

На правах рукописи

**Андронов Владислав Геннадиевич**

**ПОЛУЧЕНИЕ СВЕРХЧИСТЫХ  
ХЛОРИДНЫХ РАСТВОРОВ  
ГАЛЛИЯ-68 ДЛЯ МЕДИЦИНСКОГО  
ПРИМЕНЕНИЯ**

05.17.02 - Технология редких, рассеянных и радиоактивных  
элементов

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

**Москва 2012**

Работа выполнена в Российском химико-технологическом университете имени Д. И. Менделеева и Федеральном медицинском биофизическом центре имени А. И. Бурназяна

Научный руководитель

доктор химических наук, профессор, Очкин Александр Васильевич

Официальные оппоненты:

доктор химических наук, профессор, Синегрибова Оксана Афанасьевна  
Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева

кандидат химических наук, Деревянко Евгений Петрович  
Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева

Ведущая организация:

Институт Геохимии и Аналитической химии им. В. И. Вернадского РАН

Защита диссертации состоится 01 марта 2012 года в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 212.204.09 при РХТУ им. Д. И. Менделеева (125480, Москва, ул. Героев Панфиловцев, дом. 20, корпус 1) в конференц-зале ИМСЭН-ИФХ.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-библиотечном центре РХТУ им. Д. И. Менделеева.

Автореферат диссертации разослан «\_\_\_\_\_» января 2012 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

Д 212.204.09

И.Л. Растунова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Металлы, входящие в группу редких и рассеянных элементов, находят все более широкое применение в различных отраслях экономики. Перспективным направлением применения редких металлов признана ядерная медицина, где радионуклиды используются для диагностики заболеваний сердца и сосудов, центральной нервной системы, для локализации, дифференцирования и лечения злокачественных новообразований. Современная ядерно-медицинская диагностика находится на новом уровне развития во всем мире, в первую очередь благодаря внедрению позитронно–эмиссионной томографии (ПЭТ). В этом методе используются, в первую очередь, изотопы или аналоги «биогенных» элементов:  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$  и  $^{18}\text{F}$ . Также может быть использован и ряд «неорганических» позитронных излучателей:  $^{55}\text{Co}$ ,  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{62}\text{Zn}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{82}\text{Rb}$ ,  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{94\text{m}}\text{Tc}$ ,  $^{110}\text{In}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{134}\text{La}$  и др.

Одним из наиболее перспективных позитрон–излучающих радионуклидов, потенциально пригодным для мечения большого числа протеинов, пептидов и малых молекул является  $^{68}\text{Ga}$ . Наибольший интерес представляет разработка методов синтеза меченных  $^{68}\text{Ga}$  радиофармпрепаратов, высокоспецифичных к злокачественным опухолям. Большим достоинством  $^{68}\text{Ga}$  является возможность его получения из коммерчески доступного генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  непосредственно в медицинском учреждении, в этом случае не требуется наличия изотопного производства в составе клиники. Весьма привлекательной представляется концепция использования мобильных ПЭТ-лабораторий, включающих в качестве важного элемента генератор  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  в комплекте с модулем синтеза РФП на его основе.

В настоящее время практически единственным коммерчески доступным генератором  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  в мире является генератор, разработанный в ГНЦ-ИБФ совместно с ЗАО «Циклотрон», который производится ЗАО «Циклотрон». Медицинское применение генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  в России пока не разрешено. В течение последних семи лет несколько десятков таких генераторов было экспортировано в 15 стран мира. В 2004 году рядом авторов было показано, что раствор  $^{68}\text{Ga}$  может быть использован для приготовления РФП, удовлетворяющих медицинским требованиям, только после тщательной очистки и концентрирования. При этом промышленные методы очистки галлия не могут быть применены напрямую, так как изотоп  $^{68}\text{Ga}$  имеет слишком короткий период полураспада (68 мин.) и применяется в нанограммовых количествах.

**Цель работы.** Катион  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  образует устойчивые комплексные соединения с многими биологически активными лигандами. В настоящее время, антитела и пептиды, меченные  $^{68}\text{Ga}$ , считают исключительно перспективными для применения в ПЭТ, в

первую очередь для диагностики онкологических заболеваний. В частности показано, что аналог соматостатина - октреотид, модифицированный с целью связывания радионуклидов подходящим хелатирующим агентом (например, ДОТА (тетра-азоциклододекан-тетраилацетат) или ДТПА (диэтилентриаминпентаацетат)), может быть эффективно использован для визуализации нейроэндокринных, желудочно-кишечных и некоторых других опухолей.

Проведение реакции модифицированного пептида с  $^{68}\text{Ga}$  предъявляет ряд требований к исходному раствору радионуклида - генераторному элюату, который должен иметь высокую радионуклидную чистоту, низкую кислотность, высокую объемную активность и низкое содержание химических примесей, способных также вступать в реакцию с модифицированным пептидом, что снижает выход целевого продукта.

Целью настоящей работы являлось создание и экспериментальная проверка технологии и устройства для кондиционирования элюатов генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , обеспечивающих в дальнейшем возможность создания и внедрения в отечественную клиническую практику новых ПЭТ-технологий.

Для реализации указанной цели нужно было решить следующие задачи:

1. Провести систематический контроль эксплуатационных характеристик генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (производства ЗАО «Циклотрон», Обнинск) и показателей качества элюата - раствора  $^{68}\text{Ga}$  без носителя в 0,1 М HCl, в течение срока годности генератора;
2. Изучить сорбционное поведение  $^{68}\text{Ga}$  и  $^{68}\text{Ge}$  на гранулированном и волокнистых «наполненных» отечественных сорбентах (АВ-17 и ПОЛИОРГС) в статических и динамических условиях и определить оптимальные условия очистки  $^{68}\text{Ga}$  от примесей металлов и материнского радионуклида при одновременном концентрировании растворов  $^{68}\text{Ga}$ ;
3. Разработать и испытать прототип модуля кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ ;
4. Провести сравнительный химический анализ исходного и очищенного растворов  $^{68}\text{Ga}$  с целью определения оптимальных условий очистки;
5. Разработать методы введения  $^{68}\text{Ga}$  в молекулу модифицированного ДТПА-октреотида (ДО) и анализа радиохимического состава полученного препарата.

#### **Научная новизна работы.**

1. Впервые накоплены данные о стабильности работы генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  и об изменении его ключевых характеристик с течением времени с целью его применения в ядерной медицине.
2. В экспериментах по сравнительному изучению кинетики распределения  $^{68}\text{Ga}$  между различными сорбентами ПОЛИОРГС и растворами HCl впервые определены

коэффициенты распределения  $^{68}\text{Ga}$ . Установлено, что наиболее эффективными сорбентами  $^{68}\text{Ga}$  являются АВ-17-н и ПОЛИОРГС-17-н.

3. Определены оптимальные параметры процесса концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  в модельных экспериментах по сорбции и десорбции  $^{68}\text{Ga}$  и  $^{68}\text{Ge}$  в динамических условиях на «наполненных» сорбентах ПОЛИОРГС в солянокислых растворах различной концентрации. Определены параметры химической и радионуклидной чистоты элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  до и после процесса кондиционирования.

4. На основе результатов изучения распределения  $^{68}\text{Ga}$  и примесей на «наполненных» сорбентах ПОЛИОРГС впервые предложен метод получения сверхчистых растворов  $^{68}\text{Ga}$  высокой объемной активности ( $\geq 1$  ГБк/мл) для медицинского применения.

5. Изучено влияние условий синтеза  $^{68}\text{Ga}$ -ДО на выход целевого продукта и предложена методика анализа препарата методом радиохроматографии.

#### **Практическая значимость работы.**

1. Установлено соответствие паспортным данным всех заявленных производителем характеристик генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  на протяжении всего периода эксплуатации.

2. Определены оптимальные условия очистки элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  от примесей металлов и материнского радионуклида при одновременном концентрировании  $^{68}\text{Ga}$  на волокнистых «наполненных» отечественных сорбентах ПОЛИОРГС в динамических условиях.

3. Разработан и испытан прототип модуля кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .

4. Разработан метод мечения модифицированного ДТПА-октреотида  $^{68}\text{Ga}$  и анализа полученного препарата. Изучено влияние условий синтеза  $^{68}\text{Ga}$ -ДО на выход целевого продукта и определены оптимальные условия синтеза. Проведено первичное биологическое тестирование биоконъюгатов, меченных  $^{68}\text{Ga}$ , и продемонстрирована функциональная пригодность  $^{68}\text{Ga}$ -ДО для использования в качестве нового отечественного радиофармпрепарата для ПЭТ-диагностики в онкологии.

**Апробация работы.** Основные результаты работы представлены и обсуждались на международных и российских конференциях: Всероссийская научно-техническая конференция "Современные проблемы ядерной медицины и радиофармацевтики", Обнинск, 2002 г.; Всероссийская научно-практическая конференция «Актуальные вопросы ядерной медицины и радиофармацевтики». Дубна, 20-26 июня 2004г.; 12th European Symposium on Radiopharmacy and Radiopharmaceuticals, Sopot, Poland. Sept. 9-12, 2004.; 5-я Международная конференция «Ядерная и радиационная физика», Алматы, Республика Казахстан, 2005.; Int. Symposium on Trends in Radiopharmaceuticals (ISTR-2005), Vienna, Austria, 2005.; Наука и технологии. XXVIII Российская школа. -

Миасс: МСНТ, 2008.; XIII Международная научно-практическая конференция «Наука и современность», Новосибирск, 2011.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 2 статьи и 6 тезисов докладов на конференциях. В том числе в научных журналах и изданиях, определенных Высшей аттестационной комиссией - 1 статья.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 106 страницах и содержит 56 рисунков, 18 таблиц и 95 библиографических ссылок.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Во введении** рассматривается актуальность применения  $^{68}\text{Ga}$ , как одного из наиболее перспективных генераторных радионуклидов с позитронным типом распада, который может быть использован для меченя большого числа протеинов, пептидов и малых молекул. Сформулирована основная цель работы и ее практическая значимость.

**Глава 1. Обзор литературы.** Представлены краткая история развития ПЭТ и обзор ядерно-физических характеристик радионуклидов, представляющих интерес для ПЭТ в целом и в частности  $^{68}\text{Ga}$ , а также других радионуклидов галлия. Описана история применения изотопов Ga в ядерной медицине. Кратко изложены химические свойства галлия и его сорбционное поведение. Рассмотрен ряд изотопных генераторов  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , производимых в мире с 1980-х по настоящее время. Показана важность синтеза новых специфических РФП на основе октреотида для диагностики нейроэндокринных опухолей. Рассмотрены аспекты применения ряда бифункциональных хелатирующих агентов в синтезе макромолекулярных трэйсеров, а также факторы, определяющие качество меченых биоконъюгатов. Обоснована необходимость концентрирования и очистки генераторного элюата от примесных мешающих катионов для увеличения выхода целевого продукта.

**Основные результаты и их обсуждение** изложены в 2-5 главах.

**В главе 2 «Эксплуатационные характеристики генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  и показатели качества элюатов»** представлены: паспортные характеристики генератора, методики калибровки и применения радиометрического оборудования, результаты элюирования генератора и измерений его основных параметров (выход  $^{68}\text{Ga}$  и пропуск  $^{68}\text{Ge}$  в элюат) при длительной эксплуатации, профиль элюирования генератора, экспериментальные данные качественного и количественного содержания примесей химических элементов в элюате генератора.

Выход радионуклида  $^{68}\text{Ga}$  в 5 мл элюата на протяжении периода эксплуатации изменялся от 70% в начале до 40% в конце, что соответствует заявленному

производителем. Установлено, что до 95%  $^{68}\text{Ga}$  находится во втором и третьем миллилитрах элюата, что позволяет повысить объемную активность элюата. На протяжении периода эксплуатации сдвигов времени выхода хроматографического пика  $^{68}\text{Ga}$  не наблюдали.

Полученные данные по примеси  $^{68}\text{Ge}$  в элюате рассчитаны как процентное отношение активностей  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , скорректированных на момент элюирования. Значение примеси  $^{68}\text{Ge}$  в элюате за время работы генератора находилось в пределах от  $1,2 \cdot 10^{-4} \%$  до  $5,2 \cdot 10^{-3} \%$  от активности  $^{68}\text{Ga}$  в элюате на момент элюирования.

Проскок  $^{68}\text{Ge}$  определяется как процентное отношение активности  $^{68}\text{Ge}$  в элюате к его активности в колонке генератора ( $^{68}\text{Ge}_k$ ) и зависит от частоты элюирования генератора. В течение периода испытаний проскоки составляли величину от  $8,1 \cdot 10^{-3}$  до  $0,89 \cdot 10^{-5} \%$ . Характер колебаний значений примеси и проскока  $^{68}\text{Ge}$  носит случайный и непрогнозируемый характер но, тем не менее, лежит в рамках паспортных значений.

Содержание примесей химических элементов в образцах элюата определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии индуктивно связанной плазмы с масс-спектрометрией (см. табл. 1). На анализ передавали образцы, полученные после 3-х дневного перерыва в эксплуатации генератора.

Таблица 1

Концентрация химических элементов в элюате генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (n=10).

Элемент	Cu	Fe	Al	Pb	Cr	Zn
Концентрация (мкМ)	1,3±1,1	10,5±9,6	12,9±6,9	1,6±1,0	3,8±3,3	29,1±21,4
Элемент	Co	Ca + Mg	Cd	Ni	Ti	
Концентрация (мкМ)	0,5 ± 0,3	32,6 ± 17,4	3,3 ± 3,1	2,5 ± 2,4	10,4 ± 7,3	

Обнаруженные примеси - это катионы двух- и трехвалентных металлов. В литературе представлены данные исследований о снижении выхода целевого продукта в реакции меченя  $^{68}\text{Ga}$  модифицированного пептида в зависимости от концентрации мешающих катионов. Присутствие обнаруженных примесей ( $\text{Cu}^{2+}$ ;  $\text{Fe}^{2+}$ ;  $\text{Fe}^{3+}$ ;  $\text{Zn}^{2+}$ ;  $\text{Co}^{2+}$ ;  $\text{Cd}^{2+}$ ;  $\text{Ni}^{2+}$ ;) в концентрации выше 1 мкМ неприемлемо для получения качественного препарата.

**В главе 3 «Поиск оптимальных условий сорбционного концентрирования элюатов генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ »** описаны методики подготовки сорбентов и эксперименты по изучению сорбции и десорбции  $^{68}\text{Ga}$  и  $^{68}\text{Ge}$  из растворов HCl в статических и динамических условиях.

Из солянокислых растворов хлоргаллат-анион  $[\text{GaCl}_4]$  может быть количественно сорбирован сильным анионитом. Примеси – катионы, могут быть

смыты с колонки, а комплекс  $[GaCl_4]^-$  затем разрушают снижением кислотности. Данный подход позволяет провести эффективную очистку элюата  $^{68}Ga$  от катионов примесей независимо от его первоначального объема. Поэтому нами было проведено сравнительное изучение сорбционных свойств ряда анионитов (см. табл. 2) по отношению к галлию.

Таблица 2

Полимерные матрицы и функциональные группы использованных сорбентов

Сорбент	Основа	Функциональная группа
«наполненный» ПОЛИОРГС 4 (П-4-н) низкоосновный	Сополимеры стирола с дивинилбензолом	3(5)-метилпиразол
«наполненный» ПОЛИОРГС 17 (П-17-н) высокоосновный	Сополимеры стирола с дивинилбензолом	1,3(5)-диметилпиразол
«наполненный» ПОЛИОРГС 33 (П-33-н) низкоосновный	Полиакрилонитрил	Амидоксим и гидразидин
«наполненный» АН-31-н низкоосновный	Полиэтиленполиамин	Смесь вторичных и третичных аминов
«наполненный»/гранулированный АВ-17-н / АВ-17 высокоосновный	Сополимеры стирола с дивинилбензолом	Четвертичные аммонийные основания
гранулированный Диасорб-ТА высокоосновный	Силикагель	
гранулированный QMA высокоосновный	Акриламидный сополимер на силикагеле с диольными группами	Смесь вторичных и четвертичных аминов

Представлялось интересным испытать «наполненные» сорбенты нового поколения типа ПОЛИОРГС, которые ранее показали свою перспективность, например, для концентрирования и разделения элементов платиновой группы, актиноидов. «Наполненные» сорбенты представляют собой нетканый, волокнистый материал из полиакрилонитрила. В качестве наполнителей применены тонкоизмельченные (10-30 мкм) комплексобразующие гранулированные сорбенты. Степень наполнения волокна сорбентом ~ 50%. Волокнистые «наполненные» сорбенты обладают рядом существенных преимуществ по сравнению с другими типами сорбентов, т.к. отличаются высокой емкостью и хорошими кинетическими свойствами вследствие малой дисперсности частиц, пористости и гидрофильности волокна. Дополнительно для сравнения в динамических условиях были использованы: отечественный сорбент АВ-17 в «наполненной» и гранулированной форме, отечественный сорбент АН-31 в «наполненной» форме, отечественный картридж Диапак с гранулированным сорбентом Диасорб – ТА (БиоХимМак, РФ) и импортный картридж Light Plus (Waters, США) с сильноосновным гранулированным анионитом QMA.



Предварительно в статических условиях был проведен эксперимент по определению оптимального времени контакта фаз. Практически полное извлечение  $^{68}\text{Ga}$  «наполненными» сорбентами достигается в течение 15 минут, а на гранулированном сорбенте за то же время степень извлечения составляет не более 70% (см. рис. 1).

Для всех сорбентов во всем исследованном интервале концентраций  $\text{HCl}$  (3-8 М) получены значения коэффициентов распределения ( $K_{\text{T/Ж}}$ )  $^{68}\text{Ga}$ . Результаты экспериментов представлены на рисунке 2.

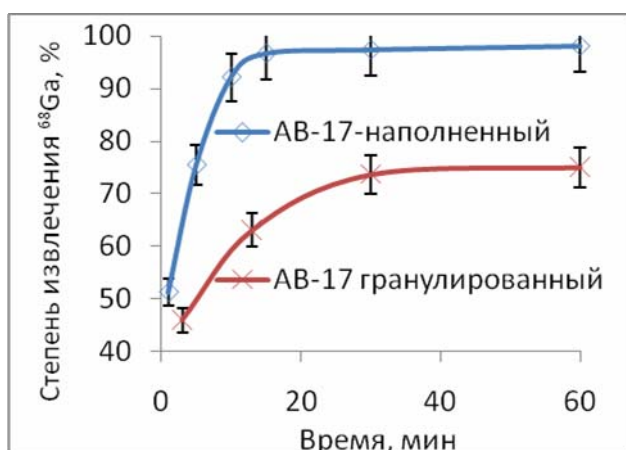


Рис. 1. Зависимость накопления  $^{68}\text{Ga}$  на гранулированном АВ-17 и «наполненном» АВ-17-н сорбентах от времени контакта фаз в условиях перемешивания (Размер частиц 76-152 мкм и 10-30 мкм соответственно) ( $n=5$ ).

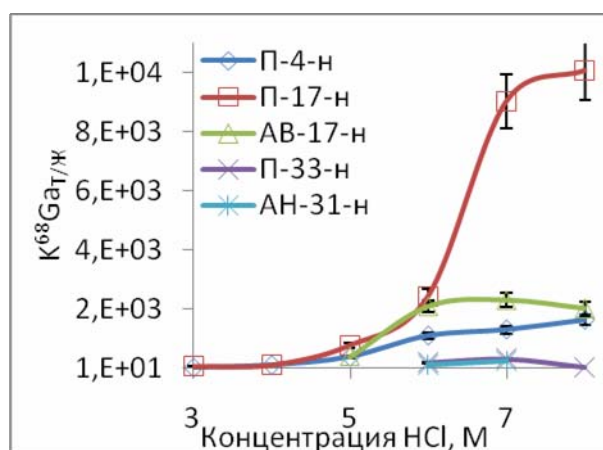


Рис. 2. Коэффициенты распределения  $^{68}\text{Ga}$ , при сорбции на исследуемых «наполненных» сорбентах в статических условиях в зависимости от кислотности раствора ( $m_{\text{ж}} : m_{\text{т}}$  ( $V : m$ ) = 330; время контакта фаз 15 мин.) ( $n=5$ ).

Расчет проводили по формуле (1):

$$K_{\text{T/Ж}} = \frac{A_{\text{T}}^0 / M_{\text{T}}}{A_{\text{Ж}}^0 / M_{\text{Ж}}}; \quad (1)$$

где  $A_{\text{T}}^0$  и  $A_{\text{Ж}}^0$  - скорости счета сорбента и жидкой фазы приведенные на время начала эксперимента,  $M_{\text{T}}$  и  $M_{\text{Ж}}$  – массы сорбента и раствора соответственно.

С увеличением концентрации  $\text{HCl}$  значения  $K_{\text{T/Ж}}$  увеличиваются и достигают максимума при  $\sim 7$  М  $\text{HCl}$ . Наблюдается практически одинаковый характер зависимости  $K_{\text{T/Ж}}$  от концентрации  $\text{HCl}$  для П-4-н, П-17-н и АВ-17-н в интервале 3-6 М  $\text{HCl}$ . Именно эти три анионита были выбраны для дальнейшего изучения.

При сорбции из 7-8 М  $\text{HCl}$  значение  $K_{\text{T/Ж}}$  для П-17-н возрастает до  $10^4$ , т.е. данный сорбент является весьма перспективным для выделения галлия из концентрированных солянокислых растворов. Однако, как будет показано ниже, для

решения задач настоящей работы использование растворов с такими высокими концентрациями HCl не является оптимальным из-за возрастания сорбции германия.

При исследовании десорбции в статических условиях установлено, что при использовании растворов HCl с концентрациями от 0,01 до 0,5 М  $^{68}\text{Ga}$  практически полностью ( $97 \pm 2\%$ ) десорбируется со всех рассмотренных сорбентов.

Испытания в модельных динамических условиях (пропускание растворов через картридж длиной 8 и диаметром 4 мм, наполненный 30 мг сорбента) были проведены в выбранных на основании опытов интервалах кислотности (сорбция из 4-7 М HCl; десорбция 0,01 – 0,5 М HCl). Данные о балансе активности  $^{68}\text{Ga}$  в ходе эксперимента по следующим составляющим: пропуск через картридж при сорбции, десорбированная часть и остаток (удержание) в картридже после десорбции, приведены в табл. 3.

Таблица 3

Распределение активности  $^{68}\text{Ga}$  в процессе сорбции-десорбции в модельных динамических условиях в зависимости от кислотности исходного раствора и типа сорбента

Концентрация HCl в исходном растворе $^{68}\text{Ga}$ , М	Тип сорбента в картридже	Распределение $^{68}\text{Ga}$ , % от активности, внесенной в картридж (n = 5)		
		Проскок при сорбции	Десорбат	Остаток в картридже
4	П-4-н	47,7	33,7	18,6
	П-17-н	46,5	34,1	19,4
	АВ-17-н	61,6	37,3	1,1
	П-33-н	97,5	2,4	0,1
	Диасорб- ТА	53,1	37,6	9,3
	QMA	88,2	11,7	0,1
6	П-4-н	17,5	61,3	21,2
	П-17-н	12,1	87,1	0,8
	АВ-17-н	15,0	82,5	2,5
	П-33-н	62,6	31,7	5,7
	Диасорб- ТА	73,6	24,5	1,9
	QMA	61,4	38,2	0,4
7	П-4-н	2,1	65,5	32,4
	П-17-н	11,0	88,3	0,7
	АВ-17-н	7,6	89,2	3,2
	П-33-н	40,2	52,3	7,5
	Диасорб- ТА	89,8	9,6	0,6
	QMA	47,2	51,9	0,9

В таблице 4 представлено распределение  $^{68}\text{Ga}$  по фракциям десорбата объемом 30 мкл, в случае сорбции на АВ-17-н в зависимости от кислотности раствора для десорбции. Очевидно, что кислотность десорбирующего раствора в изученном

интервале концентраций незначительно влияет на характер распределения  $^{68}\text{Ga}$ , что согласуется с результатами опытов в статических условиях. Основное количество (>90 % активности) от сорбированного  $^{68}\text{Ga}$  может быть сконцентрировано в 4-5 фракциях (120-200 мкл). То есть при объеме исходного элюата 5 мл коэффициент концентрирования составляет ~ 20-40. При этом желательно получение десорбата с минимальной кислотностью. Результаты, представленные на рисунке 3, показывают, что в 1-й фракции десорбат имеет высокую кислотность и практически не содержит  $^{68}\text{Ga}$ . Поэтому данная фракция может быть отброшена. Кислотность 2-й фракции также достаточно велика, но в ней уже содержится до 40%  $^{68}\text{Ga}$ . Продувание картриджа после сорбции сжатым газом позволяет уменьшить кислотность десорбата.

Таблица 4

Распределение  $^{68}\text{Ga}$  по фракциям при десорбции с картриджа АВ-17-н при различных концентрациях элюирующей  $\text{HCl}$ .

№ фракции объемом 30 мкл	Концентрация $\text{HCl}$ , М				
	0,5	0,2	0,1	0,05	0,02
1	3,7	0,9	2,9	11,6	2,3
2	40,6	37,2	40,2	60,8	25,2
3	36,1	40,5	41,7	22,9	39,0
4	11,7	12,8	9,7	2,5	17,7
5	3,8	4,6	2,6	0,9	7,3
6	2,1	1,8	1,3	0,5	3,4
7	1,0	1,0	0,7	0,3	2,0
8	0,5	0,6	0,4	0,2	1,0
9	0,2	0,4	0,3	0,2	1,7
10	0,3	0,2	0,2	0,1	0,4

На основании приведенных выше данных сделано заключение о том, что промышленно выпускаемые и коммерчески доступные в России картриджи Диапак с сорбентом Диасорб – ТА и импортные картриджи Light Plus с сильноосновным анионом QMA непригодны для решения поставленной задачи, также как и сорбент П–33-н. Наилучшие характеристики в модельных динамических условиях были получены для сорбента П-17-н, выход  $^{68}\text{Ga}$  достигал 90%. Сорбент АВ-17-н по данным модельных исследований в динамике также вполне приемлем для концентрирования и очистки элюатов генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .

Проскок  $^{68}\text{Ge}$  через картридж с П-17-н на стадии сорбции  $^{68}\text{Ga}$  (см. рис. 4) также был исследован и составлял более 90 % в диапазоне концентраций соляной кислоты от 0,1 до 6 М. Таким образом достигалась десятикратная очистка  $^{68}\text{Ga}$  от  $^{68}\text{Ge}$ , и только при концентрации  $\text{HCl}$  большей 7 М проскок  $^{68}\text{Ge}$  уменьшался до 60%.

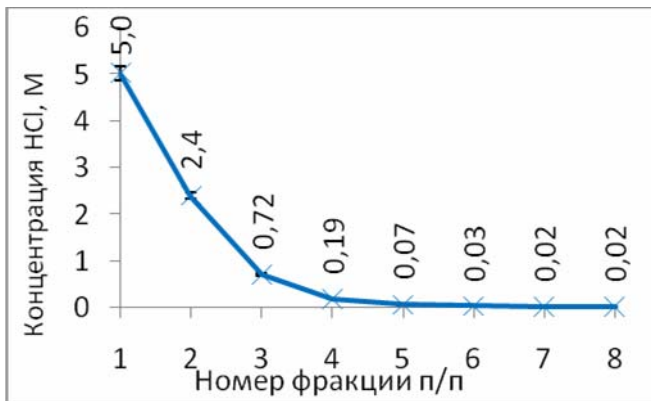


Рис. 3. Изменение концентрации HCl на выходе картриджа с АВ-17-н при десорбции  $^{68}\text{Ga}$  0,01М HCl. (Объем фракции  $30 \pm 1,2$  мкл).

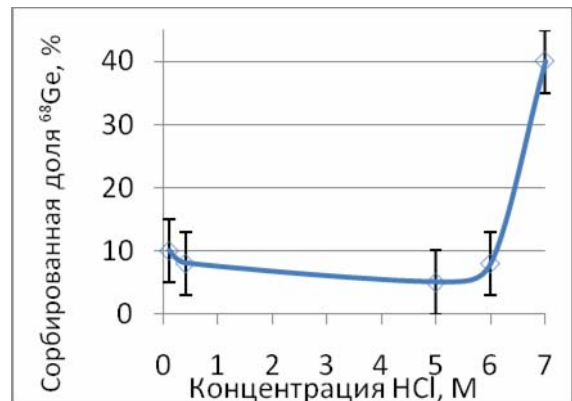


Рис. 4. Сорбция  $^{68}\text{Ge}$  на картридже с П-17-н в зависимости от кислотности раствора ( $n = 5$ ).

**Глава 4 «Автоматизация процесса кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ »** посвящена разработке, на основании описанных выше результатов

изучения сорбционного поведения  $^{68}\text{Ga}$  и  $^{68}\text{Ge}$ , прототипа модуля для полуавтоматической очистки и концентрирования генераторного элюата, и его испытаниям. Принципиальная схема модуля кондиционирования элюата представлена на рисунке 5. Картридж (7), заполненный сорбентом, соединен с системой электромагнитных клапанов (5-1 и 5-2) (например Miniature Rocker Solenoid Valve type 0127, Burkert, Германия), обеспечивающих последовательно: смешивание (4) (PEEK Mixing Tee, #32157, Alltech, Германия) элюата генератора  $^{68}\text{Ga}/^{68}\text{Ge}$  (3) (0,1 М HCl) (2-1) с концентрированной соляной кислотой (12 М) (2-2), подачу полученного раствора через картридж, удаление остатков 6 М HCl с картриджа током сжатого воздуха (6) и элюирование  $^{68}\text{Ga}$  0,01 М HCl (2-3).

Рис. 5. Принципиальная схема модуля кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .

Движение жидкостей обеспечивалось многоголовочным (1-1, 1-2 и 1-3) перистальтическим насосом Gilson (Франция), а также соединительными капиллярами из полиэфирэфиркетона (O.D. 1/16", I.D. 0,03", PEEK, #Z226955, Supelco, Германия) и Tygon (Cole-Parmer, США). Все использованные материалы системы устойчивы в приведенных условиях. Десорбцию продукта осуществляли во флакон (8), установленный в свинцовом защитном контейнере. Модуль смонтирован

в защитном боксе в непосредственной близости от генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ . Промывные жидкости собирали в сосуд для ЖРО (2-4).

Переключатели, управляющие клапанами, размещены на выносной приборной панели. Управление переключениями проводили в ручном режиме. Примененный перистальтический насос позволяет варьировать скорость потока жидкостей в широких пределах (0,1 – 100 мл/мин). Контроль за протеканием процесса осуществляется визуально наблюдением за потоком кислот в возвратных линиях (2-2 и 2-3), наличием потока в линии "отходы" (2-4) на первых двух стадиях и "продукт" (8) на последней. Дополнительно для контроля перемещения активности использовали приборы дозиметрического контроля (ДКС-04).

Первоначально в модуле использовали картридж, наполненный 30 мг сорбента П-17-н. Степень извлечения  $^{68}\text{Ga}$  составляла более 95% и практически не зависела от объема раствора пропущенного через картридж. Были изготовлены картриджи, содержащие различное количество сорбента, и через них со скоростью 2 мл/мин пропускалось одинаковое количество раствора  $^{68}\text{Ga}$  в 6 М соляной кислоте. Эффективность картриджа оценивали по количеству  $^{68}\text{Ga}$ , прошедшего через сорбент (проскок  $^{68}\text{Ga}$ ). Данные по проскоку представлены на рисунке 6.

Для картриджа, содержащего 10 мг П-17-н, было изучено влияние скорости подачи рабочего раствора на сорбцию  $^{68}\text{Ga}$ . Полученные данные представлены на рисунке 7.

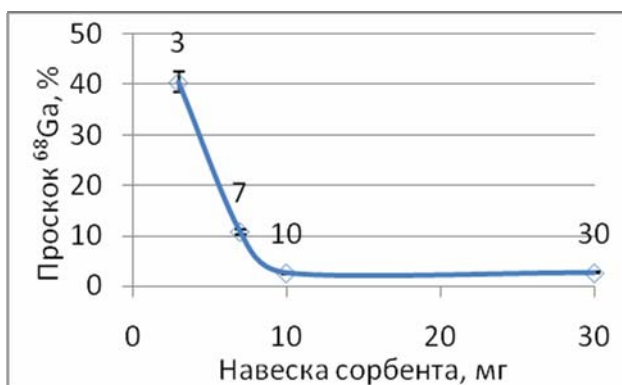


Рис. 6. Величина проскока  $^{68}\text{Ga}$  через картридж в зависимости от количества сорбента в нем (n=5).

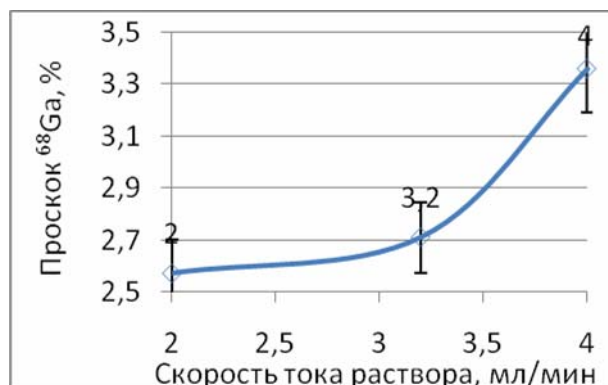


Рис. 7. Зависимость проскока  $^{68}\text{Ga}$  от скорости потока сорбирующего раствора (n=5).

Увеличение скорости с 2 мл/мин подачи до 4 мл/мин приводит к возрастанию проскока галлия с 2,6 до 3,4 %. Дальнейшее увеличение скорости подачи растворов на этом прототипе оказалось невозможным вследствие возрастания давления в системе.

Для десорбции галлия с анионита через картридж пропускали 0,01 М HCl. Во всех случаях скорость подачи десорбирующего раствора составляла 0,4 мл/мин.

На рисунке 8 представлены результаты десорбции  $^{68}\text{Ga}$  со стандартного картриджа, содержащего 30 мг сорбента. Общий объем десорбирующего раствора составил 1,5 мл, при этом 90% активности  $^{68}\text{Ga}$  находится примерно в 500 мкл.

С целью уменьшения объема десорбата была произведена замена размера картриджа с  $4 \times 8$  мм на  $2 \times 15$  мм. На рисунке 9 представлены результаты десорбции  $^{68}\text{Ga}$  на этом картридже.

Дальнейшее уменьшение количества сорбента до 7 мг, а затем и до 3 мг не привело к заметному изменению кривой элюирования. Однако, значительное количество  $^{68}\text{Ga}$  (от 10 до 40 % соответственно) может быть потеряно на стадии сорбции за счет проскока. Поэтому, с точки зрения концентрирования  $^{68}\text{Ga}$  в минимальном объеме, оптимальным является использование 10-30 мг сорбента, помещенного в картридж диаметром 2 мм.

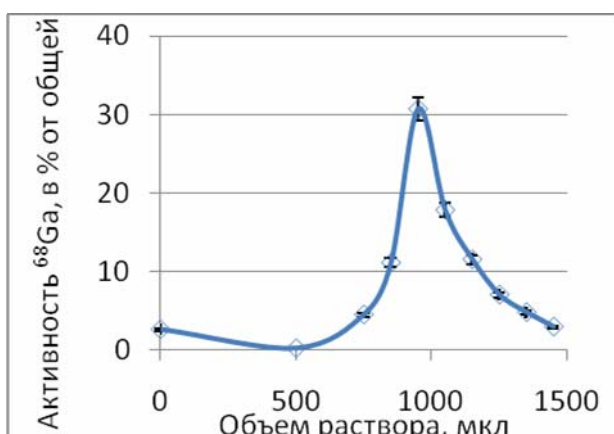


Рис. 8. Кривая элюирования  $^{68}\text{Ga}$  с картриджа внутренним диаметром 4 мм, содержащего 30 мг сорбента П-17-н (n=5).

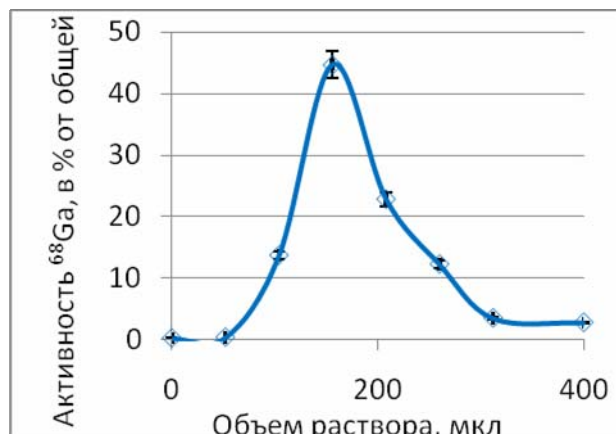


Рис. 9. Кривая элюирования  $^{68}\text{Ga}$  с картриджа внутренним диаметром 2 мм, содержащего 30 мг сорбента П-17-н (n=5).

Данные о кислотности десорбата (10 мг сорбента) представлены на рис. 10. Концентрация HCl в первых 50 мкл раствора велика, а затем быстро снижается, и с 0,2 мл становится практически постоянной. Поэтому первые 50-100 мкл десорбата надо удалить в отходы, а следующие 150 мкл являются продуктом кондиционирования (см. рис. 11).

На основании полученных результатов предложены оптимальные параметры процесса кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , представленные в виде технологической схемы на рисунке 12. В результате реализации процесса элюат

генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  может быть сконцентрирован в 20-50 раз. При этом значение кислотности полученного продукта находится в интервале 0,01- 0,1 М НСl.

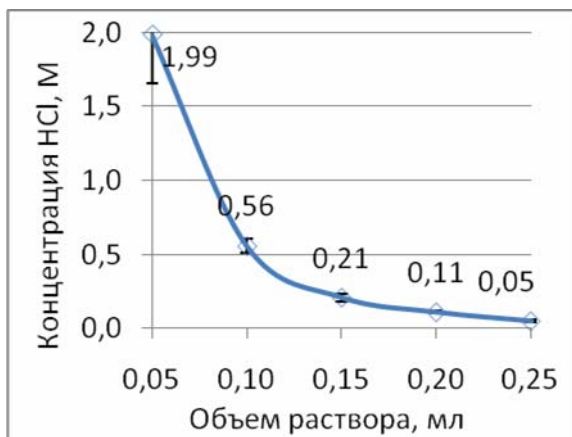


Рис. 10. Кислотность десорбата. Картридж с внутренним диаметром 2 мм содержит 10 мг сорбента П-17-н (n=5).

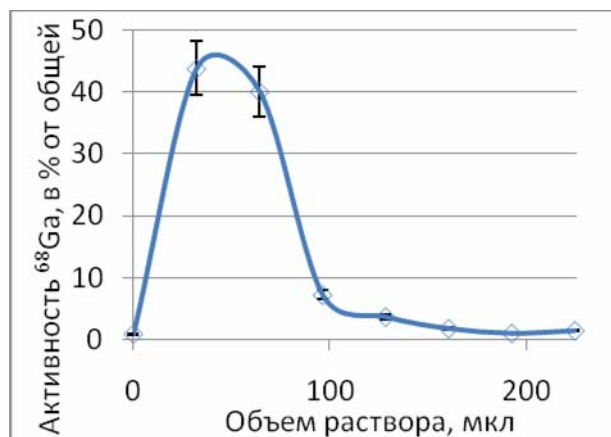


Рис. 11. Кривая накопления  $^{68}\text{Ga}$  в продукте. Картридж с внутренним диаметром 2 мм содержит 30 мг сорбента П-17-н (n=5).

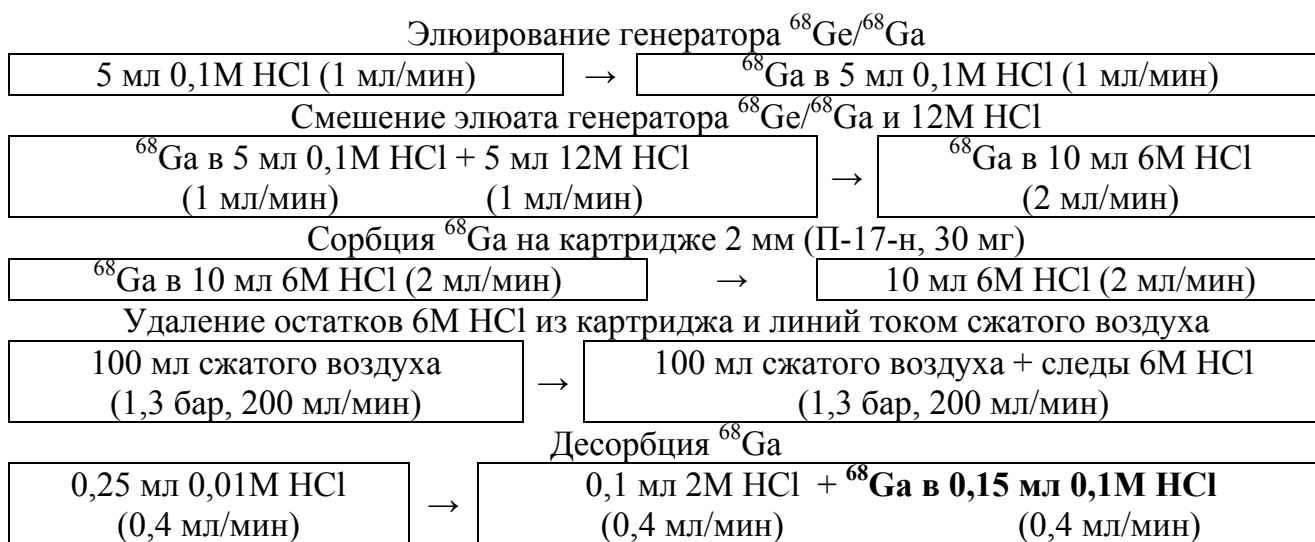


Рис. 12. Технологическая схема процесса кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .

В таблице 5 приведено содержание химических примесей – металлов (отнесенное к единице активности радионуклида на момент окончания процесса кондиционирования) в исходном растворе элюата, смешанного с НСl ( $V = 10$  мл, 6 М НСl) и полученного концентрата ( $V = 0,12$  мл 0,01 М НСl), а так же значения коэффициентов очистки, рассчитанные в соответствии с (2).

$$K_{оч} = \frac{C_{И}}{C_{К}}; \quad (2).$$

где  $C_{И}$  и  $C_{К}$  – концентрации примеси в исходном и кондиционированном элюатах.



Таблица 5

Количественное содержание примесей в образцах исходного и кондиционированного элюатов (полученного с помощью технологической схемы на рисунке 12) идентифицированных методом ICP - MS. Органических примесей не обнаружено. Значения приведены на момент окончания процесса кондиционирования.

Примесь	$C_{и}$ , мкг/МБк $^{68}\text{Ga}$	$C_{к}$ , мкг/МБк $^{68}\text{Ga}$	$K_{оч}$
Cu	5,2E-04	5,5E-05	9,4
Fe	3,5E-02	3,1E-03	11,0
Al	8,3E-03	6,2E-04	13,4
Pb	8,2E-03	4,2E-04	19,2
Cr	2,7E-03	9,3E-05	29,0
Zn	6,1E-01	2,0E-02	31,0
Co	9,4E-05	2,9E-06	32,5
Ca + Mg	3,1E-02	9,5E-04	33,3
Cd	2,7E-03	1,1E-05	250,6
Ni	4,0E-03	9,0E-06	444,6
Ti	1,1E-02	7,0E-06	1565,5

Как видно из данных, представленных в таблице 5, применение технологии сорбционного концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  в модуле, содержащем картридж с анионитом П-17-н, обеспечивает снижение количества неактивных примесей металлов на порядок и более в пересчете на единицу активности радионуклида. При этом происходит снижение содержания радионуклидной примеси  $^{68}\text{Ge}$  в 10 - 20 раз.

**В главе 5 «Получение биоконъюгатов, меченных  $^{68}\text{Ga}$ »** описаны результаты разработки метода определения радиохимической чистоты (РХЧ) препарата  $^{68}\text{Ga}$  на основе октреотида, модифицированного ДТПА и экспериментов по его синтезу.

Для объективной оценки качества проведения реакции мечения первоначально должен быть разработан метод анализа, который бы надежно разделял меченный ДТПА-октреотид (ДО), а также две наиболее вероятные примеси: несвязанный радионуклид и его комплекс с ДТПА, отщепившимся от ДО. Быстрым и удобным способом определения РХЧ препаратов  $^{68}\text{Ga}$ -октреотида является метод, основанный на отделении продукта от примесей твердофазной экстракцией (ТФЭ). Этот метод был использован для сравнения с методами ВЭЖХ и ТСХ. При этом в качестве модельного радионуклида использовали  $^{111}\text{In}$  (как аналог галлия), поскольку его период полураспада 2,83 сут. обеспечивает возможность проведения более длительных экспериментов. Сравнительные результаты анализа одной из модельных реакционных смесей представлены в табл. 6. Как видно, все методы практически



одинаково (в пределах точности радиометрии) определяют радиохимическую чистоту продукта.

Таблица 6

Результаты анализа одного образца  $^{111}\text{In}$ -ДО различными методами

Компонент	Метод		
	ТСХ	ТФЭ	ВЭЖХ
Продукт $^{111}\text{In}$ -ДО	87.6	84.7	82.5
$^{111}\text{In}$ -ДТПА	11.4	13.9	8.9
Свободный $^{111}\text{In}$	1.0	1.4	8.6*

\*сумма остальных пиков

Метод ТСХ представляется нам более предпочтительным из-за сравнительно низкой стоимости и относительной простоты аппаратной реализации. Поэтому для анализа реакционных смесей, содержащих  $^{68}\text{Ga}$ -ДО, была выбрана следующая ТСХ-система: носитель - целлюлоза на алюминиевой или пластиковой подложке; подвижная фаза – ацетонитрил-вода 1:1 по объему. В этих условиях  $^{111}\text{In}$ -ДО имеет  $R_f$  0,95-1,0, комплекс  $^{111}\text{In}$ -ДТПА 0,75-0,80 и несвязанный  $^{111}\text{In}$  0,0-0,5. Для галлия распределение аналогично.

Из литературных данных известно, что для получения высоких выходов (> 90 %) в реакциях синтеза биоконъюгатов с  $^{68}\text{Ga}$ , как правило, требуется нагревание реакционной смеси, что усложняет процесс приготовления препарата и приводит к большим временным затратам. Поэтому был исследован широкий круг возможных буферных сред, выбор которых был сделан по следующим критериям: возможность внутривенного введения пациенту; нелетучесть в условиях приготовления лиофилизата; слабые комплексообразующие свойства; высокий выход меченя (не ниже 90%) при проведении реакции при комнатной температуре, физиологических значениях pH и молярности раствора и времени инкубирования не дольше 30 минут.

В реакционный сосуд вносили раствор ДО в воде и буферный раствор, затем элюат генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ . Общий объем реакционной смеси составлял 1 мл. В ряде опытов мечение проводилось при повышенной температуре, при этом выход реакции меченя увеличивался незначительно.

Лучшим с точки зрения выхода  $^{68}\text{Ga}$ -ДО среди рассмотренных систем был ацетатный буферный раствор. Средний выход  $^{68}\text{Ga}$ -ДО составил  $91,8 \pm 0,9$  % ( $n = 8$ ).

Для подтверждения специфичности использованных в экспериментах образцов исходного ДО и приготовленных на его основе радиоактивных препаратов, содержащих  $^{111}\text{In}$  или  $^{68}\text{Ga}$ , к клеткам, содержащим соматостатиновые рецепторы, были проведены эксперименты *in vitro* по изучению афинности радиоактивного препарата к клеточным линиям новообразований, характеризующимся повышенной экспрессией

рецепторов соматостатина. Полученные данные позволяют сделать вывод о специфичности испытуемого препарата к клеткам всех клеточных линий, взятых в эксперимент.

Изучено биологическое распределение препаратов  $^{111}\text{In}$ -ДО и  $^{68}\text{Ga}$ -ДО в организме лабораторных животных с привитыми опухолями. Значения коэффициентов дифференциального накопления опухоль/кровь, опухоль/мышца позволяют сделать вывод о возможности визуализации опухолей препаратом  $^{68}\text{Ga}$ -ДО.

### Выводы

1. Проведен систематический контроль эксплуатационных характеристик генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (производства ЗАО «Циклотрон», Обнинск) и показателей качества элюата - раствора  $^{68}\text{Ga}$  без носителя в 0,1 М НСl в течение срока годности генератора. На протяжении периода эксплуатации генератора все характеристики (активность  $^{68}\text{Ge}$  в генераторе, выход  $^{68}\text{Ga}$  в элюат, примесь  $^{68}\text{Ge}$  в элюате) полностью соответствовали паспортным данным.
2. Изучено сорбционное поведение  $^{68}\text{Ga}$  и  $^{68}\text{Ge}$  на гранулированном анионите АВ-17 и волокнистых «наполненных» отечественных сорбентах ПОЛИОРГС 4, 17, 33 и АН-31-н в статических и динамических условиях. Наилучшие характеристики в модельных динамических условиях были получены для сорбента ПОЛИОРГС-17. Сорбент АВ-17-н также является вполне приемлемым для концентрирования и очистки элюатов генератора  $^{68}\text{Ga}/^{68}\text{Ge}$ .
3. Определены оптимальные условия очистки элюата от примесей металлов и материнского радионуклида  $^{68}\text{Ge}$  при одновременном концентрировании растворов  $^{68}\text{Ga}$ .
4. Разработан и испытан прототип модуля кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ . Для концентрирования  $^{68}\text{Ga}$  в минимальном объеме, оптимальным является использование 10-30 мг сорбента ПОЛИОРГС-17, помещенного в картридж с внутренним диаметром 2 мм. В результате реализации процесса элюат генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  может быть сконцентрирован в 20-50 раз. При этом значение кислотности полученного продукта находится в интервале 0,01- 0,1 М НСl.
5. Разработан метод мечения модифицированного ДТПА-октреотида  $^{68}\text{Ga}$  и анализа полученного препарата. Наилучшие результаты синтеза (выход продукта  $91,8 \pm 0,9$  % (n=8)) получены с использованием кондиционированных растворов  $^{68}\text{Ga}$  в ацетатном буферном растворе. При этом объем реакционной смеси был снижен до минимально возможного. Анализ полученного препарата был проведен методом ТСХ на пластинках целлюлозы на алюминиевой или пластиковой подложке, подвижная фаза - смесь ацетонитрил-вода в объемном соотношении 1:1.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Андронов В.Г., Брускин А.Б., Севастьянова А.С., Кодина Г.Е., Очкин А.В., Мясоедова Г.В. Сорбционное кондиционирование элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  для медицинского применения с использованием волокнистых наполненных сорбентов Полиоргс. // Радиохимия. 2008. Т. 50. № 5. С. 464-468.
2. Андронов В.Г., Кодина Г.Е., Очкин А.В., Разбаш А.А. Оптимизация условий сорбции и десорбции  $^{68}\text{Ga}$  на ионообменной смоле АВ-17-8 чс. // Материалы Всероссийской научно-технической конференции "Современные проблемы ядерной медицины и радиофармацевтики". Обнинск. 2002. С. 32.
3. Андронов В.Г., Севастьянова А.С., Кодина Г.Е., Очкин А.В. Сравнительное сорбционное концентрирование  $^{68}\text{Ga}$  на наполненных сорбентах «Полиоргс». // Актуальные вопросы ядерной медицины и радиофармацевтики: Всероссийская научно-практ. конф.; Дубна. ОИЯИ. 2004. С. 39.
4. Bruskin A.B, Sevastyanova A.S, Kodina G.E, Andronov V.G, Myasoedova G.V. Purification and concentration of the  $^{68}\text{Ga}$ -solutions from commercial generator for peptide labelling. // 12th European Symposium on Radiopharmacy and Radiopharmaceuticals. Sept. 9-12. 2004. Sopot. Poland. Abstracts. P. 59.
5. Брускин А.Б., Андронов В.Г., Севастьянова А.С., Кодина Г.Е. Концентрирование элюатов генератора галлия-68 для мечения биомолекул. // Тезисы 5-й Международной конференции «Ядерная и радиационная физика». 2005. Алматы. Республика Казахстан. С. 586-587.
6. Bruskin A.B., Sevastianova A.S., Andronov V.G. Gallium-68 solution for biomolecules labelling. // Int. Symposium on Trends in Radiopharmaceuticals (ISTR-2005). Vienna. Austria. 2005. P. 286.
7. Андронов В.Г., Брускин А.Б., Севастьянова А.С., Кодина Г.Е., Очкин А.В. Концентрирование и очистка элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  с применением волокнистых наполненных сорбентов Полиоргс. // Наука и технологии. Тезисы докладов XXVIII Российской школы. Миасс. МСНТ. 2008. С. 142.
8. Очкин А.В., Андронов В.Г., Брускин А.Б., Кодина Г.Е. Синтез  $^{68}\text{Ga}$ -ДТПА-Октреотида и анализ полученного препарата. // Наука и современность – 2011: сборник материалов XIII Международной научно-практической конференции. Новосибирск. НГТУ. 2011. Часть 3. С. 93-100.