Medical Internal Radiation Dose). La plupart des MRP diagnostiques étant dénués d'effets indésirables significatifs d'origines pharmacologiques, la dosimétrie est alors un des paramètres clé de l'évaluation de la balance bénéfice/risque.

La phase II des essais cliniques a pour but d'évaluer l'effet pharmacologique du principe actif. Il s'agit de la première administration à des sujets malades (sauf exception comme expliqué auparavant). Elle permet d'établir la dose minimale efficace, de continuer à obtenir des données sur la pharmacocinétique et la tolérance. Là encore l'effectif du groupe de patients sera relativement faible (entre 10 et 100 sujets). Le but est d'observer si la maladie affecte les propriétés du médicament (pharmacocinétique, tolérance...) et d'établir les protocoles

définitifs qui seront utilisés lors de la phase III (activité injectée, protocole d'imagerie dans le cadre des MRP).

La phase III est la dernière étape avant d'obtenir, ou non, l'autorisation de mise sur le marché. Le nombre de patients inclus est bien supérieur (plusieurs centaines ou plusieurs milliers). La molécule active est le plus souvent comparée à un médicament de référence s'il existe. Dans le cas de l'évaluation d'un MRP, celui-ci est comparé aux techniques d'imageries et d'anatomo-pathologie de référence. La comparaison peut avoir lieu en simple ou double aveugle. Pour un MRP à visée diagnostique, les critères principaux sont la sensibilité et spécificité de l'examen dans une indication donnée. Pour un MRP à visée thérapeutique en oncologie, les critères principaux sont en général la survie globale et la survie sans progression. Elle permet de conclure quant à l'efficacité du médicament (supériorité ou non infériorité par rapport au médicament de référence) et à sa tolérance, et donc d'évaluer la balance bénéfice/risque. Il s'agit le plus souvent d'essais multicentriques afin d'inclure un nombre suffisant de patients, et qui durent plusieurs années.

La phase IV correspond à l'étape post-commercialisation du médicament. Elle a pour but de vérifier la sécurité du médicament en condition réelle d'usage, et de détecter des effets indésirables rares ou des interactions médicamenteuses qui n'auraient pas été détectées en phase III. Elle dure aussi longtemps que le médicament est commercialisé.

c. Les autorisations et la mise en place d'un essai clinique portant sur un médicament expérimental radiopharmaceutique

Les médicaments radiopharmaceutiques sont définis selon l'article L.5121-1 du code de la santé publique comme « tout médicament, qui lorsqu'il est prêt à l'emploi, contient un ou plusieurs radionucléides, incorporés à des fins médicales »(67). De par leur nature, les MRP doivent donc respecter la législation des médicaments dont les autorités compétentes sont l'ANSM et l'ARS, et la législation des produits radioactifs dont l'autorité compétente est l'autorité de sûreté nucléaire (ASN). Pour pouvoir détenir, préparer, et délivrer un MRP, la pharmacie à usage intérieur (PUI) de l'hôpital doit détenir une autorisation délivrée par l'ARS. Cette activité est classée comme activité à risques particuliers, et l'autorisation est délivrée pour une durée maximale de 7 ans. Par application du nouveau décret relatif aux pharmacies à usage intérieur, toutes les PUI exerçant des activités comportant des risques particuliers au

23 mai 2019, dont la préparation de médicaments radiopharmaceutiques, devront être titulaires d'une nouvelle autorisation au plus tard le 31 décembre 2023.(68) De plus, le responsable du service de médecine nucléaire doit posséder une autorisation de détenir, d'utiliser ou de fabriquer des sources radioactives non scellées auprès de l'ASN. Cette autorisation est délivrée pour une durée maximale de 5 ans, et est renouvelable.

Le médicament expérimental est défini dans le CSP article L.5121-1-1 comme « un médicament expérimenté ou utilisé comme référence, y compris comme placebo, lors d'un essai clinique ». Un médicament radiopharmaceutique utilisé dans le cadre de la recherche impliquant la personne humaine doit donc répondre à cette définition, ainsi qu'à celle du MRP. Une PUI réalisant des préparations rendues nécessaires par les recherches impliquant une personne humaine, y compris la préparation de médicaments radiopharmaceutiques expérimentaux doit détenir une autorisation spécifique délivrée par l'ARS.

D'après la loi Jardé de 2012 et ses modifications (2016 et 2017), pour être mise en œuvre en France, une RIPH doit obtenir un avis favorable du CPP, désigné de façon aléatoire, et une autorisation de l'ANSM lorsqu'il s'agit d'une RIPH de catégorie I. L'ANSM se prononce sur la sécurité de l'essai vis-à-vis de la sécurité et de la qualité des produits utilisés, de leurs conditions d'utilisation, des actes pratiqués et des méthodes utilisées. Le CPP rend son avis sur la protection des personnes, notamment sur l'obtention du consentement éclairé, et de l'adéquation entre les objectifs poursuivis et les moyens mis en œuvre. Pour la mise en place d'un essai en France, le demandeur doit :

- obtenir un numéro d'identification de l'essai via la base européenne EudraCT.
- transmettre le dossier d'autorisation d'essai clinique à l'ANSM
- transmettre le dossier de demande d'avis au CPP choisi

Le dossier d'autorisation d'essais cliniques comporte de nombreuses parties, notamment un formulaire de demande, le protocole de l'essai clinique et le dossier du médicament expérimental le cas échéant.

Le nouveau règlement européen en application en France depuis le 31 Janvier 2022, prévoit une évaluation centralisée de la partie scientifique (partie I) des demandes d'autorisation d'essais cliniques *via* la nouvelle plateforme CTIS (clinical trial information system). La

coordination de l'évaluation scientifique est assurée par un état membre rapporteur (EMR), désigné parmi les états membres dans lesquels l'essai clinique est mené (EMC). La partie éthique (partie II), reste évaluée au niveau national. Chaque comité éthique des états membres participant à l'essai clinique (en France le CPP) rend donc un avis. Suite au dépôt de dossier, le délai d'évaluation est de 60 jours (pour la partie I et la partie II). Ce nouveau règlement européen s'applique à tous les essais cliniques interventionnels sur le médicament conduits dans l'Union Européenne. Entre le 31 Janvier 2022 et le 31 Janvier 2023, les promoteurs pourront choisir de déposer les nouvelles demandes conformément à la loi Jardé ou au nouveau règlement européen. A partir du 31 Janvier 2023, tous les nouveaux essais devront être déposés selon le nouveau règlement européen en vigueur, résumé dans la Figure 17.

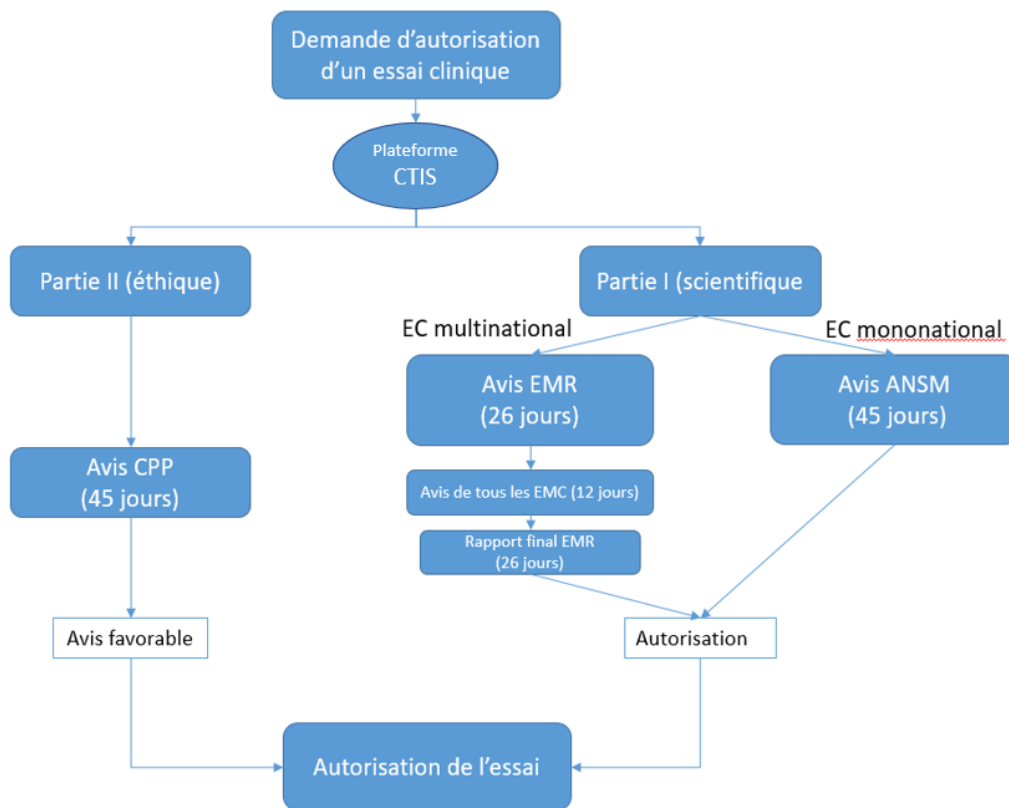


Figure 17 : Déroulement d'une demande d'autorisation d'essai clinique en France d'après le nouveau règlement européen

2) Contenu du dossier de médicament expérimental

Le dossier de médicament expérimental (DME), ou « Investigational Medicinal product dossier (IMPD) » en anglais, est un des éléments clé du dossier d'autorisation d'essai clinique pour une recherche RIPH de catégorie I impliquant l'évaluation d'un médicament expérimental. Il doit obligatoirement être rendu complet, et validé par l'ANSM pour tout nouveau médicament expérimental en vue d'une administration à l'Homme. En France, dans le cadre des MRP, l'ANSM exige également la rédaction d'un DME pour obtenir l'autorisation de la préparation de MRP à statut particulier comme l'accès compassionnel. En revanche, si le médicament utilisé possède déjà une AMM, la soumission d'un DME n'est pas nécessaire.

Dans le cas d'un DME déjà validé par l'ANSM, et si la préparation est réalisée selon la même procédure, seuls trois lots de production sont nécessaires afin d'obtenir l'autorisation de préparation d'un médicament expérimental radiopharmaceutique pour une PUI. Ces trois lots permettent de démontrer la capacité de la radiopharmacie à préparer le MRP selon les BPP et le DME validé.

Le DME est construit sur la même base que le dossier d'AMM, en trois grandes parties (Annexe 1) :

- Partie 1 : Qualité pharmaceutique
- Partie 2 : Données non cliniques
- Partie 3 : Données cliniques

Le DME doit démontrer la qualité pharmaceutique du produit fini, ainsi que sa sécurité d'utilisation. Un guide de l'European Medicines Agency (EMA) (69), « Guideline on the requirements to the chemical and pharmaceutical quality documentation concerning investigational medicinal product in clinical trials » fait référence pour la rédaction du DME. Etant donné les particularités des MRP, il existe également des recommandations plus spécifiques de l'EANM sur la préparation du DME pour un médicament expérimental radiopharmaceutique. (70)

a. Partie I du DME : qualité pharmaceutique

La première sous partie concerne la substance active. La définition de la substance active peut parfois être complexe en médecine nucléaire. Dans le cas d'un radiopharmaceutique en « kit » ou « trousse », la molécule avant radiomarquage est considérée comme une substance active. Dans le cas de l'utilisation d'un générateur, l'isotope père et l'isotope fils sont également considérés comme des substances actives. Dans cette première partie, la nomenclature et la structure du produit fini doivent être précisées.

Les propriétés physico-chimiques de la substance active sont également décrites, comme la solubilité, le pKa, le log P, ainsi que la demi vie et le schéma de décroissance du radionucléide utilisé. Pour des raisons de radioprotection, les caractéristiques physico-chimiques peuvent être étudiées sur une substance non radioactive, ou froide, ayant des propriétés les plus similaires possible à celle de la molécule après radiomarquage. Dans le cas de MRP radiomarqués au ^{68}Ga , les études sont donc en général réalisées à l'aide de Gallium naturel stable (mélange des isotopes 69 et 71).

Ensuite, le nom du ou des fabricants et l'ensemble du procédé de fabrication doivent être renseignés. Les différentes étapes de synthèse sont détaillées, et le grade pharmaceutique des matières premières utilisées doit être justifié, ainsi que les contrôles effectués sur celles-ci si nécessaire.

Les contrôles qualités effectués sur le produit fini (caractérisation des impuretés, pureté chimique, radiochimique et radio-isotopique entre autres) doivent également être décrits. Les méthodes de contrôles analytiques utilisées doivent au préalable faire l'objet d'une validation de méthode.

b. Partie 2 du DME : données non cliniques

La partie 2 du DME comprend l'ensemble des données non cliniques pharmacodynamiques, pharmacocinétiques et toxicologiques. Ces données sont issues de modèles *in vitro* et *in vivo* chez l'animal. Les MRP sont le plus souvent injectés dans une quantité dite « microdosée ». La microdose est définie comme étant une dose inférieure à 100 µg et à 1/100 de la NOAEL (dose sans effet toxique observable). Grâce à ce statut, les données à fournir dans cette partie sont simplifiées par rapport à un médicament non radiopharmaceutiques. Par exemple, les études de génotoxicité et carcinogénicité ne sont pas nécessaires dans ce cadre. A la différence des

médicaments non radiopharmaceutiques, des données dosimétriques doivent cependant être mesurées, calculées et indiquées dans cette partie du DME.

c. Partie 3 du DME : données cliniques

La partie 3 renseigne sur les données cliniques issues d'essais cliniques déjà menés chez l'Homme. La rédaction de cette partie implique donc l'existence d'essais cliniques déjà menés, ce qui n'est pas forcément le cas. Elle est donc facultative.

3) L'essai clinique Penti-MIDAS

Le myélome multiple représente environ 1% des cancers dans le monde, et 10% à 12% des cancers hématologiques. Malgré des innovations thérapeutiques récentes, le MM reste une pathologie incurable. Le myélome est ainsi une maladie chronique, avec une alternance de phase de rémissions et de rechutes. Le suivi des patients atteints de MM est donc un enjeu majeur dans la prise en charge de cette maladie. Pour ces différentes raisons, La prise en charge du MM fait l'objet de nombreux essais cliniques. L'essai MIDAS est un essai multicentrique de phase III, intitulé « Stratégie de traitement adaptée à la maladie résiduelle : traitement de patients de moins de 66 ans, atteints de myélome multiple nouvellement diagnostiqués et éligibles à une autogreffe ». La place de l'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques dans la prise en charge de patients atteints de myélome multiple est en effet encore mal définie. Le but de cet essai est d'adapter la prise en charge, et notamment la mise en place d'une autogreffe, en fonction de la maladie résiduelle obtenue après 6 cycles de chimiothérapie d'induction par Isatuximab, Carfilzomib, Lenalidomide et Dexaméthasone.

L'essai clinique multicentrique de phase II Penti-MIDAS complète l'essai MIDAS, et est intitulé « Étude évaluant la pertinence du [⁶⁸Ga]-Pentixafor pour la stadification initiale et la détection d'une maladie résiduelle minimale chez les patients atteints de myélome multiple éligibles à une autogreffe de cellules souches, âgés de moins de 66 ans et inclus dans l'étude prospective MIDAS ».

Le [¹⁸F]-FDG, en tant que traceur non spécifique, a montré des limites pour le diagnostic et le suivi thérapeutique des patients atteints de myélome multiple.(56) D'après plusieurs études,

le [⁶⁸Ga]-Pentixafor montre une meilleure sensibilité et spécificité que le [¹⁸F]-FDG pour l'imagerie du myélome multiple. (71) (72) L'étude Penti-MIDAS a donc pour but de comparer la pertinence du [⁶⁸Ga]-Pentixafor par rapport au [¹⁸F]-FDG dans cette indication. Cette étude permettra de confirmer l'intérêt de ce nouveau MRP, mais également d'approfondir les connaissances sur le rôle des récepteurs CXCR4 dans la pathogénèse du MM, et d'ouvrir la voie vers une approche théranostique du myélome multiple.

L'objectif principal est donc d'évaluer la sensibilité du [⁶⁸Ga]-Pentixafor pour la détection des lésions de MM au diagnostic initial des patients à haut risque. Les objectifs principaux sont, entre autres, la détermination de la spécificité, de la valeur prédictive positive et négative, l'apport pronostique du [⁶⁸Ga]-Pentixafor et les divergences entre l'imagerie au [⁶⁸Ga]-Pentixafor et au [¹⁸F]-FDG.

Afin de conduire cette étude, le protocole de l'essai (Figure 18) prévoit d'inclure 45 patients issus de l'essai MIDAS qui bénéficieront d'un TEP au [¹⁸F]-FDG puis au [⁶⁸Ga]-Pentixafor avant et après la quadrithérapie d'induction par isatuximab, carfilzomib, lenalidomide et dexaméthasone. Le [⁶⁸Ga]-Pentixafor est obtenu par radiomarquage du Pentixafor au sein d'une radiopharmacie puis injecté au patient avec une activité de 100 à 200 MBq pour moins de 20 µg de Pentixafor. La sensibilité et la spécificité seront évaluées selon les résultats des deux TEP et de la comparaison à l'imagerie TDM, IRM et à l'histologie.

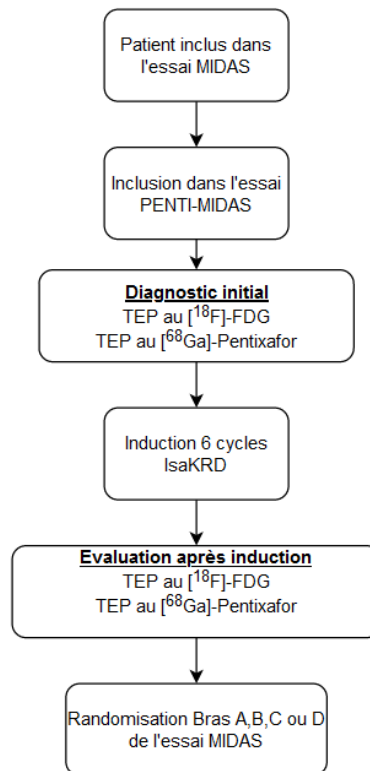


Figure 18 : Déroulement de l'essai Penti-MIDAS

La synthèse du $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor dans le cadre de l'essai clinique nécessite donc la validation d'un DME par l'ANSM. Dans le cadre de cet essai, le DME a été rédigé par la radiopharmacie du CHU de Nantes, promoteur de l'essai clinique, et validé par l'ANSM. Afin de participer à l'essai, le CHU de Bordeaux doit donc fournir trois lots de validations de synthèse du $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor. La différence principale de l'étape de radiosynthèse au CHU de Bordeaux réside en l'utilisation d'un générateur de ^{68}Ga et d'un module de synthèse différents de ceux du CHU de Nantes, ayant rédigé le DME. La radiochimie du ^{68}Ga étant complexe et sensible à de nombreux paramètres, ces changements nécessitent donc des adaptations dans le processus de synthèse.

La principale différence réside dans le générateur de ^{68}Ga . Le CHU de Nantes est équipé d'un générateur Galliapharm, avec un volume d'élution de 5 mL d'acide Chlorhydrique (HCl) 0,1M. Le CHU de Bordeaux étant équipé d'un générateur GalliAd, le volume d'élution est de 1,1mL. La quantité d'acide chlorhydrique à tamponner afin d'arriver à un pH propice au radiomarquage est donc totalement différente. Il est ainsi nécessaire d'adapter la

concentration et le volume de tampon utilisé. Le pH étant l'un des éléments clés d'un radiomarquage au ^{68}Ga , il est alors indispensable de modifier le processus de préparation afin d'obtenir des conditions adéquates. L'utilisation de l'équation permettant de déterminer le pH d'une solution tampon, soit $pH = pKa + \log\left(\frac{B}{A}\right)$ a permis de déterminer la quantité de tampon acétate ($pKa=4,7$) à ajouter afin d'obtenir un milieu réactionnel avec un pH proche de 4 afin d'optimiser le radiomarquage.

III. Préparation du [^{68}Ga]-Pentixafor à la radiopharmacie du CHU de Bordeaux

1) Processus de préparation et matériels et réactifs utilisés

a. Le radiomarquage du Pentixafor

Depuis le début de son développement, plusieurs méthodes de préparation du [^{68}Ga]-Pentixafor ont été décrites dans la littérature. (73) (74) Les étapes principales de la préparation restent sensiblement similaires :

- obtention d'une solution de ^{68}Ga (*via* un générateur ou un cyclotron)
- mise en contact du ^{68}Ga et du précurseur chimique dans une solution tamponnée
- réaction de complexation par une augmentation de la température
- purification de la solution
- stérilisation terminale par filtration

La préparation du [^{68}Ga]-Pentixafor peut donc être décomposée en plusieurs étapes. Certaines étapes sont manuelles et d'autres sont automatisées. En effet, les propriétés physiques du ^{68}Ga rendent sa manipulation particulièrement irradiante pour l'opérateur, en particulier pour les extrémités, le corps étant protégé par l'enceinte blindée durant la préparation. Une étude effectuée au CHU de Bordeaux (75) montre que l'utilisation d'un module de synthèse semi-automatisé permet de respecter la réglementation en vigueur en termes de radioprotection des opérateurs lors de synthèse de peptide radiomarqué au ^{68}Ga . La plupart des étapes de synthèses se déroulent donc à l'aide d'un module de synthèse semi-automatisé, précédées de plusieurs étapes manuelles.

La radiopharmacie du CHU de Bordeaux a donc mis au point une méthode de préparation adaptée au matériel présent sur site (Figure 19). Le précurseur chimique, soit 50 µg de Pentixafor sous forme de poudre lyophilisée, est tout d'abord reconstitué à l'aide d'un tampon en condition aseptique. Les tampons utilisés pour la radiochimie du ^{68}Ga doivent permettre d'obtenir un pH du milieu réactionnel entre 3,5 et 4,5 afin d'optimiser le rendement de synthèse et éviter la formation d'impuretés. Plusieurs tampons sont commercialisés et utilisés dans ce cadre. Le tampon choisi pour la synthèse du ^{68}Ga -Pentixafor est un tampon acétate de sodium (CH_3COONa) à une concentration de 0,8 M. En effet, ce tampon est facilement accessible à une qualité pharmaceutique, et a montré une efficacité certaine pour la radiochimie du ^{68}Ga . La solution tampon est préparée de façon extemporanée. Le procédé de préparation consiste à peser puis solubiliser de l'acétate de sodium trihydraté sous forme de poudre (qualité pharmaceutique) dans de l'eau pour préparation injectable. La solution est ensuite filtrée à travers un filtre 0.22 µm pour garantir sa stérilité.

Une solution d'éthanol 100% est également conditionnée manuellement via un procédé aseptique et fait l'objet d'une filtration stérilisante.

Une fois la reconstitution, la préparation et le conditionnement de la solution d'éthanol effectués manuellement, le module de synthèse peut être préparé. Une cassette de synthèse est donc montée sur l'automate, ainsi que les réactifs et solutés nécessaires à la synthèse. Les connexions de la cassette et du module font l'objet d'un contrôle attentif afin d'éviter toute fuite pendant la synthèse. Plusieurs étapes de contrôle automatisées, pilotées depuis le logiciel de contrôle de l'automate sont effectuées afin de vérifier l'étanchéité et la validité du système.

La synthèse à proprement parler peut ensuite être lancée *via* le logiciel de contrôle du module automatisé. Le précurseur reconstitué est mis en contact avec une solution de chlorure de ^{68}Ga obtenue par élution d'un générateur $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ par 1,1 mL d'acide chlorhydrique (HCl) 0,1 M. Le $^{68}\text{Ga}^{3+}$ contenu dans le générateur devient du chlorure de gallium $^{68}\text{GaCl}_4^-$ au contact de la solution d'HCl 0,1 M, sans affinité pour la colonne du générateur, et est donc éluée.

Le milieu réactionnel contenant le précurseur chimique et le $^{68}\text{GaCl}_4^-$ est ensuite chauffé à environ 95°C pour une durée de 10min grâce à un bain-marie sec. Le bain marie monte tout

d'abord à une température de 120°C pendant 2 minutes, puis 95°C pendant 7 minutes. Le premier bloc de chauffage permet d'atteindre rapidement la température cible. Cette étape permet d'optimiser la complexation et les rendements de réaction.

La solution de [⁶⁸Ga]-Pentixafor est ensuite purifiée par extraction en phase solide sur une cartouche phase inverse "HLB", préalablement activée par une solution d'éthanol. Les polymères C18 contenus dans la cartouche retiennent le [⁶⁸Ga]-Pentixafor sans retenir le ⁶⁸Ga³⁺ libre, directement élué dans un récipient poubelle. Le ⁶⁸Ga hydrolysé est quant à lui bloqué à l'entrée de la colonne. La colonne est ensuite éluee par de l'éthanol qui permet de décrocher le [⁶⁸Ga]-Pentixafor. La dernière étape est une filtration stérilisante sur un filtre 0,22µm, puis la dilution avec une solution de NaCl 0,9%. Le produit final contient donc le [⁶⁸Ga]-Pentixafor, dilué dans une solution de NaCl 0,9%, avec une certaine proportion d'éthanol, de tampon acétate et d'impuretés de synthèse. Le produit fini correspond à 10 mL d'une solution de [⁶⁸Ga]-Pentixafor ayant une activité volumique comprise entre 30 et 100 MBq/mL.

L'activité du MRP final est ensuite mesurée dans un activimètre, et le MRP peut être enregistré dans le système informatique dédié.

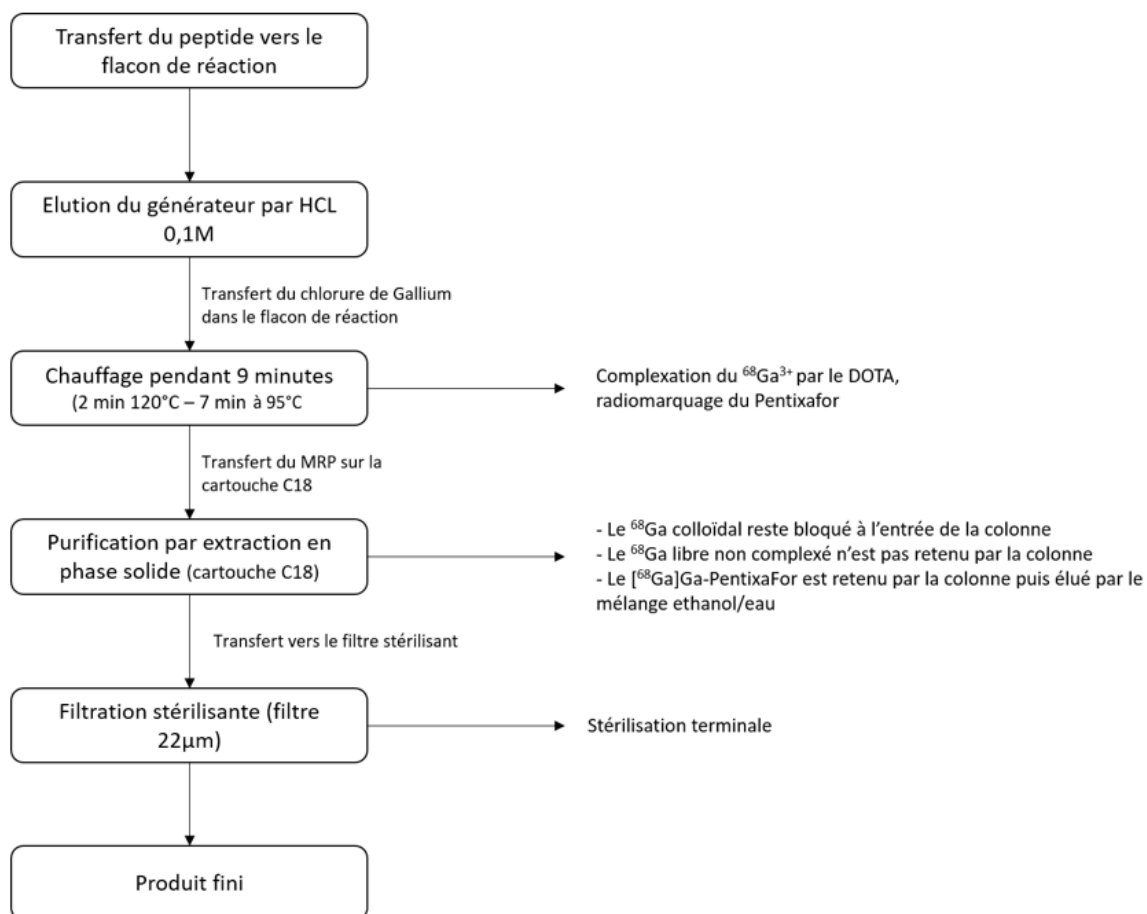


Figure 19 : Schéma des étapes de synthèse du $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor

L'ensemble des étapes automatisées est contrôlé et piloté *via* un logiciel relié au module de synthèse. La séquence de synthèse est donc déterminée et écrite en amont. Afin de s'assurer de sa justesse, une ou plusieurs préparations « à blanc » ont été effectuées, en remplaçant les différentes matières premières par de l'eau ou du sérum physiologique. Cette étape est indispensable pour mettre en avant des erreurs lors de l'écriture de la séquence de synthèse, comme un mauvais temps ou température de chauffage, ou une erreur dans l'enchaînement des étapes.

Le processus de synthèse présente plusieurs différences avec le processus élaboré par le CHU de Nantes (76), ayant rédigé le DME dans le cadre de la promotion de l'essai Penti-MIDAS. Tout d'abord, l'automate de synthèse est différent et le logiciel le pilotant également. Il a donc été nécessaire de réécrire et tester la séquence dans son entièreté. Le protocole du CHU de Nantes intègre une étape de pré-purification de l'éluat en sortie de générateur. Etant donné les données de la littérature, le volume d'éluat du générateur GalliaAd et les caractéristiques

de générateurs de dernière génération, le choix a été fait de ne pas procéder à une pré-purification au CHU de Bordeaux.

Plusieurs étapes de contrôles sont nécessaires tout au long de la préparation du $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor. En effet, la préparation semi-automatisée ne permet pas de s'affranchir d'un risque d'erreur ou d'accident lors de la synthèse. Un contrôle visuel est donc effectué tout au long de la préparation par l'opérateur afin de s'assurer de l'enchaînement des étapes et de l'absence de fuites dans le système. Le logiciel de contrôle du module permet de vérifier en temps réel les courbes de pression au sein du système (Figure 20). L'éluion du générateur entraînée par la dépression peut donc être contrôlée. De la même manière, une courbe de température permet de s'assurer que le bain-marie monte à la bonne température et ce pendant la durée voulue. Enfin, l'intégrité du filtre 0.22 μm doit être validée en fin de synthèse. Le moyen le plus simple et le moins irradiant est d'effectuer un test dit de maintien de pression qui mesure les variations de pressions causées par la diffusion du gaz à travers le filtre. Pour cela, la cassette est d'abord mise sous une pression définie. Si le filtre est intègre, les échanges de gaz sont limités, et la pression doit rester supérieure à une valeur définie pendant une durée minimale de 1 minute. Ce test est critique car si non conforme, la stérilité du produit finale ne peut être garantie, et le MRP ne peut donc pas être administré.

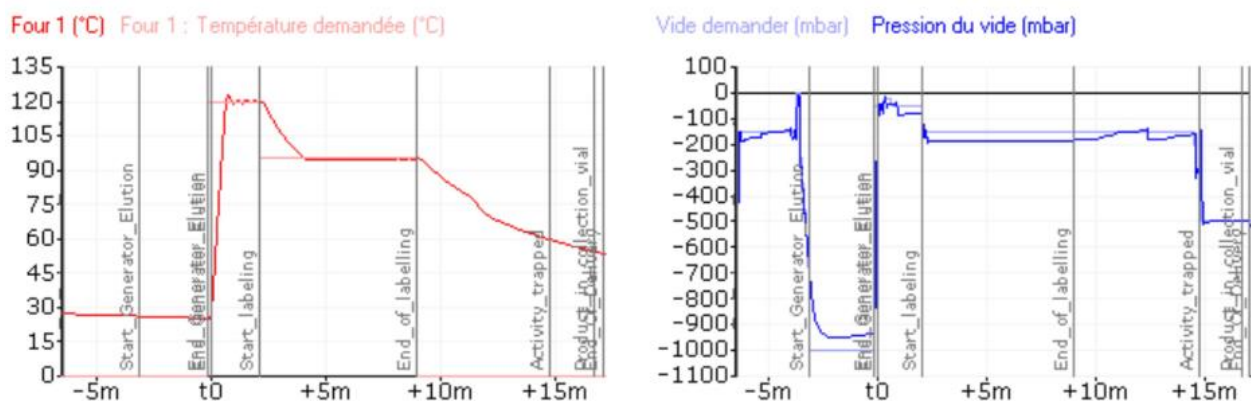


Figure 20 : Exemple de courbes de température et de pression obtenues lors d'une synthèse de $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor

b. Matériels et réactifs utilisés

Il existe aujourd'hui en France deux générateurs de ^{68}Ga ayant une AMM (tableau 6) :

- GALLIAPHARM® de la société ECKERT & ZIEGLER (77)
- GalliAd® de la société IRE ELIT (78)

La principale différence entre ces deux générateurs réside dans le volume d'élution : 1,1 mL pour GalliAd®, 5mL pour GALLIAPHARM®, et la présence d'une poche d'acide chlorhydrique intégrée pour le GALLIAD, alors que l'HCl de GALLIAPHARM® est fourni séparément. La radiopharmacie du CHU de Bordeaux est équipée d'un générateur GalliAd® 1,85 GBq calibré au 28/04/2022.

Tableau 6 : Comparaison des deux générateurs de ^{68}Ga ayant une AMM en France

	GalliAd®	GALLIAPHARM®
Activité en ^{68}Ge	0.74 à 1.85 GBq	0.74 à 1.85 GBq
Colonne	TiO ₂	TiO ₂
Eluant	HCl 0,1 M	HCl 0,1 M
Volume d'élution	5 mL	1,1 mL
Rendement d'élution	>55% selon le RCP	>60% selon le RCP
Présence de ^{68}Ge	<0.001%	<0.001%

Toutes les synthèses de ^{68}Ga -Pentixafor ont été réalisées à l'aide d'un automate miniAllinOne® de la société Trasis. L'automate est composé de plusieurs valves, de deux pousses seringues et d'un bain-marie sec. Deux détecteurs de radioactivité permettent de suivre en temps réel l'activité au niveau du bain-marie et de la cartouche de purification. Une cassette à usage

unique fournie par la société Trasis est fixée sur l'automate afin de réaliser les différentes étapes de synthèse.

L'ensemble de ces équipements est placé dans une enceinte blindée MEDI 9000 RECHERCHE haute énergie de classe A, en dépression, avec un activimètre calibré et contrôlé selon les recommandations de l'ASN, et 4 ronds de gants.

Le précurseur chimique DOTA-Pentixafor est fourni par la société ABX GmbH en qualité pharmaceutique dans des flacons de 50 µg. L'éthanol grade pharmaceutique est acheté auprès de la société Merck.

Le tampon acétate est préparé avant la synthèse en condition aseptique sous une hotte à flux laminaire à partir de poudre d'acétate de sodium trihydraté de qualité pharmaceutique. Pour obtenir une solution à 0,8 mol/L, 0,109g d'acétate de sodium sont dilués dans 1mL d'eau ultrapure.

2) Contrôles qualité du [⁶⁸Ga]-Pentixafor

Suite à la synthèse radiochimique, un ensemble de contrôles qualité (CQ) permet la libération par le radiopharmacien du MRP avant injection à l'homme. Les contrôles qualité réalisés à la radiopharmacie du CHU de Bordeaux reprennent les CQ décrits dans le DME du laboratoire PentixaPharm, et sont établis selon les recommandations de la Pharmacopée Européenne. La monographie du [⁶⁸Ga]-Pentixafor n'étant pas décrite, les contrôles qualité sont réalisés selon les monographies existantes (éluat de ⁶⁸Ga, édotrétotide marqué au ⁶⁸Ga) et les spécifications du laboratoire.

a. Caractères organoleptiques

Les caractères organoleptiques sont les premiers et les plus simples à être vérifiés. La solution de [⁶⁸Ga]-Pentixafor doit être limpide, incolore, et sans particules visibles. Le respect de ces caractéristiques est vérifié visuellement à l'œil nu.

b. Pureté radiochimique et identification du produit fini

La pureté radiochimique est définie comme un rapport, exprimée en pourcentage, de la radioactivité émanant du radionucléide sous sa forme chimique indiquée, par rapport à la radioactivité totale de l'échantillon. Dans le cadre de la préparation du [⁶⁸Ga]-Pentixafor, la pureté radiochimique est déterminée grâce à deux méthodes différentes, la chromatographie liquide haute performance (HPLC), et la chromatographie sur couche mince (CCM).

La méthode HPLC utilisée pour le [⁶⁸Ga]-Pentixafor a été établie par le laboratoire PentixaPharm. Il s'agit d'une méthode utilisant une colonne chromatographie C18 en phase inverse, avec un débit de 1 mL/min pour un run de 11 minutes. La détection UV est opérée à 220nm. Deux phases mobiles sont utilisées avec un gradient évoluant au cours du temps (tableau 7) :

- mélange eau/acide trifluoroacétique (1000/1 vol/vol)
- mélange acétonitrile/acide trifluoroacétique (1000/1 vol/vol)

Tableau 7 : Gradient de solvant de la séquence HPLC utilisée

Temps (min)	Eau/TFA 0,1%	Acétonitrile/TFA 0.1%
0	80.0	20.0
9	50.0	50.0
10	50.0	50.0
11	80.0	20.0

L'identification du produit fini est indiquée par les temps de rétention (Tr) sur les chromatogrammes UV et radiochromatogramme. Le temps de rétention UV est comparé à celui d'une référence froide, et doit être compris dans un intervalle de plus ou moins 10% de celui-ci. Dans ces conditions chromatographiques, le Tr est normalement compris entre 4 et 6 minutes. Le temps de rétention relatif (écart par rapport au Tr de référence) doit donc être compris entre 0.9 et 1.1

La pureté radiochimique (PRC) est ensuite déterminée par intégration des pics du radiochromatogramme, et doit être supérieure à 94%. Elle correspond au rapport de radioactivité du MRP dans sa forme chimique voulue, sur la radioactivité totale du produit fini.

Les deux principales impuretés radioactives issues de la synthèse sont le ^{68}Ga libre ($^{68}\text{Ga}^{3+}$), et le ^{68}Ga hydrolysé, ou colloïdal. Les colloïdes étant bloqués à l'entrée de la colonne, l'HPLC ne permet pas de quantifier cette impureté. Une impureté peut être qualifiée comme telle si sa proportion est supérieure à 0.1%.

La deuxième technique analytique utilisée est la chromatographie sur couche mince (CCM). Cette technique a l'avantage d'être simple, peu coûteuse, et permet d'identifier le ^{68}Ga sous sa forme hydrolysée. Un dépôt du produit fini est déposé sur une bande ITLC-SG et mis en contact avec une phase mobile composée d'une solution d'acétate d'ammonium à 1 mol/L dans un mélange eau/méthanol (50/50 V/V).

L'identification des produits est déterminée par la mesure du rapport frontal. Dans ces conditions, le [^{68}Ga]-Pentixafor a un rapport frontal (Rf) supérieur à 0,8 et les impuretés ($^{68}\text{Ga}^{3+}$ et $^{68}\text{Ga}(\text{OH})_3$) un Rf inférieur à 0,3. La PRC est mesurée par intégration des pics du radiochromatogramme et doit être supérieure à 97%.

La PRC finale est calculée à partir des résultats de l'HPLC et de la CCM selon la pharmacopée européenne (2482) et doit être supérieure à 91%. La PRC finale est calculée comme suit :

$$\text{PRC finale (\%)} = 100 - (\% \text{ impuretés CCM} + \% \text{ impuretés HPLC})$$

c. Identification du radionucléide

L'identification du radionucléide est déterminée selon la Pharmacopée Européenne 07/2013 : 2464 par 3 mesures successives de l'activité d'un échantillon du produit fini pendant au minimum 15 minutes. La décroissance des activités mesurées permet ainsi de calculer la période physique du radioélément. La période physique mesurée doit être comprise entre 62 et 74 minutes. Une identification radionucléidique est également effectuée par spectrométrie gamma. Un pic est attendu à 0,511 MeV correspondant aux photons d'annihilation. La recherche de ^{68}Ge provenant de l'élution du générateur permet de calculer la pureté radionucléidique. L'activité d'un échantillon est mesurée une première fois grâce à un compteur gamma, puis de la même manière après l'avoir laissé 48 heures en décroissance (plus de quarante demi-vies du ^{68}Ga). Ainsi, l'intégralité du ^{68}Ga a décru, et l'activité résiduelle est liée à la présence de ^{68}Ge . Le taux de ^{68}Ge contenu dans le produit fini doit être inférieur

à 0.001%. En pratique, ce test est réalisé une fois par semaine pour s'assurer de l'intégrité du générateur.

d. Détermination du pH

Le pH du produit fini est quant à lui déterminé par dépôt d'une goutte d'échantillon sur une bandelette indicatrice de pH, et comparée à une gamme de couleur de référence. Le pH doit être compris entre 3,5 et 8.

e. Stérilité et recherche d'endotoxines

L'utilisation d'un médicament injectable implique la recherche et la quantification du taux d'endotoxines. La méthode utilisée est celle de la Pharmacopée Européenne 01/2018:20614 grâce à l'appareil EndoSafe®. Un échantillon de 0,1 mL du produit fini est dilué au 1/100ème, puis 25 µL sont déposées dans les 4 emplacements de la cartouche prévue à cet effet. La pharmacopée indique une limite acceptable de 175 UI/V. Le volume final de notre solution étant de 10 mL, cette limite correspond donc à 17.5 UI/mL.

La stérilité du produit fini est évaluée selon la méthode de la Pharmacopée européenne 2.6.14. Le test est réalisé dans des conditions aseptiques par inoculation directe d'un échantillon du produit fini dans deux milieux de cultures. Le milieu thioglycolate permet la culture des bactéries anaérobies, alors que le milieu caséine-soja permet le développement des bactéries aérobies et des champignons. La turbidimétrie du milieu est ensuite contrôlée visuellement jusqu'à 14 jours d'incubation. Une turbidimétrie équivalente au témoin négatif permet de valider la stérilité du milieu. Un témoin positif permet de s'assurer de la validité de la méthode.

f. Teneur en éthanol

La teneur en solvant dans le produit fini est également indispensable. Le seul solvant utilisé lors de la synthèse du [⁶⁸Ga]-Pentixafor est l'éthanol, lors de l'étape de purification par élution de la cartouche en fin de synthèse. La mesure de la teneur en éthanol est réalisée par chromatographie en phase gazeuse. La radiopharmacie n'étant pas équipée de cet équipement, les échantillons des trois lots de synthèse ont été envoyés au laboratoire de pharmacologie-toxicologie du CHU de Bordeaux. La teneur finale doit être inférieure à 10% afin que le produit puisse être injecté à l'Homme.

L'ensemble des contrôles qualité effectués sont résumés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Contrôles qualités effectués après chaque synthèse. Les astérisques indiquent le caractère libératoire du contrôle qualité.

Contrôle qualité	Méthode	Spécifications
Caractères organoleptiques	Visuelle	Transparent, limpide, incolore*
Activité	Activimètre (Ph.Eur. 2.2.66)	>0.1 GBq au temps de référence*
Identification radionucléidique	Ph. Eur. 2464	Demi-vie : 62-74min
Pureté radionucléidique	Ph. Eur. 2464	Activité en ⁶⁹ Ge < 0.001% de l'activité éluee
Identification du [⁶⁸ Ga]-Pentixafor	HPLC	Temps de rétention relatif : 0.9-1.1*
Pureté radiochimique par HPLC : - Impureté indéterminée - Impuretés totales - [⁶⁸ Ga]-Pentixafor	HPLC	≤2.5%* ≤6.0%* ≥94.0%*
Pureté radiochimique par CCM	CCM	≥97.0%*
pH	Bandelette pH	3.5-8.0*
Intégrité du filtre	Test de maintien de pression	Méthode automatisée Trasis*
Teneur en éthanol	CPG	≤10%
Stérilité	Ph. Eur. 2.6.1	Conforme à la Pharmacopée européenne
Recherche d'endotoxine	Ph. Eur 2.6.14	<175 UI*

3) Validation des méthodes de contrôle qualité du [⁶⁸Ga]-Pentixafor

a. Validation de la méthode HPLC

Une fois une méthode analytique développée, il est indispensable d'en évaluer les performances afin de garantir que la méthode répond aux critères fixés pour l'usage en routine.

Cette validation est conduite selon les recommandations du Conseil international d'harmonisation des exigences techniques pour l'enregistrement des médicaments à usage humain (ICH). Cependant, l'ICH n'est pas toujours adapté à l'usage des MRP, qui présentent des caractéristiques spécifiques. C'est pourquoi l'EANM a récemment publié ses propres recommandations, basées sur celle de l'ICH (Figure 21)(70). La validation des méthodes

analytiques a donc été effectuée au sein de la radiopharmacie du CHU de Bordeaux en suivant ces recommandations.

Table 2 ICH table adapted to radiopharmaceuticals

Type of analytical procedure	Radioactivity Content (assay)	Radionuclide identity (approx. t _{1/2})	Radionuclide identity (spectrometry)	Radiochemical identity (HPLC/TLC)	Radionuclidic purity (limit test)	Radionuclidic purity (spectrometry after decay)	Radiochemical purity ^a (HPLC/TLC)
Characteristics							
Accuracy	+	-	+	-	+	+	+
Precision (Repeatability)	+	+	-	-	-	(+)	(+)
Intermediate Precision	-	-	-	-	-	(+)	(+)
Specificity	+	+	+	+	+	+	+
Detection Limit	-	-	-	-	+	-	-
Quantification Limit	-	-	-	-	-	+	+
Linearity	+	+	-	-	-	+	+
Range	+	+	-	-	-	+	+

(+) not always possible (e.g. short half life, see text)

^aradioantimeric purity measurements should be validated analogously

Figure 21 : Critères de validation d'une méthode analytique adaptée aux médicaments radiopharmaceutiques

La spécificité du détecteur UV a été déterminée à l'aide d'une solution de référence de [natGa]-Pentixafor fournie par le laboratoire. Le temps de rétention de référence a été obtenu en analysant 5 fois une solution de [natGa]-Pentixafor à 0,1 mg/mL. Le Tr du [⁶⁸Ga]-Pentixafor a ensuite été comparé au temps de référence pour obtenir le temps de rétention relatif. Celui-ci doit être compris entre 0,9 et 1,1. Le coefficient de variation (CV) des Tr mesurés doit être inférieur à 10%.

Le temps de rétention de référence obtenu avec le [natGa]-Pentixafor est de 4 minutes et 52 secondes sur la moyenne des 5 mesures, avec un CV de 0.2% pour le détecteur UV. Pour le radiodétecteur, pour le [⁶⁸Ga]-Pentixafor le temps de rétention moyen est de 4 minutes et 51 secondes avec un CV inférieur à 0.1%.

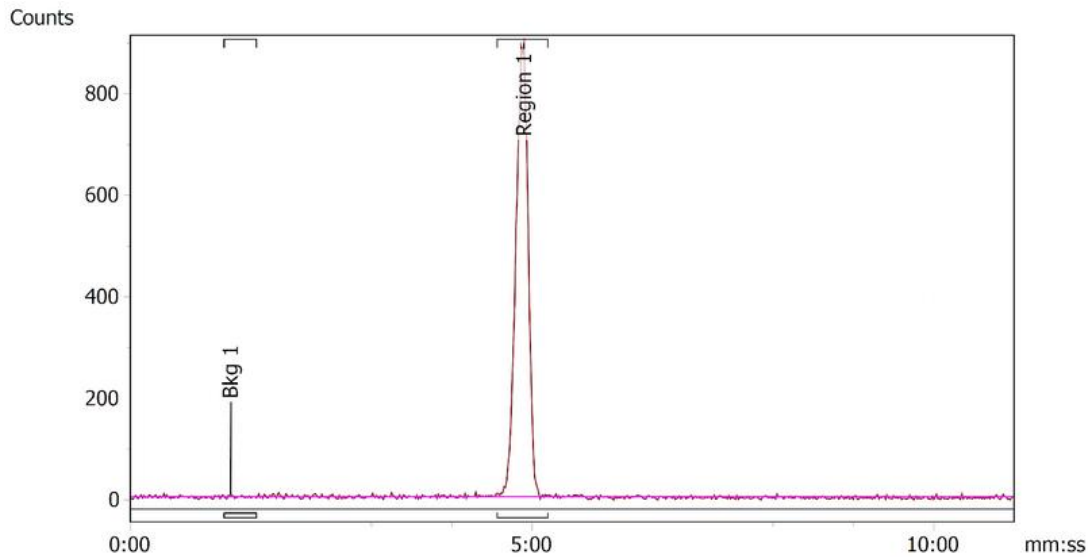


Figure 22 : Exemple de radiochromatogramme obtenu avec une solution de [⁶⁸Ga]-Pentixafor

En utilisant les mêmes données, la répétabilité du détecteur UV a été déterminée grâce au coefficient de variation (CV) de l'intégration des pics obtenus. Pour les cinq injections d'une solution de [natGa]-Pentixafor de 0.1mg/mL, le coefficient de variation de l'intégration des pics est de 0.80%, ce qui est conforme aux spécifications. La répétabilité du radiodétecteur a été déterminée de la même manière avec une solution de [⁶⁸Ga]-Pentixafor, et est conforme aux spécifications.

La linéarité du radiodétecteur a quant à elle été validée grâce à une gamme d'activités croissantes d'une solution de chlorure de ⁶⁸Ga, issue d'une élution du générateur de ⁶⁸Ga, puis diluée selon les concentrations cibles avec du NaCl 0.9%. Le résultat de l'intégration des pics obtenus, corrigé par la décroissance radioactive, a été reporté sur un graphique. Le coefficient de détermination linéaire ou R² de la droite de corrélation obtenue doit être supérieur à 0,99, ce qui correspond au résultat obtenu (Figure 23).

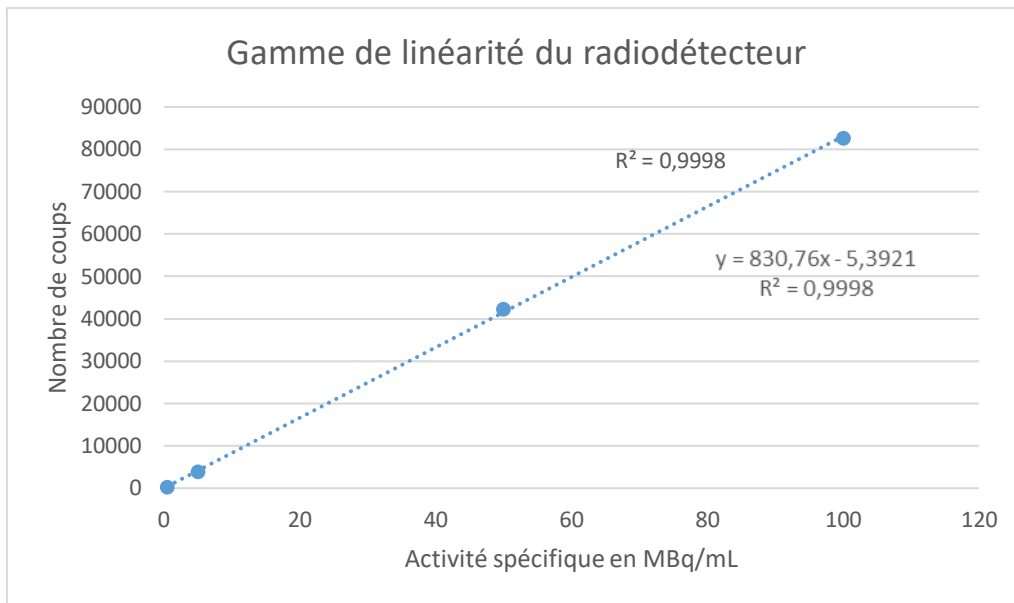


Figure 23 : Droite de régression obtenue sur la gamme d'activité spécifique croissante d'une solution de chlorure de ^{68}Ga

D'après les recommandations du laboratoire, la validation de la linéarité du radiodétecteur doit comprendre un point correspondant à une activité volumique de 0.05 MBq/mL. Cependant, la sensibilité de notre radiodétecteur étant trop basse, l'injection d'une solution avec une activité volumique de 0.05 MBq/mL ne montre pas de signal supérieur au bruit de fond. La linéarité n'est donc pas assurée pour une activité volumique de la solution comprise entre 0.05 et 0.5 MBq/mL.

Concernant la limite de quantification, pour la solution à 0.5MBq/mL, le rapport signal/bruit est supérieur à 10. Cette limite de quantification reste relativement élevée. Pour une solution à 30MBq/mL, cela correspond donc à 2% de l'activité. Des essais sont en cours afin d'augmenter la sensibilité du radiodétecteur.

Concernant le détecteur UV, sa linéarité a également été déterminée grâce à une gamme de croissante de [natGa]-Pentixafor. Le coefficient de corrélation linéaire obtenu est bien supérieur à 0.99 pour une gamme de 100 à 1 $\mu\text{g/mL}$ (Figure 24). Pour des concentrations inférieures, le signal détecté est trop faible voire inexistant. La concentration attendue du produit fini étant de 5 $\mu\text{g/mL}$, nous pouvons donc nous attendre à obtenir un signal UV lors de nos synthèses de [^{68}Ga]-Pentixafor. En pratique, le détecteur UV est utilisé pour l'identification du principe actif et non à but quantitatif.

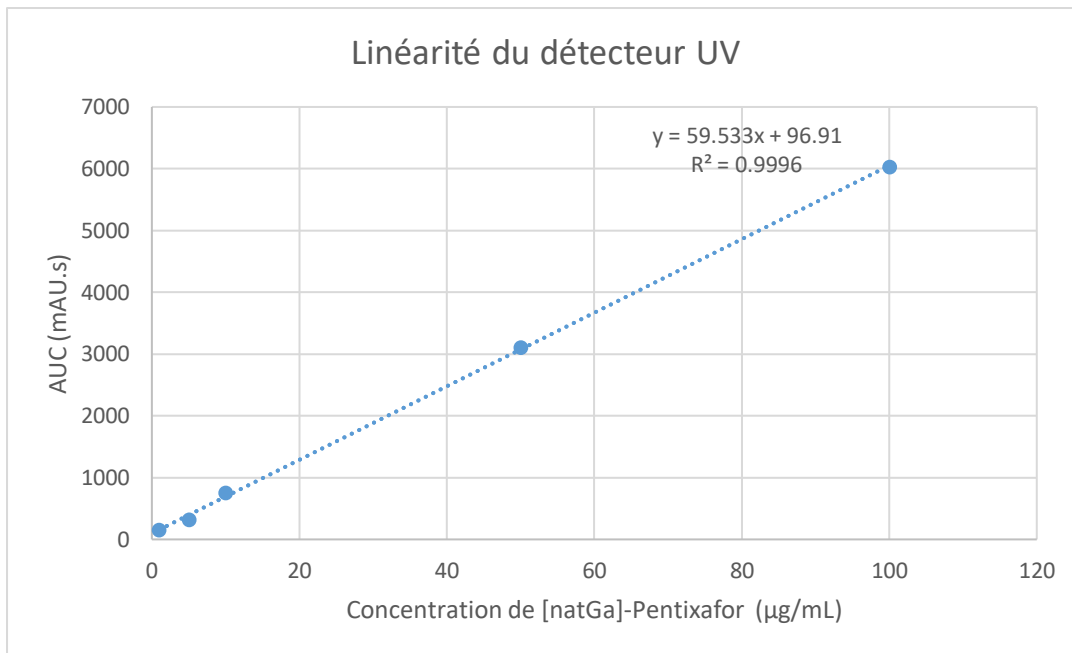


Figure 24 : Linéarité du détecteur UV de l'HPLC

b. Validation de la méthode CCM

De la même manière que la méthode HPLC, il est nécessaire de valider la méthode de CCM afin de pouvoir tenir compte des résultats qui en sont issus. Pour ce faire, il est nécessaire de déterminer la spécificité, linéarité et répétabilité de la méthode. Les solutions de référence utilisées sont les mêmes que pour la validation de méthode HPLC, excepté la solution de [^{nat}Ga]-Pentixafor, soit :

- Une solution de [⁶⁸Ga]-Pentixafor avec une activité volumique supérieure à 50MBq/mL (solution C)
- Une gamme de solution de ⁶⁸GaCl₃ provenant de l'élution d'un générateur, d'activité volumique décroissante (B1 : 100 MBq/mL – B2 : 50 MBq/mL – B3 : 5 MBq/mL – B4 : 0.5 MBq/mL)

Concernant la spécificité, l'ensemble des mesures sur les échantillons B doit avoir un rapport frontal inférieur à 0.3, et la solution C doit avoir un rapport frontal supérieur à 0.7. Les résultats sont conformes pour l'ensemble des mesures.

Pour la répétabilité, l'écart type des AUC mesurées pour l'échantillon C doit être inférieur à 0.2%. Sur les 5 mesures effectuées sur l'échantillon C, l'écart type est égal à 0,0379%.

Concernant la linéarité, le coefficient de régression linéaire obtenu avec les mesures sur les échantillons B en prenant en compte la décroissance doit être supérieur à 0.99. Le coefficient de corrélation linéaire obtenu est bien supérieur à 0.999 (figure 25).

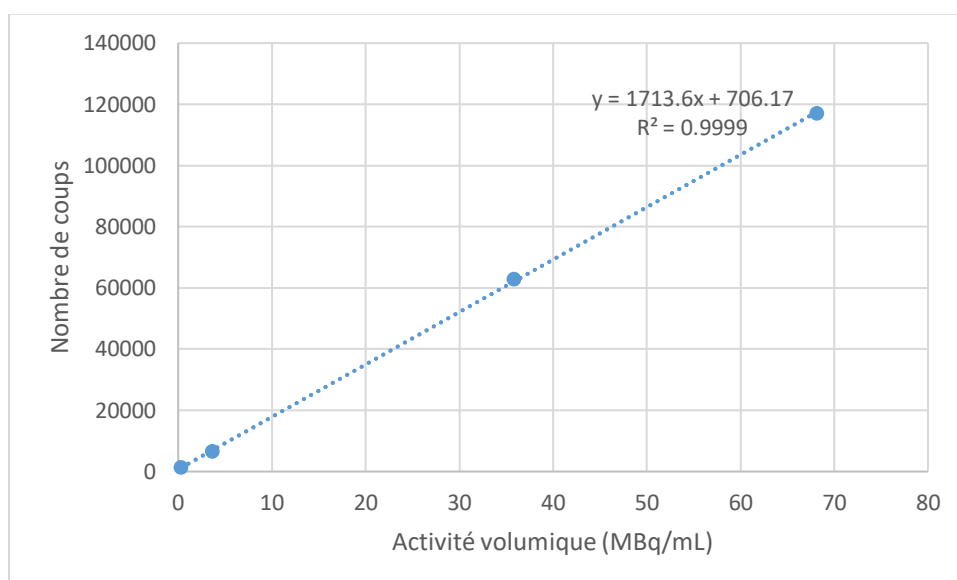


Figure 25 : Droite de régression obtenue avec les mesures successives des échantillons B1, B2, B3, B4

Concernant la limite de quantification, le rapport signal sur bruit obtenu pour l'échantillon B4 (0.5MBq/mL) est supérieur à 10 pour les trois mesures effectuées.

Le tableau 9 résume l'ensemble des analyses effectuées et des résultats obtenus.

Tableau 9 : Méthode, spécification et résultats de la validation de la méthode CCM

	Méthode	Spécifications	Résultat
Spécificité	Rf des solutions B1-B4 et C	B1-B4 : Rf<0,3 C : Rf>0,7	Conforme
Répétabilité	5 mesures solution C	Ecart type (%)<à 0.2	Conforme
Linéarité	Gamme solution B1 à B4	R ² >0.99	Conforme
Limite de quantification	Mesure solution B4	Rapport S/B >10	Conforme

La figure 26 illustre l'exemple d'un chromatogramme obtenu sur un échantillon de $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor.

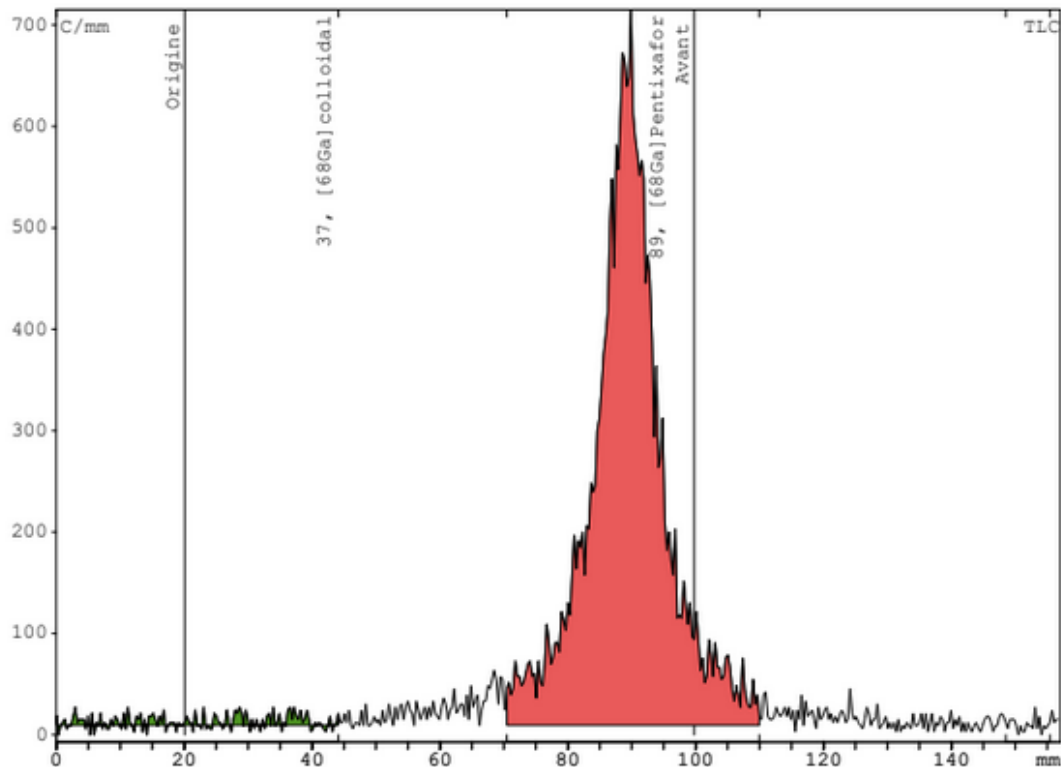


Figure 26 : Exemple de CCM obtenue sur un échantillon de $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor ($R_f > 0,7$)

4) Synthèse des 3 lots de validation au CHU de Bordeaux

Après la validation de la méthode analytique, l'écriture de la séquence de synthèse et des tests effectués à blanc, trois lots de $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor ont été réalisés au sein de la radiopharmacie du CHU de Bordeaux. Le Tableau 9 résumé l'ensemble des résultats obtenus après ces synthèses.

Comme le montre le Tableau 9, l'ensemble des contrôles qualité respecte les spécifications établies.

Tableau 9 : Résultats issus de la synthèse des trois lots de validation

Test	Méthode	Spécification	Lot de validation	Lot de validation	Lot de validation
			PX1	PX2	PX3
			Lot 22_01720	Lot 22_01760	Lot 22_02441
Caractères organoleptiques	Contrôle visuel	Limpide, incolore, sans particule	Conforme	Conforme	Conforme
Volume final	Contrôle visuel	10 mL ± 1 mL	10 mL	10 mL	10 mL
Activité à FDS	Mesure de radioactivité	100 MBq – 1 GBq	630 MBq	530 MBq	418 MBq
Intégrité du filtre stérilisant	Test de maintien de pression	Méthode automatisée Trasis	Conforme	Conforme	Conforme
pH	Bandelette pH	4,0 – 8,0	5	5	5
Pureté radiochimique du [⁶⁸Ga]Ga-Pentixafor	CCM + HPLC	⁶⁸ Ga-PXF > 91 %	HPLC 98.09% PRC 96.21%	HPLC 99.64% PRC 99.05%	HPLC 96.04% PRC 95.46%
Pureté radiochimique du [⁶⁸Ga]Ga-Pentixafor	CCM	⁶⁸ Ga-PXF > 97,0%	98.12%	99.41%	99.42%
Endotoxines bactériennes	Colorimétrie cinétique	≤ 17,5 E.U / mL	< 5.00 EU/mL	< 5.00 EU/mL	< 5.00 EU/mL
Stérilité	Test de stérilité Ph. Eur. 2.6.1	Stérile	Conforme	Conforme	Conforme
Identification du [⁶⁸Ga]Ga-Pentixafor	HPLC	Tr relatif : 0,9 – 1.1	1.0004	1.01	1.03
Concentration résiduelle en éthanol	CPG	≤ 10% (v/v)	8.4%	7.9%	8.8%
Identification radionucléidique	Ph. Eur. 2464	T = 62 – 74 min	64.7 min	68.2 min	65.5
Pureté radionucléidique	Ph. Eur. 2464	< 0.001% de l'activité éluee	0.000042%	0.000051%	0.000039%

Pour les trois synthèses, l'activité du produit fini peut permettre d'injecter le MRP pour au moins 2 patients. En effet, la sensibilité des caméras TEP du service de médecine nucléaire du site de Haut-Lévêque permet d'effectuer des examens avec des MRP marqués au ⁶⁸Ga avec

une activité injectée de 1,5 MBq/kg et un minimum de 100 MBq. Le protocole de l'essai Penti-MIDAS indique que l'activité injectée doit être comprise entre 100 et 200 MBq. Dans le cadre de l'essai Penti-MIDAS, la quantité maximale de Pentixafor injectée ne doit pas dépasser 20 µg. Pour nos 3 synthèses, avec une activité massique comprise entre 25 et 15 MBq/µg de Pentixafor, cette limite est obligatoirement respectée.

5) Etude de stabilité du $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor

Une étude de stabilité a été menée sur les 3 lots de synthèse afin de s'assurer que les spécifications soient respectées après un certain temps de conservation. Etant donné la demi-vie courte du ^{68}Ga et l'organisation du service, l'étude de stabilité a été menée sur deux heures. Dans ce cadre, l'ensemble des contrôles qualité (caractères organoleptiques, HPLC, CCM, pH) a été répété sur le produit fini une heure et deux heures après la fin de la synthèse, après conservation à température ambiante. La figure 27 montre un exemple de CCM effectués à T0, h+1 et h+2 sur le lot 22_02441.

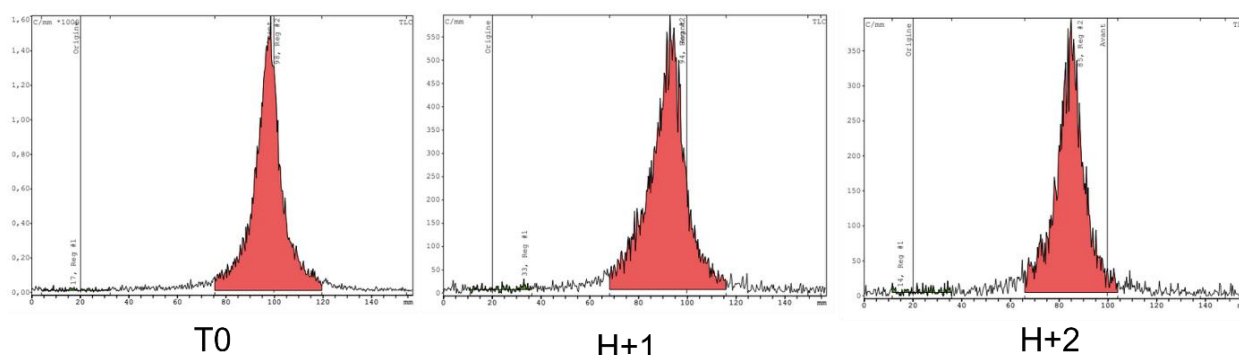


Figure 27 : CCM effectués à H0, H+1 et H+2 sur un lot de $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor

L'ensemble des résultats de l'étude stabilité est résumé dans le tableau 10. Les contrôles effectués respectent les spécifications 2 heures après la fin de la synthèse. Nous pouvons donc affirmer que le $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor est stable et peut être injecté au moins 2 heures après la fin de la préparation, après conservation à température ambiante. Ces résultats ont également été obtenus par le CHU de Nantes.

Tableau 10 : Etude de stabilité du [⁶⁸Ga]-Pentixafor à H+1 et H+2 après la synthèse

Test	Méthode	Spécification	T + 0h	T + 1h	T + 2h
PX1 Lot 22_01720					
Caractères organoleptiques	Contrôle visuel	Limpide, incolore, sans particule	Limpide, incolore, sans particule	Limpide, incolore, sans particule	Limpide, incolore, sans particule
pH	Bandelette pH	4,0 – 8,0	5	5	5
Pureté radiochimique du [⁶⁸ Ga]Ga-Pentixafor	CCM + HPLC	⁶⁸ Ga-PXF > 91 % (RP CCM x RP HPLC)	HPLC 98.09% PRC 96.25%	HPLC 97.04% PRC 95.18%	HPLC 97.82% PRC 96.25%
Pureté radiochimique du [⁶⁸ Ga]Ga-Pentixafor	CCM	⁶⁸ Ga-PXF > 97,0%	98.12%	98.08%	98.39%
Identification du [⁶⁸ Ga]Ga-Pentixafor	HPLC	tRR : 0,9 – 1.1	1.0004	1.004	1.007
PX2 Lot 22_01760					
Caractères organoleptiques	Contrôle visuel	Limpide, incolore, sans particule	Limpide, incolore, sans particule	Limpide, incolore, sans particule	Limpide, incolore, sans particule
pH	Bandelette pH	4,0 – 8,0	5	5	5
Pureté radiochimique du [⁶⁸ Ga]Ga-Pentixafor	CCM + HPLC	⁶⁸ Ga-PXF > 91 % (RP CCM x RP HPLC)	HPLC 99.64% PRC 99.05%	HPLC 99.59% PRC 98.77	HPLC 99.33% PRC 99.14%
Pureté radiochimique du [⁶⁸ Ga]Ga-Pentixafor	CCM	⁶⁸ Ga-PXF > 97,0%	99.41%	99.18%	99.81%
Identification du [⁶⁸ Ga]Ga-Pentixafor	HPLC	tRR : 0,9 – 1.1	1.01	1.007	1.01
PX3 Lot 22_02441					
Caractères organoleptiques	Contrôle visuel	Limpide, incolore, sans particule	Limpide, incolore, sans particule	Limpide, incolore, sans particule	Limpide, incolore, sans particule
pH	Bandelette pH	4,0 – 8,0	5	5	5
Pureté radiochimique du [⁶⁸ Ga]Ga-Pentixafor	CCM + HPLC	⁶⁸ Ga-PXF > 91 % (RP CCM x RP HPLC)	HPLC 96.04% PRC 95.48%	HPLC 96.22% PRC 95.73%	HPLC 95.97% PRC 94.87%
Pureté radiochimique du [⁶⁸ Ga]Ga-Pentixafor	CCM	⁶⁸ Ga-PXF > 97,0%	99.42%	99.49%	98.85%

Identification du [⁶⁸ Ga]Ga-Pentixafor	HPLC	tRR : 0,9 – 1.1	1.029	1.029	1.026
--	------	-----------------	-------	-------	-------

Le rendement de marquage a été calculé en prenant en compte l'activité disponible selon la date de calibration du générateur et la date de préparation. Une période minimum de 3h a été respectée entre l'utilisation du générateur de ⁶⁸Ga dans le cadre de l'activité du service, et le début d'une synthèse de [⁶⁸Ga]-Pentixafor. Le rendement d'élution du générateur de ⁶⁸Ga est difficilement quantifiable avec certitude. Le rendement d'élution du GalliAd® est annoncé par le fournisseur comme supérieur à 67% lors de la libération, et supérieur à 55% pendant toute la durée de vie du générateur. Pour harmoniser les calculs, les rendements sont calculés en prenant un rendement d'élution moyen de 60%. L'activité finale mesurée est ensuite rapportée à l'activité disponible pour l'élution en prenant en compte une correction de la décroissance radioactive entre le début de l'élution et l'heure de mesure du produit fini. Le tableau 11 résume les calculs de rendement.

Tableau 11 : Calcul des rendements de radiomarquage des 3 lots de validation du [⁶⁸Ga]-Pentixafor

Date	Activité disponible générateur	Rendement d'élution (60%)	Activité finale mesuré	Rendement % (correction décroissance)
09/07/2022	1539	923	631	87,4
11/07/2022	1531	919	530	75,3
14/09/2022	1296	778	380	66,4

Deux observations peuvent être formulées à partir de ces résultats. Tout d'abord, pour les trois synthèses, le rendement n'atteint jamais les 90%. D'après les mesures faites par les détecteurs de radioactivité du module de synthèse, une partie de l'activité reste bloquée dans la colonne de purification. Pour les trois synthèses, cette activité serait comprise entre 100 et 150 MBq, la mesure étant approximative. L'activimètre associé au module semi-automatique n'a pas pour objectif de quantifier précisément l'activité au niveau de la colonne, mais plutôt de renseigner sur des ordres de grandeur et sur l'avancée de la synthèse. La présence d'activité dans d'autres parties de la cassette (tubulures, flacon de réaction) pourrait donc interférer avec cette mesure. L'activité mesurée peut correspondre à deux entités chimiques :

du ^{68}Ga sous forme colloïdal, bloqué à l'entrée de la colonne, ou du ^{68}Ga]-Pentixafor, non élué de la colonne.

Pour optimiser ce rendement, il serait donc possible de jouer sur deux facteurs. Le premier est donc la présence de ^{68}Ga colloïdal issu du radiomarquage. La formation de $^{68}\text{Ga}(\text{OH})_3$ apparaît lorsque le pH est trop basique, soit supérieur à 4-4,5. Pour diminuer sa formation, un contrôle du pH lors de la préparation pourrait nous renseigner sur des éventuelles modifications à effectuer, notamment sur la quantité de solution tampon à ajouter pour la reconstitution du peptide. Cependant, pour des raisons de radioprotection, la mesure précise du pH dans la solution pendant le radiomarquage est délicate. La deuxième possibilité serait d'améliorer l'élution du ^{68}Ga]-Pentixafor de la colonne. Pour les trois lots de validation, nous avons utilisé une solution d'éthanol à 100%. D'autres équipes utilisent un mélange d'éthanol et de NaCl en proportions variables (74). Des tests ultérieurs utilisant ce mélange pourraient être réalisés afin d'observer une éventuelle amélioration du rendement de synthèse. Une modification des proportions du mélange pourrait éventuellement améliorer l'élution du ^{68}Ga]-Pentixafor de la colonne.

Malgré ces rendements inférieurs à 90%, l'activité finale obtenue respecte les spécifications (100 MBq à 1 GBq) et reste suffisante pour injecter le MRP à un voire deux patients.

6) Préparation du ^{68}Ga]-Pentixafor grâce à une trousse de radiomarquage : l'essai FORPAN

Parallèlement à l'essai Penti-MIDAS, la société Pentixapharm promeut un autre essai clinique dénommé « ^{68}Ga]-Pentixafor-PET imaging in PAN cancer (FORPAN) ». L'essai FORPAN est un essai de phase III internationale et multicentrique, qui a pour but d'évaluer les performances et la sécurité d'utilisation du ^{68}Ga]-Pentixafor pour l'imagerie des récepteurs CXCR4 dans de nombreux cancers. L'objectif est d'inclure 500 patients atteints de différents types de cancers (MM, LLC, LAM en rechute, cancer du sein, du poumon, du colon). L'expression de CXCR4 par les tumeurs est vérifiée par immunohistochimie, puis comparée aux résultats de TEP au ^{68}Ga]-Pentixafor, afin de déterminer la sensibilité et la spécificité de cet examen dans différentes indications.

Dans le cadre de cette étude, la préparation du [⁶⁸Ga]-Pentixafor est également réalisé de manière extemporanée par la radiopharmacie. LE procédé de préparation étant différent que celui de l'essai Penti-MIDAS, il a été nécessaire de valider à la fois la méthode analytique employée, ainsi que le processus de préparation avant de pouvoir réaliser une préparation de [⁶⁸Ga]-Pentixafor en vue de participer à l'essai FORPAN.

a. Préparation du [⁶⁸Ga]-Pentixafor dans le cadre de l'essai FORPAN

La préparation est réalisée à l'aide d'un kit de radiomarquage fournie par le promoteur. Ce kit contient un flacon A contenant 50 µg de Pentixafor et des excipients, et un flacon B contenant un tampon. Il contient également un ensemble de spike permettant la reconstitution du peptide et le transfert du tampon depuis le flacon A vers le flacon B. Ce modèle correspond globalement au modèle actuellement commercialisé pour la synthèse du [⁶⁸Ga]-DOTATOC, le Somakit®. La procédure de radiomarquage consiste à reconstituer le peptide contenu dans le flacon A à l'aide de la solution tampon. Pour cela, 0,22 mL de solution tampon sont transférées du flacon B vers le flacon A à travers un filtre 0,22µm. Le peptide reconstitué est ensuite préchauffé pendant 5 minutes, avant d'être mis en contact avec une solution de chlorure de ⁶⁸Ga obtenue par élution d'un générateur. La solution est ensuite chauffée pendant 8 minutes supplémentaires à 95°C, avant d'être diluée par 4,8 mL d'eau pour préparation injectable. Le volume final est donc approximativement de 6,12 mL (0,22mL de tampon, 1,1mL provenant de l'élution du générateur, et 4,8mL d'eau PPI).

Le matériel utilisé pour la préparation est similaire à celui utilisé pour la synthèse *via* un précurseur chimique :

- Générateur GalliAd®
- Automate de synthèse Trasis Mini AiO
- Enceinte blindée MEDI 9000 haute énergie
- Matériels et réactifs sous forme de kit de radiomarquage fournis par la société Pentixapharm

L'utilisation d'un automate de synthèse semi-automatisé n'est pas indispensable en soi, mais permet d'optimiser la radioprotection de l'opérateur. Une séquence dédiée à la préparation a été créée et testée en amont.

b. Contrôles qualité et libération du [⁶⁸Ga]-Pentixafor dans le cadre de l'essai FORPAN

Les caractères organoleptiques du produit fini sont vérifiés à l'œil nu par l'opérateur. La solution doit être limpide, incolore et sans particule.

Le calcul de la pureté radiochimique et l'identification du [⁶⁸Ga]-Pentixafor sont quant à eux déterminés par CCM. La méthode CCM employée est la même que pour la synthèse de [⁶⁸Ga]-Pentixafor à partir d'un précurseur chimique (phase stationnaire ITLC-SG, phase mobile acétate d'ammonium/eau/méthanol). La validation de méthode n'a donc été faite qu'une seule fois.

Concernant le test de stérilité, les tests effectués ont été centralisés par le laboratoire en Autriche. A l'issue de chaque synthèse, un échantillon du produit fini est donc envoyé afin d'en valider la stérilité.

La détermination du taux d'endotoxine n'est pas exigée en tant que contrôle libératoire pour l'essai FORPAN.

c. Validation de la méthode de préparation du [⁶⁸Ga]-Pentixafor à l'aide d'un kit de radiomarquage

Afin de valider le procédé de préparation, 3 lots ont été préparés à la radiopharmacie du CHU de Bordeaux. Les résultats de ces trois synthèses sont résumés dans le tableau 12. L'ensemble des 3 synthèses respecte les spécifications établies par le laboratoire.

Tableau 12 : Résultats des trois synthèses selon le procédé de l'essai FORPAN

Test	Méthode	Spécification	Lot de validation	Lot de validation	Lot de validation
			Lot 1	Lot 2	Lot 3
Caractères organoleptiques	Contrôle visuel	Limpide, incolore, sans particule	Conforme	Conforme	Conforme
Volume final	Contrôle visuel	6,1 mL	6,1 mL	6,1 mL	6,1 mL
Activité à FDS	Mesure de radioactivité	>0,4 GBq	448 MBq	448 MBq	484 MBq
Pureté radiochimique du [⁶⁸ Ga]Ga-Pentixafor	CCM	⁶⁸ Ga-PXF > 97,0%	97,32%	97.13%	97.68%
Identification du [⁶⁸ Ga]Ga-Pentixafor	CCM	Rf>0,7	0.8	0.8	0.8
Stérilité	Test de stérilité pH. Eur. 2.6.1	Stérile	Conforme	Conforme	Conforme

Cette méthode de préparation présente plusieurs avantages par rapport à celle de l'essai Penti-MIDAS. En effet, la préparation du matériel et des réactifs est plus simple et plus rapide. Elle est également moins coûteuse en consommables. De plus, il n'est pas nécessaire d'effectuer une purification pour augmenter la pureté radiochimique. Cela permet de gagner du temps, et potentiellement d'augmenter l'activité finale en fin de préparation (pas de perte liée à l'élution du [⁶⁸Ga]-Pentixafor de la colonne de purification). Enfin, l'absence de stérilisation terminale permet de s'affranchir du test d'intégrité du filtre, chronophage, et pouvant compromettre la préparation.

Les contrôles qualité nécessaires à la libération de la préparation sont également simplifiés. En effet, les caractères organoleptiques sont vérifiés à l'œil nu, et la pureté radiochimique est contrôlée uniquement par chromatographie sur couche mince, selon la même méthode que pour la synthèse grâce à un précurseur chimique. La recherche d'endotoxine n'est pas demandée par le promoteur, et l'identification du produit et la pureté radiochimique par HPLC non plus. Cela représente un gain de temps considérable, étant donné que ces deux contrôles qualités sont les plus chronophages. Il s'avère qu'ils sont également les plus coûteux en termes

de matériel et de validation de méthode. Au final, la préparation du [⁶⁸Ga]-Pentixafor à l'aide d'une trousse est donc plus rapide, plus simple et moins coûteuse.

IV. Discussion :

1) Aspects médico-économiques :

La rédaction d'un DME, et la validation de trois lots de synthèse en vue de participer à un essai clinique représentent une démarche relativement coûteuse, aussi bien en ressources humaines qu'en moyens techniques. En effet, les différentes étapes réalisées nécessitent des compétences et du matériel spécifiques, ainsi qu'un temps important. Le temps de développement d'un radiomarquage dans le cadre d'un médicament expérimental, aussi important soit-il, ne fait pas l'objet d'une valorisation financière.

Dans le cas du [⁶⁸Ga]-Pentixafor au CHU de Bordeaux, les différentes étapes ont consisté à :

- préparer la séquence de synthèse du module de synthèse semi-automatisée et effectuer des séquences test « à blanc »
- assurer l'approvisionnement et le stockage des matériels et réactifs nécessaires
- préparer et effectuer la validation des méthodes analytiques
- préparer et effectuer les contrôles qualité des trois lots de validation.
- échanger avec l'ANSM quant aux résultats, questions et éventuelles modifications à apporter.

Dans le cadre de l'essai clinique, le précurseur de marquage est fourni par le laboratoire Abx, mais les réactifs utilisés pour la synthèse et les contrôles qualité sont ceux déjà utilisés en routine par la radiopharmacie du CHU de Bordeaux.

Concernant le temps nécessaire à la préparation du [⁶⁸Ga]-Pentixafor, notre expérience montre que la synthèse monopolise un radiopharmacien au minimum pour une durée moyenne de 2h30. Ce temps se décompose en la préparation du matériel et des réactifs (environ 50 minutes), la synthèse en elle-même et la mesure et l'enregistrement de la

préparation (50 minutes), et les contrôles qualité (50 minutes de la préparation des réactifs et du matériel au rangement). Dans le cadre d'une injection au patient pour un examen d'imagerie, il faut ajouter le temps nécessaire à la préparation et la dispensation de la seringue.

Afin de valoriser la participation de la radiopharmacie à des essais cliniques impliquant un médicament expérimental, l'utilisation d'une grille de surcoûts est donc indispensable. Un exemple de grille de surcoûts adaptée aux médicaments radiopharmaceutiques a d'ailleurs été développé dans ce cadre par la Société Française de Radiopharmacie (SoFRa). L'objectif de cette grille est de retrouver un équilibre financier en valorisant la participation de la radiopharmacie à un essai clinique. Cependant, cette grille ne prend pas en compte le temps et les moyens mis en place pour la rédaction d'un DME, ou la préparation et la soumission à l'ANSM de lots de validation dans le cas d'une préparation d'un médicament expérimental effectuée par la radiopharmacie. Dans ce cadre, des demandes ont été émises afin de créer des actes pharmaceutiques pouvant donner lieu à valorisation. Il est probable que de plus en plus de MRP expérimentaux soient disponibles dans les prochaines années. La surcharge de travail nécessaire se doit donc d'être valorisée.

2) Conditions de marquage et pré-purification

La chimie du Gallium est une chimie de complexation, avec des quantités mises en œuvre très faibles, et sensibles à plusieurs paramètres. Les trois paramètres clés à contrôler lors d'un radiomarquage au Gallium-68 sont la présence d'impuretés métalliques, le pH et la température. (79)

Historiquement, les premières générations de générateurs ^{68}Ga disponibles permettaient d'obtenir des éluats de chlorure de Gallium avec une teneur en $^{68}\text{Germanium}$ non négligeable et avec une variabilité importante. De même pour certains métaux comme le Fer, l'Aluminium ou le Zinc, qui étaient présents en quantités plus ou moins importantes selon les éluations. (9) La présence d'impuretés métalliques, notamment le Fer, peut diminuer les rendements de synthèse et l'activité spécifique de manière importante en rentrant en compétition avec le ^{68}Ga au niveau de l'agent de complexation, comme le DOTA. En effet, le Fer possède un rayon ionique proche du Gallium, et un état d'oxydation +III. De plus, la présence de ^{68}Ge , avec une

demi-vie de 271 jours, pose également un problème de radioprotection du patient, et de gestion des déchets et effluents radioactifs. C'est pourquoi les premières méthodes de synthèses de médicaments marqués au ^{68}Ga faisaient intervenir une étape de pré-purification de l'éluat. Cette étape permet d'éliminer un maximum d'impuretés métalliques et de concentrer l'éluat. La méthode de pré-purification la plus répandue fait intervenir une colonne échangeuse d'ions qui retient le ^{68}Ga et les autres cations métalliques. La colonne est ensuite éluée par un mélange d'HCl et de NaCl, ce qui permet de récupérer le ^{68}Ga sous forme de $[\text{}^{68}\text{GaCl}_4]^-$, alors que les autres cations restent fixés. La Pharmacopée européenne imposant un taux de ^{68}Ge inférieur à 0.001% dans l'éluat et une quantité d'impuretés métalliques inférieure à 10 $\mu\text{g}/\text{GBq}$, ces premiers générateurs ont progressivement été délaissés.

Les deux générateurs de ^{68}Ga avec une AMM en France respectant la Pharmacopée, ils garantissent un taux de ^{68}Ge inférieur à 0.001% dans l'éluat en sortie de générateur. C'est pourquoi la plupart des nouvelles méthodes de radiomarquages ne font plus intervenir de pré-purification. L'élimination de cette étape présente un avantage double. Tout d'abord, cela permet un gain de temps dans la procédure de marquage, non négligeable pour un isotope avec une demi-vie courte. De plus, le rendement de l'éluat de la colonne de pré-purification n'étant jamais de 100%, une partie du $^{68}\text{Ga}^{3+}$ reste fixée et n'est donc pas disponible pour le marquage. Enfin, la concentration de l'éluat pour obtenir une activité volumique importante n'est pas forcément nécessaire, notamment avec le générateur GalliAd pour lequel le volume d'éluat est de 1,1 mL. Le recul de la littérature sur la procédure de radiomarquage de peptides au ^{68}Ga avec les générateurs de ^{68}Ga de dernière génération montre que l'absence de pré-purification, tout en faisant gagner du temps, n'empêche pas d'obtenir des MRP respectant les spécifications de la Pharmacopée, autant en termes d'activité spécifique qu'en termes de taux d'impuretés.

Concernant le pH du milieu réactionnel, il doit se situer aux alentours de 3,5-4, afin que le Gallium soit principalement sous forme de gallium libre Ga^{3+} , disponible pour la complexation. La solution de chlorure de Gallium récupérée en éluant le générateur grâce à une solution d'acide chlorhydrique a un pH proche de 1 et doit donc être tamponnée. Dans la littérature, plusieurs tampons sont utilisés pour la radiochimie du ^{68}Ga . On retrouve notamment les tampons acétate, HEPES et succinate. Le tampon citrate, bien que présentant des propriétés

intéressantes sur le plan du pH, forme des complexes avec le ^{68}Ga d'une trop grande affinité. Une étude réalisée sur la préparation de ^{68}Ga -DOTATOC en utilisant plusieurs tampons différents montre que les tampons succinate, acétate et HEPES permettent d'obtenir de bons résultats en termes de temps de synthèse, pureté radiochimique et activité spécifique. (80) Le tampon HEPES semble toutefois être le meilleur candidat pour la radiochimie du Gallium. Cependant, son utilisation est à ce jour limitée par la réglementation de la Pharmacopée Européenne. En effet, le tampon HEPES est considéré comme une impureté, et la quantité présente dans le produit final doit être contrôlée. L'utilisation du tampon HEPES nécessite donc une étape de purification et des contrôles analytiques supplémentaires. Il s'avère que les méthodes analytiques pour déterminer la quantité d'HEPES sont difficiles à mettre en place et plus ou moins longues, ce qui peut rallonger le temps entre la fin de la préparation du MRP et l'injection au patient. (81) Ce tampon est donc peu utilisé en routine dans le cadre de radiomarquage au ^{68}Ga , et a été écarté dans le cadre du ^{68}Ga -Pentixafor.

La température est le troisième facteur clé à contrôler dans le cadre d'un radiomarquage au ^{68}Ga . En effet, la cinétique de complexation du ^{68}Ga dépend de l'agent de complexation impliqué, et de la température de réaction. Le DOTA, utilisé comme agent de complexation dans le ^{68}Ga -Pentixafor, a une cinétique de complexation relativement lente. Le moyen le plus simple d'optimiser le temps et le rendement de complexation du DOTA est d'augmenter la température du milieu de réaction. Plusieurs études montrent que la température idéale de radiomarquage de peptides conjuguées au DOTA est comprise en 85 et 95°C. La Figure 28 montre la variation du temps et du rendement de complexation du ^{68}Ga -Pentixafor en fonction de la température.

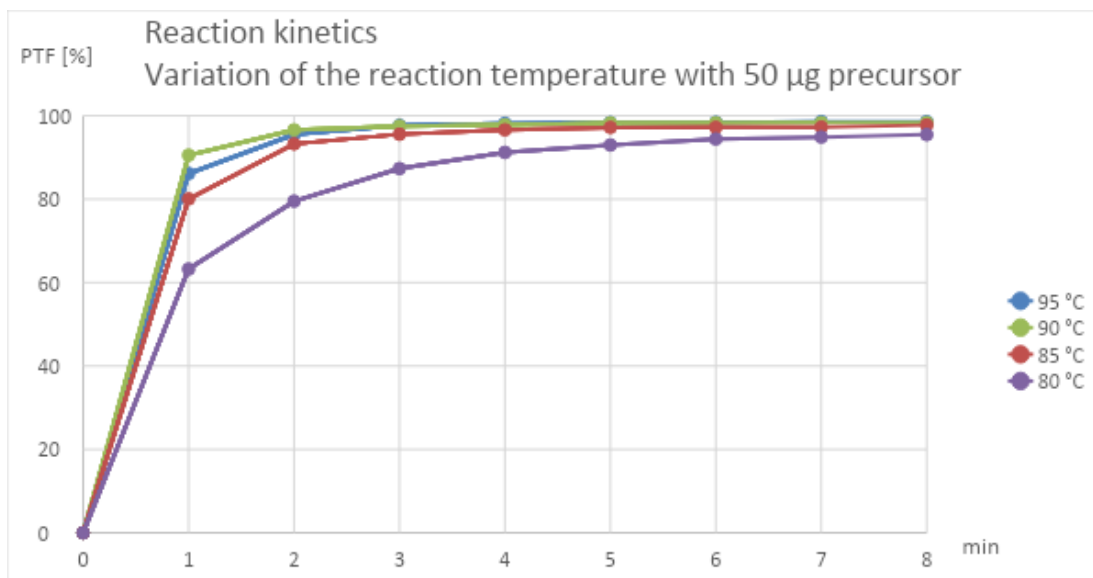


Figure 28 : Variation du temps de réaction et rendement en fonction de la température de réaction

Afin d'atteindre rapidement la température souhaitée, dans la séquence de synthèse utilisée, le bain-marie sec monte dans un premier temps à 120°C puis redescend à 95°C. La hausse de température initiale ne conduit pas à une température excessive au sein du flacon. Le procédé a été validé avec une mesure continue de la température au sein d'un flacon. Ce procédé a ensuite été retenu et implémenté dans toutes les procédures de radiomarquage automatisées.

3) Radiosynthèse du [⁶⁸Ga]-Pentixafor : module de synthèse, précurseur chimique, trousse ou cassette ?

Dans la plupart des cas, le développement des nouveaux MRP marqués au ⁶⁸Ga fait intervenir un module de synthèse semi-automatique associé à une cassette. En effet, ce système permet de faire varier facilement les conditions de marquages (température, temps, tampon), d'effectuer une purification et une pré-purification, si nécessaire, avant d'obtenir le produit final. De plus, l'utilisation de ces modules assure une certaine robustesse et répétabilité du procédé de préparation. Les matières premières nécessaires sont relativement simples à obtenir puisqu'il s'agit principalement du précurseur chimique et d'un tampon. Cependant, leur utilisation nécessite également une expertise radiopharmaceutique et un investissement financier non négligeable. L'usage des cassettes représente également un coût financier, et

peut entraîner une dépendance envers les fournisseurs dans un contexte de pénuries en constante augmentation. De plus, l'existence de plusieurs modules sur le marché peut compliquer le transfert d'une méthode de marquage d'un établissement à l'autre.

Un autre moyen de préparation de MRP, beaucoup plus répandu à l'heure actuelle, consiste à utiliser des trousse ou kit. La trousse est définie comme toute préparation qui doit être reconstituée ou combinée avec des radionucléides dans le produit radiopharmaceutique final. Les radionucléides en question peuvent notamment être obtenus via un générateur ou un cyclotron. Ce système de préparation à l'avantage d'être relativement simple à mettre en place, rapide et peu coûteux en matériel et réactifs. L'absence de pré-purification, purification et filtration stérilisante permet de réduire drastiquement le temps de préparation. Les contrôles qualités sont également simplifiés. Il est ainsi possible d'obtenir une activité plus importante en fin de préparation, et donc d'injecter le MRP à plus de patients pour chaque préparation. Sur un plan théorique, l'utilisation des trousse semble donc plus avantageuse. Concernant la radioprotection, les études réalisées comparant les doses reçus par les opérateurs lors de préparations au ^{68}Ga utilisant un kit ou des cassettes ne sont pas unanimes.(82) Certaines retrouvent des doses aux extrémités plus élevées lors de l'utilisation de cassette, alors que d'autres retrouvent des doses équivalentes. En réalité, le facteur déterminant semble plutôt être l'utilisation d'un module de synthèse semi-automatisé, qui peut être utilisé dans les deux cas. (83)

Le développement de trousse peut cependant être complexe dans le cas de marquages au ^{68}Ga . En effet, le volume d'HCl provenant de l'élution varie en fonction du générateur utilisé. Le pH étant un facteur déterminant, la quantité de tampon utilisée doit être adaptée. Les trousse doivent donc être développées avec les différents générateurs de ^{68}Ga disponibles, et les procédures de marquages doivent être adaptées. Le processus de développement d'une trousse est ainsi plus long. Par exemple, le RCP de la trousse de marquage de l'édotréotide (Somakit®) indique la différence de mode opératoire en fonction du générateur de ^{68}Ga utilisé (figure 30).

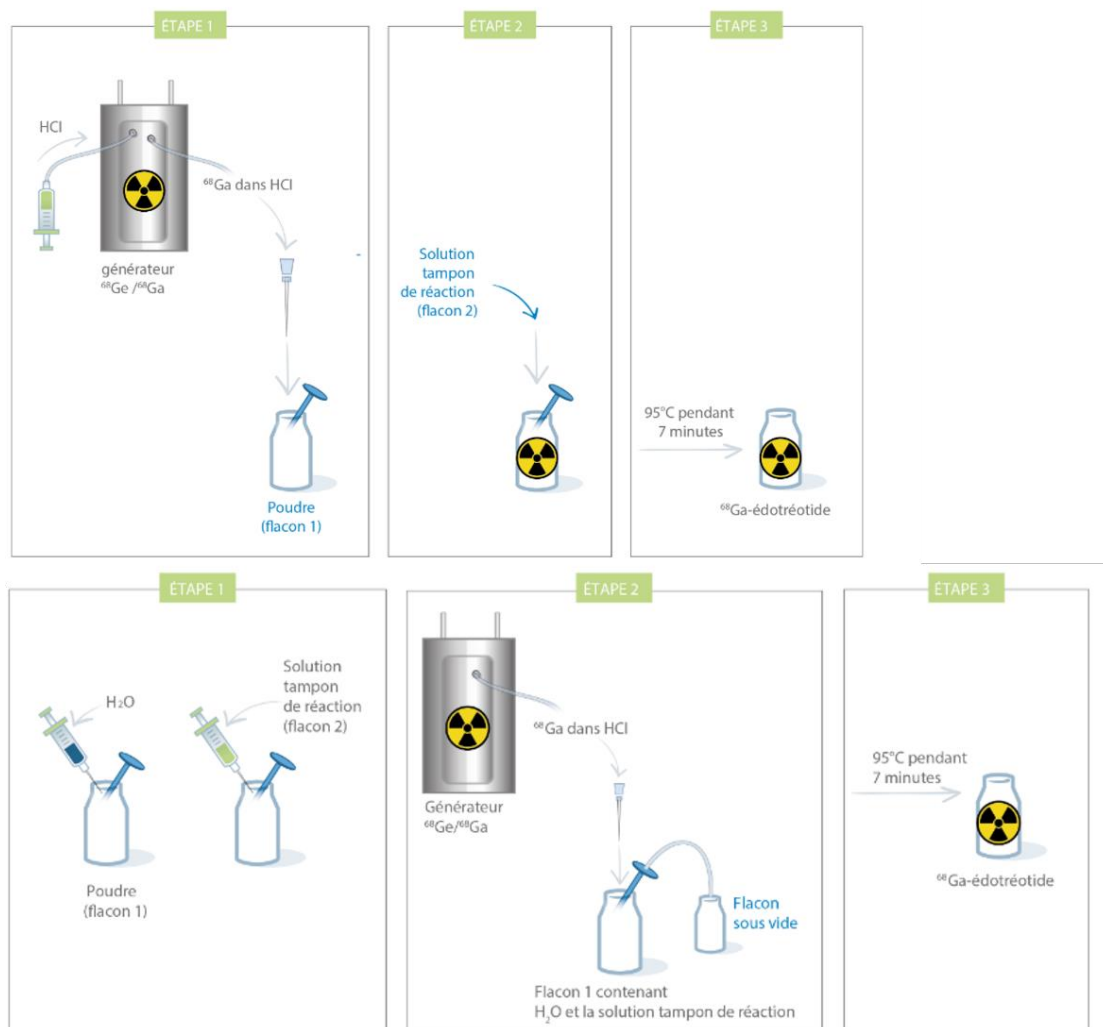


Figure 29 : différence de protocole de radiomarquage de la trousse Somakit® en fonction du générateur utilisé

C'est pourquoi, il n'a existé pendant un certain temps qu'une seule trousse de radiomarquage au ⁶⁸Ga ayant une AMM et étant disponible sur le marché en France (Somakit®). Une nouvelle trousse a récemment obtenu une AMM ([⁶⁸Ga]-Gozétotide, Locametz®). La disponibilité d'une trousse peut permettre à des centres de taille moyenne d'avoir accès à des MRP marqués au ⁶⁸Ga. Au contraire, l'utilisation d'une cassette et d'un module de synthèse peut permettre l'accès à des MRP en accès dérogatoire (accès précoce ou accès compassionnel), comme le [⁶⁸Ga]-PSMA-11, ou dans le cadre d'un essai clinique comme pour le [⁶⁸Ga]-Pentixafor. Cet accès est cependant réservé aux centres disposant de suffisamment de moyens pour s'équiper

du matériel nécessaire, des compétences et de ressources humaines pour la rédaction d'un DME si nécessaire.

Dans le cadre de l'essai Penti-MIDAS, étant donné la variété de matériel utilisé par les différents centres participant à l'étude, l'idée de départ était d'utiliser une trousse afin de faciliter la participation en simplifiant la rédaction du DME. Cependant, la trousse est plus longue à développer. L'essai MIDAS étant déjà en cours de réalisation, il était nécessaire de pouvoir inclure rapidement des patients issus de cet essai dans Penti-MIDAS. C'est pourquoi le choix de la préparation du [⁶⁸Ga]-Pentixafor *via* un précurseur chimique a été privilégié. Cet exemple illustre donc parfaitement les avantages et inconvénients inhérents aux différents types de radiomarquage.

L'expérience du CHU de Bordeaux a permis de comparer les deux modes de préparation du [⁶⁸Ga]-Pentixafor, trousse et précurseur chimique, *via* les deux essais cliniques FORPAN et Penti-MIDAS. Les observations confirment une simplicité accrue et un temps de préparation largement diminué grâce au kit de radiomarquage. Le développement de trousse de radiomarquage devrait donc participer à l'expansion de l'utilisation en routine du ⁶⁸Ga comme radionucléide en TEP, notamment dans les centres non équipés de matériels particulièrement coûteux et complexes d'utilisation (HPLC, automate semi automatisé, appareil pour la recherche d'endotoxines).

La dualité des deux modes de préparation du [⁶⁸Ga]-Pentixafor présentés correspond au parcours classique du développement des nouveaux MRP diagnostiques. Ce développement repose en effet dans un premier temps sur un réseau de centres experts, capables de réaliser des synthèses de MRP expérimentaux avec un DME, dans le cadre d'essais cliniques ou d'accès dérogatoires. Ces préparations reposent sur un savoir et du matériel spécifiques pour la synthèse et la réalisation de l'ensemble des contrôles qualité exigés par les autorités. Cette première phase est incontournable, et permet à la fois l'usage clinique de MRP innovants, et de récupérer des données d'efficacité et de tolérance. Dans un second temps, le développement de trousse par des industriels permet de démocratiser l'accès aux nouveaux MRP en simplifiant le procédé de préparation, et en nécessitant des contrôles qualité plus simples à mettre en place.

4) Perspectives d'utilisation du Pentixafor et radiothérapie interne vectorisée

Le $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor montre donc un potentiel important pour le diagnostic et le suivi des plusieurs cancers hématologiques. De plus, ce MRP innovant présente également des propriétés intéressantes dans le cadre de la prise en charge de certains cancers solides (poumon, ovaire, pancréas). C'est pourquoi de nombreux essais cliniques sont en cours pour évaluer l'intérêt du $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor dans ces indications (Figure 31 et 32).

Essai Clinique	Médicament	Indication	Pré-clinique	Phase I	Phase II	Phase III
UIOWA, US	$[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor	Tumeur neuro endocrine				
PASSIFLORE	$[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor	Cancer du poumon à petites cellules métastatique				
UHN Toronto	$[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor	Cancer du poumon à petites cellules				
UHN Toronto	$[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor	Œsophage de Barrett				
UHN Toronto	$[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor	Adénocarcinome pancréatique				
UHN Toronto	$[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor	Cholangiocarcinome				
Pretoria	$[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor	Carcinome épidermoïde oropharyngé				

Figure 30 : Essais cliniques en cours en oncologie solide utilisant le $[^{68}\text{Ga}]$ -Pentixafor

Essai Clinique	Médicament	Indication	Pré-clinique	Phase I	Phase II	Phase III
PENTIMYELO	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Myélome multiple				
Penti-MIDAS	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Myélome multiple				
Ausburg, Munich	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Lymphome zone marginale				
KFSYSCC	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Lymphome B indolent				
UHN Toronto	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Lymphome Folliculaire et LBDGC				
NCI Bethesda	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Myélome indolent				
Mayo Clinic Rochester US	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Myélome Multiple				
COLPRIT	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Myélome Multiple				
Pentallo	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Leucémie aigue myéloïde lymphoïde				
Pentilula	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Leucémie aigue myéloïde lymphoïde				

Figure 31 : Essais cliniques en cours en hémato-oncologie utilisant le [⁶⁸Ga]-Pentixafor

La voie de signalisation impliquant le récepteur CXCR4 est également impliquée dans d'autres pathologies, notamment inflammatoires. (84,85) Effectivement, dans la polyarthrite rhumatoïde, les cellules T CD4+ exprimant CXCR4 s'accumulent dans la synoviale, du fait d'une augmentation locale de la concentration en chimiokine CXCL12. Dans l'athérosclérose, l'afflux de leucocytes implique également le récepteur CXCR4. En cas de pathologie vasculaire (anévrisme, infarctus du myocarde, myocardite), la voie CXCR4 est activée et impliquée dans le remodelage vasculaire. Plusieurs études pilotes et preuves de concept montrent que le [⁶⁸Ga]-Pentixafor pourrait être utilisé en imagerie TEP dans ces indications hors cancérologie. (86–89) Grâce au [⁶⁸Ga]-Pentixafor, l'imagerie CXCR4 pourrait permettre une meilleure compréhension du rôle de la voie CXCR4/CXCL12 dans ces pathologies, et potentiellement ouvrir la voie à de nouvelles thérapeutiques. La figure 33 résume les essais cliniques en cours évaluant le [⁶⁸Ga]-Pentixafor dans des indications hors cancérologie.

Essai Clinique	Médicament	Indication	Pré-clinique	Phase I	Phase II	Phase III
Lausanne	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Inflammation myocardique aigue				
Houston US	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Inflammation des tumeurs solides				
UHN Toronto	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Inflammation induite par la radiothérapie				
UHN Toronto	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Inflammation anévrysme				
UHN Toronto	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Inflammation greffe rénale				
Vienna	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Athérosclérose				
MNH Hannover	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Infarctus du myocarde				
MNH Hannover	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Rhumatisme				
UKW Wurzburg	[⁶⁸ Ga]-Pentixafor	Artérite à cellule géante				

Figure 32 : Essais cliniques en cours utilisant le [⁶⁸Ga]-Pentixafor hors oncologie

La recherche clinique sur [⁶⁸Ga]-Pentixafor n'empêche pas le développement d'autre MRP ciblant le récepteur CXCR4. Par exemple, l'utilisation d'un autre chélateur que le DOTA, tel que le NOTA, pourrait permettre de simplifier les conditions de radiomarquage. Cependant, une étude montre que le [⁶⁸Ga]NOTA-Pentixafor, malgré une affinité supérieure *in vitro*, montre une moins bonne efficacité *in vivo* (augmentation du bruit, diminution de la captation par les tumeurs sur des modèles de lymphome, et diminution de la spécificité). (90)

Le ⁶⁸Ga en tant que radionucléide pour l'imagerie TEP, malgré ses avantages, présente également des limites. L'énergie importante de la particule βmax émise entraîne en effet une diminution de la résolution spatiale par rapport au « gold standard » des radionucléides TEP, le ¹⁸F. Des pistes de recherches consistent donc à développer de nouveaux MRP, ciblant CXCR4, et radiomarqués au ¹⁸F. C'est par exemple le cas de [¹⁸F]-BL08 et [¹⁸F]-BL09, présentant des propriétés intéressantes sur des modèles animaux. (91) L'imagerie TEP, ou les générateurs de ⁶⁸Ga ne sont pas disponibles dans tous les centres de médecine nucléaire. C'est pourquoi

l'utilisation du ^{99m}Tc peut également présenter des avantages, aussi bien en termes de simplicité de radiomarquage, que de disponibilité. Un ligand de CXCR4 marqué au ^{99m}Tc a été récemment développé, et présente des premiers résultats intéressants sur des patients atteints de tumeurs cérébrales.(92) Ces deux exemples montrent que l'imagerie de la voie CXCR4 ne s'arrête donc pas à l'utilisation du ^{68}Ga .

La radiothérapie interne vectorisée ciblant les récepteurs CXCR4 est également en développement. Deux études pilotes, détaillées en partie I, montrent la faisabilité de la RIV pour des patients atteints de myélome multiple.

Le choix du radionucléide peut dépendre des situations et reste encore à préciser. Tout d'abord, l'énergie de la particule β^- émise diffère avec un $E\beta_{\text{max}}$ de 2,3 MeV pour l' ^{90}Y , et de 0,5 MeV pour le ^{177}Lu . Le parcours maximal de la particule β^- est de d'environ 11 mm pour le ^{90}Y , et de 1,5 mm pour le ^{177}Lu . L'utilisation de l' ^{90}Y pourrait donc être plus adaptée au traitement de masses tumorales importantes, avec cependant un risque d'irradiation des tissus sains plus important. De plus, l'affinité du Pentixather pour la moelle osseuse est responsable de la principale toxicité aiguë du traitement, provoquant une aplasie médullaire dans la plupart des cas, avec une certaine variabilité interindividuelle. C'est pourquoi une autogreffe de cellules souches semble indispensable en cas de RIV, qui serait donc réservée aux patients jeunes, éligibles à la greffe. Il est alors indispensable d'attendre la décroissance du radionucléide avant de procéder à celle-ci. L'Yttrium-90 présente l'avantage d'avoir une période plus courte que le Lutétium-177, et permet donc de procéder à la greffe plus rapidement. La prise en charge de ces patients nécessiterait la mise en place d'une organisation spécifique. En effet, les patients en aplasie doivent être pris en charge dans des secteurs protégés, adaptés pour diminuer le risque infectieux. Par chance, les contraintes de radioprotection sont limitées avec ces deux radionucléides.

La dose absorbée aux reins est limitante, avec une variabilité interindividuelle comprise entre 0,4 et 3,5 Gy/GBq. La perfusion concomitante d'acides aminés permet de réduire la dose absorbée aux reins en moyenne de $64\pm 13\%$ (valeur issue de 6 patients). Une des caractéristiques du myélome multiple est l'atteinte rénale, causée par une précipitation des chaînes légères d'immunoglobuline au niveau des tubules rénaux. Plus de la moitié des patients atteints de MM présentent une insuffisance rénale chronique. Cette caractéristique

doit donc être prise en compte dans le choix du traitement et de la dose administrée. Afin de déterminer la dose à administrer, une dosimétrie individualisée pré-thérapeutique peut être effectuée grâce à une injection unique de 200 MBq de [¹⁷⁷Lu]-Pentixather.

La maîtrise de ces potentiels effets indésirables passe par des adaptations également du rythme des administrations, de la posologie de la RIV (suite à des études de dosimétrie optimisée et si possible personnalisée). L'anticipation de ces EI (G) peut aussi conduire les cliniciens à mettre en place chez ces patients différents types de traitement notamment afin d'en limiter les manifestations. La prise en charge de ces patients nécessite donc une approche multidisciplinaire, regroupant médecin nucléaire, oncologue, hématologue et radiopharmacien.

La radiothérapie interne vectorisée ciblant les récepteurs CXCR4 pourrait donc permettre d'améliorer la prise en charge de certains patients. Cependant, les modalités de traitement, les indications et la prise en charge des effets indésirables doivent encore être précisées dans de futurs essais cliniques. (93)

Le concept de théranostique ne s'arrête pas aux traitements par radiothérapie interne vectorisée. En effet, il s'agit d'un concept plus global ayant pour objectif de déterminer les caractéristiques de la maladie qui peuvent en influencer le traitement. Dans la leucémie aigüe lymphoïde et myéloïde, le ciblage de cette voie par des molécules « froides » fait l'objet de nombreuses recherches. Des inhibiteurs (anticorps ou peptides) de CXCR4 ont été testés dans un cadre de chimio sensibilisation, avec des résultats toutefois décevants. (94) Des publications ont également montré l'intérêt *in vitro* et *in vivo* chez l'animal d'un traitement par un anticorps conjugué ciblant le récepteur CXCR4. (95) (96) Dans tous ces cas, une imagerie préalable au [⁶⁸Ga]-Pentixafor pourrait permettre de vérifier l'expression ou la surexpression du récepteur CXCR4 afin d'évaluer l'intérêt d'un traitement le ciblant.

CONCLUSION :

Le travail mené par la radiopharmacie du CHU de Bordeaux a donc permis d'élaborer une méthode de préparation semi-automatisée du [⁶⁸Ga]-Pentixafor à l'aide d'un générateur Galli-Ad, et d'un automate Trasis mini AllinOne, à partir d'un précurseur chimique. La validation de la méthode analytique utilisée et l'ensemble des contrôles qualité permettent la libération du produit fini. Les trois lots de validations préparés respectent les spécifications établies selon la Pharmacopée Européenne et le laboratoire Pentixapharm. Après validation par l'ANSM, ce travail permettra la participation du CHU de Bordeaux à l'essai clinique Penti-MIDAS. Les résultats de cet essai clinique permettront de mieux appréhender le rôle du récepteur CXCR4 dans la physiopathologie du myélome multiple, et la place du [⁶⁸Ga]-Pentixafor pour l'imagerie du MM.

En parallèle, le développement d'une trousse de radiomarquage pour la préparation du [⁶⁸Ga]-Pentixafor dans le cadre de l'essai FORPAN confirme la simplicité et la rapidité d'utilisation des trousse pour le radiomarquage au ⁶⁸Ga par rapport à l'utilisation d'un précurseur chimique. A terme, le développement de kits de radiomarquage facilitera l'utilisation du ⁶⁸Ga en routine clinique.

Le [⁶⁸Ga]-Pentixafor et le récepteur CXCR4 ouvrent également la voie à la radiothérapie interne vectorisée dans plusieurs indications en oncologie grâce au Pentixather. Les premières études pilotes encourageantes vont ainsi permettre le développement de la théragnostique et l'implication des services de médecine nucléaire et de la radiopharmacie dans la prise en charge innovante de patients atteints de pathologies oncologiques.

Références :

1. Décret n° 2021-1930 du 30 décembre 2021 relatif aux conditions d'implantation de l'activité de médecine nucléaire. 2021-1930 déc 30, 2021.
2. Arrêté du 1er décembre 2003 relatif aux qualifications et à la formation des pharmaciens utilisant des médicaments radiopharmaceutiques dans les établissements de santé et les syndicats interhospitaliers
3. Blamey RW, Hornmark-Stenstam B, Ball G, Blichert-Toft M, Cataliotti L, Fourquet A, et al. ONCOPOOL - a European database for 16,944 cases of breast cancer. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. janv 2010;46(1):56-71.
4. Van Kruchten M, de Vries EGE, Brown M, de Vries EFJ, Glaudemans AWJM, Dierckx RAJO, et al. PET imaging of oestrogen receptors in patients with breast cancer. *Lancet Oncol*. oct 2013;14(11):e465-75.
5. Gallium | Ga (Element) - PubChem [Internet]. [cité 1 mai 2023]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/element/Gallium>
6. Morgat C, Hindié E, Mishra AK, Allard M, Fernandez P. Gallium-68: Chemistry and Radiolabeled Peptides Exploring Different Oncogenic Pathways. *Cancer Biother Radiopharm*. mars 2013;28(2):85-97.
7. Laboratoire National Henri Becquerel-Gallium-58 [Internet]. [cité 1 mai 2023]. Disponible sur: http://www.lnhb.fr/nuclides/Ga-68_tables.pdf
8. Sanchez-Crespo A. Comparison of Gallium-68 and Fluorine-18 imaging characteristics in positron emission tomography. *Appl Radiat Isot Data Instrum Methods Use Agric Ind Med*. juin 2013;76:55-62.
9. Rösch F. 68Ge/68Ga Generators: Past, Present, and Future. In: Baum RP, Rösch F, éditeurs. *Theranostics, Gallium-68, and Other Radionuclides*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2013. p. 3-16. (Recent Results in Cancer Research).
10. Résumé des caractéristiques du produit - Galliad®-Disponible sur <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/>
11. Kumar K. The Current Status of the Production and Supply of Gallium-68. *Cancer Biother Radiopharm*. 1 avr 2020;35(3):163-6.
12. Pellico J, Gawne PJ, Rosales RTM de. Radiolabelling of nanomaterials for medical imaging and therapy. *Chem Soc Rev*. 15 mars 2021;50(5):3355-423.
13. Spang P, Herrmann C, Roesch F. Bifunctional Gallium-68 Chelators: Past, Present, and Future. *Semin Nucl Med*. 1 sept 2016;46(5):373-94.

14. Kilian K. 68Ga-DOTA and analogs: Current status and future perspectives. *Rep Pract Oncol Radiother.* 19 mai 2014;19(Suppl):S13-21.
15. Evaluation of Bifunctional Chelates for the Development of Gallium-Based Radiopharmaceuticals Cara L. Ferreira, Eric Lamsa, Michael Woods, Yin Duan, Pasan Fernando, Corinne Bensimon, Myra Kordos, Katharina Guenther, Paul Jurek, and Garry E. Kiefer *Bioconjugate Chemistry* 2010 21 (3), 531-536
17. Boss A, Bisdas S, Kolb A, Hofmann M, Ernemann U, Claussen CD, et al. Hybrid PET/MRI of intracranial masses: initial experiences and comparison to PET/CT. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* août 2010;51(8):1198-205.
18. Price EW, Orvig C. Matching chelators to radiometals for radiopharmaceuticals. *Chem Soc Rev.* 7 janv 2014;43(1):260-90.
19. Eder M, Wängler B, Knackmuss S, LeGall F, Little M, Haberkorn U, et al. Tetrafluorophenolate of HBED-CC: a versatile conjugation agent for 68Ga-labeled small recombinant antibodies. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* oct 2008;35(10):1878-86.
20. Résumé des caractéristique du produit - SomakitTOC - disponible sur <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/>
21. Lee I, Paeng JC, Lee SJ, Shin CS, Jang JY, Cheon GJ, et al. Comparison of Diagnostic Sensitivity and Quantitative Indices Between 68Ga-DOTATOC PET/CT and 111In-Pentetreotide SPECT/CT in Neuroendocrine Tumors: a Preliminary Report. *Nucl Med Mol Imaging.* déc 2015;49(4):284-90.
22. Ambrosini V, Campana D, Bodei L, Nanni C, Castellucci P, Allegri V, et al. 68Ga-DOTANOC PET/CT Clinical Impact in Patients with Neuroendocrine Tumors. *J Nucl Med.* 1 mai 2010;51(5):669-73.
23. Galldiks N, Albert NL, Sommerauer M, Grosu AL, Ganswindt U, Law I, et al. PET imaging in patients with meningioma-report of the RANO/PET Group. *Neuro-Oncol.* 29 nov 2017;19(12):1576-87.
24. Bařinka C, Rojas C, Slusher B, Pomper M. Glutamate Carboxypeptidase II in Diagnosis and Treatment of Neurologic Disorders and Prostate Cancer. *Curr Med Chem.* 2012;19(6):856-70.
25. 20220110-aac-psma-11-put-01-22.pdf [Internet]. [cité 1 mai 2023]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/uploads/2022/01/10/20220110-aac-psma-11-put-01-22.pdf>
26. Perera M, Papa N, Christidis D, Wetherell D, Hofman MS, Murphy DG, et al. Sensitivity, Specificity, and Predictors of Positive 68Ga-Prostate-specific Membrane Antigen Positron Emission Tomography in Advanced Prostate Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Eur Urol.* déc 2016;70(6):926-37.
27. Afshar-Oromieh A, Zechmann CM, Malcher A, Eder M, Eisenhut M, Linhart HG, et al. Comparison of PET imaging with a (68)Ga-labelled PSMA ligand and (18)F-choline-based PET/CT for the diagnosis of recurrent prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* janv 2014;41(1):11-20.
28. Haute Autorité de Santé- Avis de la Commission de la Transparence. RADELUMIN ([18F]PSMA-1007)

29. Sollini M, Kirienko M, Gelardi F, Fiz F, Gozzi N, Chiti A. State-of-the-art of FAPI-PET imaging: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 1 déc 2021;48(13):4396-414.
30. Frangos, S., Buscombe, J.R. Why should we be concerned about a “g”? *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 46, 519 (2019).
31. Wiesing U. Theranostics: is it really a revolution? Evaluating a new term in medicine. *Med Health Care Philos*. 1 déc 2019;22(4):593-7.
32. Erikainen S, Chan S. Contested futures: envisioning “Personalized,” “Stratified,” and “Precision” medicine. *New Genet Soc*. 12 juill 2019;38(3):308-30.
33. Marín A, Martín M, Liñán O, Alvarenga F, López M, Fernández L, et al. Bystander effects and radiotherapy. *Rep Pract Oncol Radiother*. 28 août 2014;20(1):12-21.
34. Baidoo KE, Yong K, Brechbiel MW. Molecular pathways: targeted α -particle radiation therapy. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 1 févr 2013;19(3):530-7.
35. Haberkorn U, Giesel F, Morgenstern A, Kratochwil C. JRC Publications Repository. 2017 The Future of Radioligand Therapy: α , β , or Both?
36. Gomes Marin JF, Nunes RF, Coutinho AM, Zaniboni EC, Costa LB, Barbosa FG, et al. Theranostics in Nuclear Medicine: Emerging and Re-emerging Integrated Imaging and Therapies in the Era of Precision Oncology. *RadioGraphics*. oct 2020;40(6):1715-40.
37. 1. Strosberg J, El-Haddad G, Wolin E, Hendifar A, Yao J, Chasen B, et al. Phase 3 Trial of ¹⁷⁷Lu-Dotatate for Midgut Neuroendocrine Tumors. *N Engl J Med*. 2017;376(2):125- 35.
38. ANSM [Internet]. [cité 1 mai 2023]. Modification du cadre de prescription compassionnelle du médicament Lutathera 370 MBq/mL, solution pour perfusion. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/actualites/decision-du-27-07-2022-modification-du-cadre-de-prescription-compassionnelle-du-medicament-lutathera-370-mbq-ml-solution-pour-perfusion>
39. Sartor O, de Bono J, Chi KN, Fizazi K, Herrmann K, Rahbar K, et al. Lutetium-177–PSMA-617 for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *N Engl J Med*. 16 sept 2021;385(12):1091-103.
40. Kratochwil C, Bruchertseifer F, Rathke H, Hohenfellner M, Giesel FL, Haberkorn U, et al. Targeted α -Therapy of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer with ²²⁵Ac-PSMA-617: Swimmer-Plot Analysis Suggests Efficacy Regarding Duration of Tumor Control. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. mai 2018;59(5):795-802.
41. Feuerecker B, Tauber R, Knorr K, Heck M, Beheshti A, Seidl C, et al. Activity and Adverse Events of Actinium-225-PSMA-617 in Advanced Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer After Failure of Lutetium-177-PSMA. *Eur Urol*. 1 mars 2021;79(3):343-50.
42. Berger EA. Introduction: HIV co-receptors solve old questions and raise many new ones. *Semin Immunol*. juin 1998;10(3):165-8.
43. Bleul CC, Fuhlbrigge RC, Casasnovas JM, Aiuti A, Springer TA. A highly efficacious lymphocyte chemoattractant, stromal cell-derived factor 1 (SDF-1). *J Exp Med*. 1 sept 1996;184(3):1101-9.
44. Bianchi ME, Mezzapelle R. The Chemokine Receptor CXCR4 in Cell Proliferation and Tissue Regeneration. *Front Immunol*. 28 août 2020;11:2109.

45. Chatterjee S, Behnam Azad B, Nimmagadda S. The intricate role of CXCR4 in cancer. *Adv Cancer Res.* 2014;124:31-82.
46. Gatti M, Pattarozzi A, Bajetto A, Würth R, Daga A, Fiaschi P, et al. Inhibition of CXCL12/CXCR4 autocrine/paracrine loop reduces viability of human glioblastoma stem-like cells affecting self-renewal activity. *Toxicology.* 15 déc 2013;314(2-3):209-20.
47. Tavernier E, Aanei C, Solly F, Flandrin-Gresta P, Campos L, Guyotat D. CXCR4 : nouvelle cible thérapeutique de la cellule leucémique ? *Bull Cancer (Paris).* 1 juin 2014;101(6):593-604.
48. Gardner KP, Tsai S, Aldakkak M, Gironde S, Adams DL. CXCR4 expression in tumor associated cells in blood is prognostic for progression and survival in pancreatic cancer. *PLoS ONE.* 8 mars 2022;17(3):e0264763.
49. Walenkamp AME, Lapa C, Herrmann K, Wester HJ. CXCR4 Ligands: The Next Big Hit? *J Nucl Med.* 1 sept 2017;58(Supplement 2):77S-82S.
50. Tamamura H, Hiramatsu K, Ueda S, Wang Z, Kusano S, Terakubo S, et al. Stereoselective synthesis of [L-Arg-L/D-3-(2-naphthyl)alanine]-type (E)-alkene dipeptide isosteres and its application to the synthesis and biological evaluation of pseudopeptide analogues of the CXCR4 antagonist FC131. *J Med Chem.* 27 janv 2005;48(2):380-91.
51. Dijkgraaf I, Demmer O, Schumacher U, Feldhaus S, Anton M, Brandau W, et al. CXCR4 receptor targeting for in-vivo imaging of metastases. *J Nucl Med.* 1 mai 2008;49(supplement 1):103P-103P.
52. Nimmagadda S, Pullambhatla M, Pomper MG. Immunoimaging of CXCR4 expression in brain tumor xenografts using SPECT/CT. *J Nucl Med.* 2009 Jul;50(7):1124-30. doi: 10.2967/jnumed.108.061325. PMID: 19525448; PMCID: PMC3075860.
53. Misra P, Lebeche D, Ly H, Schwarzkopf M, Diaz G, Hajjar RJ, Schechter AD, Frangioni JV. Quantitation of CXCR4 expression in myocardial infarction using 99mTc-labeled SDF-1alpha. *J Nucl Med.* 2008 Jun;49(6):963-9. doi: 10.2967/jnumed.107.050054. Epub 2008 May 15. PMID: 18483105; PMCID: PMC2712574.
54. Demmer O, Gourni E, Schumacher U, Kessler H, Wester HJ. PET Imaging of CXCR4 Receptors in Cancer by a New Optimized Ligand. *Chemmedchem.* 4 oct 2011;6(10):1789-91.
55. Albano D, Dondi F, Bertagna F, Treglia G. The Role of [68Ga]Ga-Pentixafor PET/CT or PET/MRI in Lymphoma: A Systematic Review. *Cancers.* janv 2022;14(15):3814.
56. Rasche L, Angtuaco E, McDonald JE, Buros A, Stein C, Pawlyn C, et al. Low expression of hexokinase-2 is associated with false-negative FDG–positron emission tomography in multiple myeloma. *Blood.* 6 juill 2017;130(1):30-4.
57. Pan Q, Cao X, Luo Y, Li J, Feng J, Li F. Chemokine receptor-4 targeted PET/CT with 68Ga-Pentixafor in assessment of newly diagnosed multiple myeloma: comparison to 18F-FDG PET/CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* mars 2020;47(3):537-46.
58. Zhou X, Dierks A, Kertels O, Kircher M, Schirbel A, Samnick S, et al. 18F-FDG, 11C-Methionine, and 68Ga-Pentixafor PET/CT in Patients with Smoldering Multiple Myeloma: Imaging Pattern and Clinical Features. *Cancers.* 18 août 2020;12(8):2333.

59. Lapa C, Lückcrath K, Kleinlein I, Monoranu CM, Linsenmann T, Kessler AF, et al. ⁶⁸Ga-Pentixafor-PET/CT for Imaging of Chemokine Receptor 4 Expression in Glioblastoma. *Theranostics*. 25 janv 2016;6(3):428-34.
60. Werner RA, Kircher S, Higuchi T, Kircher M, Schirbel A, Wester HJ, et al. CXCR4-Directed Imaging in Solid Tumors. *Front Oncol*. 14 août 2019;9:770.
61. Schottelius M, Osl T, Poschenrieder A, Hoffmann F, Beykan S, Hänscheid H, et al. [177Lu]pentixather: Comprehensive Preclinical Characterization of a First CXCR4-directed Endoradiotherapeutic Agent. *Theranostics*. 11 juin 2017;7(9):2350-62.
62. Herrmann K, Schottelius M, Lapa C, Osl T, Poschenrieder A, Hänscheid H, et al. First-in-Human Experience of CXCR4-Directed Endoradiotherapy with 177Lu- and 90Y-Labeled Pentixather in Advanced-Stage Multiple Myeloma with Extensive Intra- and Extramedullary Disease. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. févr 2016;57(2):248-51.
63. Lapa C, Herrmann K, Schirbel A, Hänscheid H, Lückcrath K, Schottelius M, et al. CXCR4-directed endoradiotherapy induces high response rates in extramedullary relapsed Multiple Myeloma. *Theranostics*. 2017;7(6):1589-97.
64. Loi n° 88-1138 du 20 décembre 1988 relative à la protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales.
65. LOI n° 2004-806 du 9 août 2004 relative à la politique de santé publique (1). 2004-806 août 9, 2004.
66. Arrêté du 12 avril 2018 fixant la liste des recherches mentionnées au 2° de l'article L. 1121-1 du code de la santé publique.
67. Article L5121-1 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. [cité 13 mai 2023]. Disponible sur: https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000044628485
68. Article R5126-33 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. [cité 13 mai 2023]. Disponible sur: https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000038597763
69. EMA. European Medicines Agency. 2018 [cité 13 mai 2023]. Requirements to the chemical and pharmaceutical quality documentation concerning investigational medicinal products in clinical trials - Scientific guideline. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/requirements-chemical-pharmaceutical-quality-documentation-concerning-investigational-medicinal>
70. Todde S, Windhorst AD, Behe M, Bormans G, Decristoforo C, Faivre-Chauvet A, et al. EANM guideline for the preparation of an Investigational Medicinal Product Dossier (IMPD). *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. nov 2014;41(11):2175-85.
71. Philipp-Abbrederis K, Herrmann K, Knop S, Schottelius M, Eiber M, Lückcrath K, et al. In vivo molecular imaging of chemokine receptor CXCR4 expression in patients with advanced multiple myeloma. *EMBO Mol Med*. avr 2015;7(4):477-87.
72. Lapa C, Schreder M, Schirbel A, Samnick S, Kortüm KM, Herrmann K, et al. [68Ga]Pentixafor-PET/CT for imaging of chemokine receptor CXCR4 expression in multiple myeloma - Comparison to [18F]FDG and laboratory values. *Theranostics*. 2017;7(1):205-12.

73. Sammartano A, Migliari S, Scarlattei M, Baldari G, Ruffini L. Synthesis, validation and quality controls of [68Ga]-DOTA-Pentixafor for PET imaging of chemokine receptor CXCR4 expression. *Acta Bio-Medica Atenei Parm.* 6 juill 2020;91(4):e2020097.
74. Daniel T, Balouzet Ravinet C, Clerc J, Batista R, Mouraëff Y. Automated synthesis and quality control of [68Ga]Ga-PentixaFor using the Gaia/Luna Elysia-Raytest module for CXCR4 PET imaging. *EJNMMI Radiopharm Chem.* 7 févr 2023;8(1):4.
75. Morgat C, Vimont D, Hindié E, Fernandez P, Buj S. Étude dosimétrique de préparations de médicaments radiopharmaceutiques au 68Ga. *Médecine Nucl.* oct 2019;43(5-6):381-5.
76. Constance D. Thèse d'exercice de pharmacie. [68Ga]Ga-DOTA-Pentixafor : un nouveau radiopharmaceutique pour la TEP. 2020.
77. Résumé des Caractéristiques du Produit - Gallipharm. Disponible sur: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0258781.htm>
78. Résumé des Caractéristiques du Produit- GalliAd Disponible sur: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0324300.htm>
79. Nelson BJB, Andersson JD, Wuest F, Spreckelmeyer S. Good practices for 68Ga radiopharmaceutical production. *EJNMMI Radiopharm Chem.* 22 oct 2022;7(1):27.
80. Bauwens M, Chekol R, Vanbilloen H, Bormans G, Verbruggen A. Optimal buffer choice of the radiosynthesis of 68Ga-Dotatoc for clinical application. *Nucl Med Commun.* 1 août 2010;31:753-8.
81. le Roux J, Kleynhans J, Rubow S. The use of HEPES-buffer in the production of gallium-68 radiopharmaceuticals – time to reconsider strict pharmacopoeial limits? *EJNMMI Radiopharm Chem.* 1 avr 2021;6:15.
82. Kleynhans J, Rubow S, le Roux J, Marjanovic-Painter B, Zeevaart JR, Ebenhan T. Production of [68 Ga]Ga-PSMA: Comparing a manual kit-based method with a module-based automated synthesis approach. *J Label Compd Radiopharm.* nov 2020;63(13):553-63.
83. Lepareur N. Cold Kit Labeling: The Future of 68Ga Radiopharmaceuticals? *Front Med.* 2022;9:812050.
84. Wang A, Guilpain P, Chong BF, Chouzenoux S, Guillevin L, Du Y, et al. Dysregulated expression of CXCR4/CXCL12 in subsets of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* nov 2010;62(11):3436-46.
85. Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature.* 15 mai 2003;423(6937):356-61.
86. Ding, Jie MD*; Tong, Anli MD†; Hacker, Marcus MD‡; Feng, Ming MD§; Huo, Li MD*; Li, Xiang PhD‡. Usefulness of 68Ga-Pentixafor PET/CT on Diagnosis and Management of Cushing Syndrome. *Clinical Nuclear Medicine* 47(8):p 669-676, August 2022. | DOI: 10.1097/RLU.0000000000004244
87. Li X, Heber D, Leike T, Beitzke D, Lu X, Zhang X, et al. [68Ga]Pentixafor-PET/MRI for the detection of Chemokine receptor 4 expression in atherosclerotic plaques. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2018;45(4):558-66.

88. Lapa C, Reiter T, Werner RA, Ertl G, Wester HJ, Buck AK, et al. [(68)Ga]Pentixafor-PET/CT for Imaging of Chemokine Receptor 4 Expression After Myocardial Infarction. *JACC Cardiovasc Imaging*. déc 2015;8(12):1466-8.
89. Li X, Kemmer L, Zhang X, Kircher M, Buck AK, Wester HJ, et al. Anti-Inflammatory Effects on Atherosclerotic Lesions Induced by CXCR4-Directed Endoradiotherapy. *J Am Coll Cardiol*. 3 juill 2018;72(1):122-3.
90. Poschenrieder A, Schottelius M, Schwaiger M, Wester HJ. Preclinical evaluation of [68Ga]NOTA-pentixafor for PET imaging of CXCR4 expression in vivo — a comparison to [68Ga]pentixafor. *EJNMMI Res*. 21 sept 2016;6:70.
91. Kwon D, Lozada J, Zhang Z, Zeisler J, Poon R, Zhang C, et al. High-Contrast CXCR4-Targeted 18F-PET Imaging Using a Potent and Selective Antagonist. *Mol Pharm*. 4 janv 2021;18(1):187-97.
92. Vallejo-Armenta P, Santos-Cuevas C, Soto-Andonaegui J, Villanueva-Pérez RM, González-Díaz JI, García-Pérez FO, et al. 99mTc-CXCR4-L for Imaging of the Chemokine-4 Receptor Associated with Brain Tumor Invasiveness: Biokinetics, Radiation Dosimetry, and Proof of Concept in Humans. *Contrast Media Mol Imaging*. 27 avr 2020;2020:2525037.
93. Buck AK, Serfling SE, Lindner T, Hänscheid H, Schirbel A, Hahner S, et al. CXCR4-targeted theranostics in oncology. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2022;49(12):4133-44.
94. Cancilla D, Rettig MP, DiPersio JF. Targeting CXCR4 in AML and ALL. *Front Oncol*. 4 sept 2020;10:1672.
95. Kuhne MR, Mulvey T, Belanger B, Chen S, Pan C, Chong C, Cao F, Niekro W, Kempe T, Henning KA, Cohen LJ, Korman AJ, Cardarelli PM. BMS-936564/MDX-1338: a fully human anti-CXCR4 antibody induces apoptosis in vitro and shows antitumor activity in vivo in hematologic malignancies. *Clin Cancer Res*. 2013 Jan 15;19(2):357-66. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2333. Epub 2012 Dec 4. PMID: 23213054.
96. Costa MJ, Kudaravalli J, Ma JT, Ho WH, Delaria K, Holz C, et al. Optimal design, anti-tumour efficacy and tolerability of anti-CXCR4 antibody drug conjugates. *Sci Rep*. 21 févr 2019;9:2443.

AUTEUR : FRUIT Côme

TITRE : Validation d'une méthode de préparation d'un médicament radiopharmaceutique innovant : le [⁶⁸Ga]-Pentixafor

DIRECTEUR DE THESE : Dr Frédéric Debordeaux

LIEU ET DATE DE SOUTENANCE : Le 02 Octobre 2023 à Toulouse

RESUME en français

Le récepteur aux chimiokines CXCR4 est exprimé par de nombreux cancers. Le [⁶⁸Ga]-Pentixafor est le médicament radiopharmaceutique ciblant CXCR4 le plus abouti à ce jour. Son utilisation dans le cadre de la recherche impliquant la personne humaine impose de développer et de faire valider par l'ANSM un procédé de préparation et des contrôles qualités adaptés. La radiopharmacie du CHU de Bordeaux a développé une méthode de synthèse semi-automatisée de [⁶⁸Ga]-Pentixafor à partir d'un précurseur chimique. Les trois lots de validations effectués respectent l'ensemble des spécifications établis par le laboratoire et la Pharmacopée Européenne. Trois lots de validations ont également été effectués à partir d'une trousse de radiomarquage. Ce travail a donc permis la participation du CHU de Bordeaux à deux essais cliniques, dont les résultats permettront de mieux appréhender le rôle du récepteur CXCR4 en oncologie.

Titre et résumé en Anglais : voir au recto de la dernière page de la thèse

The chemokine receptor CXCR4 is expressed by many cancers. [⁶⁸Ga]-Pentixafor is the most advanced radiopharmaceutical targeting CXCR4 to date. Its use in research involving the human body requires the development and validation of an appropriate preparation process and quality controls by ANSM. The radiopharmacy at Bordeaux University Hospital has developed a semi-automated method for synthesizing [⁶⁸Ga]-Pentixafor from a chemical precursor. The three validation batches meet all the specifications set by the laboratory and the European Pharmacopoeia. Three validation batches were also carried out using a radiolabeling kit. This work has enabled the CHU de Bordeaux to take part in two clinical trials, the results of which will provide a better understanding of the role of the CXCR4 receptor in oncology.

DISCIPLINE administrative : Pharmacie

MOTS-CLES : Radiopharmacie, médicament expérimental, Tomographie par émission de positons, récepteur CXCR4

KEYWORDS : Radiopharmacy, experimental drug, positron emission tomography, CXCR4 receptor

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Faculté des sciences pharmaceutiques

UPS 35 chemin des Maraîchers

31400 Toulous