

На правах рукописи



Фуркина Екатерина Борисовна

Получение радионуклидов медицинского назначения ^{186}Re и ^{161}Tb

1.4.1. – Неорганическая химия, 1.4.13. – Радиохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата химических наук

Москва – 2024

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт»)

Научный руководитель: **Алиев Рамиз Автандилович** – кандидат химических наук, начальник лаборатории радионуклидов и радиофармпрепаратов НИЦ «Курчатовский институт»

Официальные оппоненты: **Трошкина Ирина Дмитриевна** – доктор технических наук, профессор кафедры технологии редких элементов и наноматериалов на их основе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»;

Ларенков Антон Алексеевич – кандидат химических наук, заведующий отделом радиационных технологий медицинского назначения федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства России

Ведущая организация: Международная межправительственная организация «Объединенный институт ядерных исследований», г. Дубна

Защита состоится 9 октября 2024 г., начало в 15 час. 00 мин., на заседании диссертационного совета 02.1.003.03 на базе НИЦ «Курчатовский институт» по адресу: 123182, г. Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НИЦ «Курчатовский институт» и на сайте www.nrcki.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 02.1.003.03,
кандидат физико-математических наук



Т.Е. Григорьев

Общая характеристика работы

Актуальность работы

Ядерная медицина – это активно развивающаяся отрасль современной медицины, связанная с диагностикой и терапией злокачественных новообразований, а также кардиологических, ревматологических и иных заболеваний с помощью препаратов, включающих в себя радиоактивные атомы. Особое внимание уделяется развитию тераностических методов – совмещению процедур диагностики и терапии при введении одного препарата. Применение тераностических препаратов позволяет снизить дозовую нагрузку на организм пациента, контролировать распределение препарата при его введении, корректировать стратегию лечения и оценивать его эффективность в процессе действия препарата.

Одна из важных задач при создании тераностических радиофармацевтических лекарственных препаратов (РФЛП) – это подбор подходящих радионуклидов. Их ядерно-физические свойства должны соответствовать ряду критериев: оптимальный период полураспада, отсутствие или минимизация жесткого гамма-излучения, наличие эмиссии позитронов или низкоэнергетических гамма-квантов для возможности регистрации с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) или однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ). В связи с довольно жесткими критериями подходящих для использования в тераностике радионуклидов мало. Однако существует подход, подразумевающий использование в одном препарате тераностической пары радионуклидов, один из которых испускает излучение, подходящее для терапии, а второй – для диагностики и визуализации. В качестве тераностических пар рассматривают разные изотопы одного химического элемента или радионуклиды элементов, схожих по химическим свойствам.

В данный момент в составе терапевтических РФЛП применяется очень узкий круг радионуклидов – альфа- (^{225}Ac) и бета-эмиттеров (^{131}I , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{188}Re). Расширение этого списка позволит расширить область применимости РФЛП: разработка препаратов на основе новых радионуклидов с более оптимальными ядерно-физическими свойствами позволит добиться лучшего терапевтического эффекта при меньшей радиотоксичности.

Данная работа посвящена разработке способов получения двух новых терапевтических радионуклидов: ^{186}Re и ^{161}Tb . Оба этих радионуклида являются бета-излучателями с низкой энергией электронов, а также испускают гамма-кванты, которые могут быть зарегистрированы с помощью ОФЭКТ, что позволяет рассматривать данные радионуклиды как тераностические. Исследуется возможность применения ^{186}Re и ^{161}Tb в различных типах РФЛП, ряд препаратов уже проходят клинические исследования. Новые оптимальные пути получения данных

радионуклидов будут способствовать расширению клинических исследований и переходу к применению РФЛП на основе ^{186}Re и ^{161}Tb в клинической практике.

Рений – это элемент, чьи химические свойства очень близки к химическим свойствам технеция. Таким образом, изотопы рения можно рассматривать как терапевтическую пару к $^{99\text{m}}\text{Tc}$ – наиболее применяемому радионуклиду для ОФЭКТ. Два изотопа рения – ^{188}Re и ^{186}Re – обладают подходящими ядерно-физическими характеристиками для терапии. ^{188}Re получают с помощью изотопного генератора $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$, на его основе разработан ряд РФЛП для радиосиноэктомии (Синорен, МСА 5-10 мкм ^{188}Re), терапии костных метастаз (Золерен, Фосфорен) и радиоэмболизации гепато-клеточной карциномы (^{188}Re -SSS/липиодол, Гепарен). ^{186}Re обладает рядом преимуществ по сравнению с ^{188}Re : бóльший период полураспада лучше подходит для таргетной эндорadiотерапии; бета-частицы обладают меньшей энергией и, как следствие, меньшим пробегом в биологической ткани, что снижает дозовую нагрузку на здоровые ткани и позволяет поражать микроопухоли и метастазы. Таким образом, существует интерес к наработке ^{186}Re и дальнейшей разработке РФЛП на его основе, однако на данный момент нет широко распространённых методов производства данного радионуклида.

Тербий – уникальный элемент с точки зрения ядерной медицины. Четыре изотопа тербия обладают подходящими для медицины ядерно-физическими характеристиками распада, что позволяет составлять различные тераностические пары. ^{149}Tb – альфа- и позитронный эмиттер, подходящий для таргетной альфа-терапии (ТАТ) с одновременной ПЭТ-визуализацией. ^{152}Tb испускает позитроны и подходит для ПЭТ, а ^{155}Tb испускает мягкие гамма-кванты, которые можно зарегистрировать с помощью ОФЭКТ, и Оже-электроны, которые могут оказывать локальный терапевтический эффект. ^{161}Tb рассматривается как терапевтический радионуклид и более эффективный аналог ^{177}Lu благодаря испусканию не только β -частиц, но и Оже- и конверсионных электронов. Помимо этого, у ^{161}Tb есть мягкая гамма-линия, которая может быть зарегистрирована с помощью ОФЭКТ. Для производства $^{149,152,155}\text{Tb}$ используют различные реакции под действием заряженных частиц, ^{161}Tb эффективнее всего получать в ядерном реакторе на обогащенном ^{160}Gd по реакции $^{160}\text{Gd}(n,\gamma)^{161}\text{Gd} \rightarrow ^{161}\text{Tb}$. В данном случае одна из важных проблем – это очистка микроколичеств образовавшегося тербия от макроколичеств другого лантанида с близкими химическими свойствами – гадолиния. Для производства тербия необходимо использовать довольно массивные – десятки и сотни мг – гадолиниевые мишени, и это также затрудняет процесс выделения.

Таким образом, **целью** данной работы является разработка новых эффективных способов получения и выделения ^{186}Re и ^{161}Tb без носителя для ядерной медицины. Для достижения данной цели были поставлены следующие **задачи**:

- 1) Определение оптимальных условий разделения W и Re на сорбенте на основе метилтриалкиламмония (TEVA) и создание методики выделения ^{186}Re из вольфрамовых мишеней на данном сорбенте;
- 2) Разработка и тестирование полуавтоматической установки для выделения ^{186}Re ;
- 3) Разработка методики регенерации ^{186}W после выделения ^{186}Re ;
- 4) Определение оптимальных условий разделения тербия и гадолиния на сорбенте на основе ди-2-этилгексилфосфорной кислоты (LN);
- 5) Разработка метода выделения ^{161}Tb из облученной нейтронами ^{160}Gd мишени массой 12 мг;
- 6) Синтез комплексов ^{161}Tb и конъюгатов на основе хелатирующего агента DOTA и высокоселективных лигандов, направленных на ПСМА, определение оптимальных условий синтеза комплексов, а также исследование стабильности полученных комплексов *in vitro* в физиологическом растворе, среде биогенных катионов и фетальной телячьей сыворотке.

Положения, выносимые на защиту:

1) Определены коэффициенты распределения W и Re на сорбенте на основе метилтриалкиламмония (TEVA) в солянокислой, азотнокислой и щелочной средах. Разработана методика выделения микроколичеств рения из облученных дейтронами вольфрамовых мишеней с выходом более 97%. Методика автоматизирована и позволяет получать ^{186}Re с высокой радиоизотопной чистотой в количестве, достаточном для доклинических исследований. Разработана трёхстадийная методика регенерации мишенного металлического вольфрама из раствора после переработки мишени с выходом 89%;

2) Определены коэффициенты распределения ^{160}Tb в азотнокислой среде на сорбенте на основе ди-2-этилгексилфосфорной кислоты (LN) в присутствии макроколичеств гадолиния. Определены коэффициенты распределения Gd на сорбенте LN в области высоких концентраций (10-20 мг Gd/ 1 г LN). Разработан метод получения ^{161}Tb , основанный на последовательном экстракционно-хроматографическом выделении на сорбентах DGA на основе N,N,N',N'-тетра-N-октилдигликомида, LN и Prefilter из облученных нейтронами ^{160}Gd мишеней, позволяющий получить ^{161}Tb с выходом более 95% в количестве и качестве, достаточном для доклинического применения;

3) Определены оптимальные условия синтеза комплексов ^{161}Tb с конъюгатами на основе DOTA и высокоселективных ПСМА-лигандов. Синтезированы 5 комплексов ^{161}Tb с разными конъюгатами, устойчивых в физиологических средах.

Научная новизна работы

- Впервые определены коэффициенты распределения (K_d) W и Re на сорбенте TEVA в широком диапазоне концентраций азотной и соляной кислот, а также в щелочной среде; определены оптимальные условия разделения макроколичеств W и микроколичеств Re на сорбенте TEVA;
- Создана оригинальная методика выделения ^{186}Re из облученных дейтронами вольфрамовых мишеней, основанная на экстракционно-хроматографическом разделении на сорбенте TEVA;
- Впервые определены коэффициенты распределения (K_d) Gd и Tb на сорбенте LN при разных концентрациях гадолиния в азотнокислой среде, определены оптимальные условия разделения Gd и Tb в присутствии макроколичеств Gd;
- Создана новая методика выделения ^{161}Tb из облученных гадолиниевых мишеней в количествах, достаточных для проведения доклинических исследований, с требуемой химической и радиоизотопной чистотой и в оптимальной среде;
- Проведено исследование комплексообразования ^{161}Tb с конъюгатами на основе хелатирующего агента DOTA и высокоселективных лигандов, направленных на ПСМА, исследована стабильность полученных комплексов в физиологическом растворе, среде биогенных катионов и фетальной телячьей сыворотке.

Теоретическая и практическая значимость работы

- Разработанная методика выделения ^{186}Re и полуавтоматическая установка на её основе могут быть использованы для получения ^{186}Re для доклинических исследований, а также могут быть масштабированы для промышленного производства. На основании методики создан лабораторно-технологический регламент;
- Впервые в России были получены пробные партии ^{161}Tb и использованы для проведения доклинических исследований;
- Разработанная методика получения ^{161}Tb может быть масштабирована для промышленного производства. На основании методики создан технологический регламент;
- Полученные комплексы ^{161}Tb могут быть исследованы в качестве потенциальных таргетных препаратов, направленных на терапию рака простаты.

Личный вклад автора

- Критический обзор литературных данных;
- Изготовление вольфрамовых мишеней;
- Обработка результатов гамма-спектрометрии;
- Проведение исследований по сорбционному поведению W, Re, Gd, Tb и расчет коэффициентов распределения;
- Проведение динамических экспериментов по разделению W и Re, Gd и Tb и концентрированию Gd и Tb;
- Подготовка и апробация методик выделения Re и Tb;
- Переработка облученных мишеней ^{160}Gd и получение пробных партий ^{161}Tb ;

- Разработка методики регенерации ^{186}W ;
- Исследования комплексообразования ^{161}Tb и конъюгатов;
- Проведение экспериментов по определению стабильности комплексов *in vitro* с помощью ТСХ и гамма-спектрометрии.

Методология диссертационного исследования

В работе использовали современные инструментальные методы анализа: гамма-спектрометрия, атомно-эмиссионная спектрометрия, радиотонкослойная хроматография. Для наработки радионуклидов использовали изохронный циклотрон У-150 и реактор ИР-8. Для выделения радионуклидов использовали экстракционную хроматографию. Разработанные радиохимические методики могут быть масштабированы для промышленного производства.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность определяется сходимостью и воспроизводимостью полученных результатов и обеспечена использованием современных расчетных и инструментальных методов исследования. Для калибровки оборудования использовали стандартные образцы. Для анализа данных использовали современные методы статистической обработки. Достоверность подтверждена оценкой международных экспертов при рецензировании публикаций по тематике диссертации.

Основные результаты работы были представлены в виде устных и стендовых докладов на следующих конференциях: Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020», «Ломоносов-2023», «Ломоносов-2024» (Москва, Россия); V Всероссийский конгресс с международным участием «Онкорadiология, лучевая диагностика и терапия» (2022, Москва, Россия); X Российская конференция с международным участием «Радиохимия» (2022, Санкт-Петербург, Россия), XVII Курчатовская междисциплинарная молодежная научная школа (2023, Москва, Россия), Первый Курчатовский форум синхротронно-нейтронных исследований (2023, Москва, Россия), 66-я Всероссийская научная конференция МФТИ (2024, Москва, Россия).

Публикации

Всего по материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, из них 3 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus, RSCI), 1 патент и 6 тезисов докладов на российских и международных научных конференциях.

Структура и объем диссертации

Диссертация выполнена на 139 листах печатного текста и состоит из введения, обзора литературных данных, описания материалов и методов исследования, обсуждения полученных результатов исследования, выводов, списка цитируемой литературы, благодарностей, приложений. Список цитируемой литературы включает 151 источник. Работа содержит 74 рисунка, 10 таблиц и 2 приложения.

Основное содержание работы

Введение включает в себя обоснование актуальности работы, цели и задачи работы, а также новизну, теоретическую и практическую значимость работы, методологию исследования и личный вклад автора.

Обзор литературы состоит из трёх подразделов. В первом подразделе представлен краткий исторический экскурс в историю развития ядерной медицины и описаны основные требования к медицинским радионуклидам. Во втором подразделе описаны способы получения и выделения из мишеней медицинских радионуклидов рения, а также существующие и разрабатываемые препараты на их основе, в третьем описаны изотопы тербия, которые можно применять в ядерной медицине, их способы наработки и выделения из мишеней, а также препараты на их основе.

Экспериментальная часть описывает материалы и методы исследования, а также методики проведения всех экспериментов. Приведены методики изучения сорбционных свойств исследуемых сорбентов по отношению к целевым элементам в статических и динамических условиях. Представлены методики выделения рения и тербия из облученных мишеней. Приведена схема полуавтоматической установки по выделению рения и методика регенерации мишенного вольфрама. Описаны методики синтеза комплексов тербия с селективно направленными лигандами простатического специфического мембранного антигена и методики исследования стабильности полученных комплексов в физиологическом растворе, растворах биогенных катионов и сыворотке бычьей крови.

Обсуждение результатов состоит из двух разделов. В первом представлены результаты работ по ^{186}Re , во втором – по ^{161}Tb .

Разработка методики выделения рения из вольфрамовых мишеней

В данной работе предложена экстракционно-хроматографическая методика разделения вольфрама и рения, основанная на использовании сорбента TEVA Resin (Triskem), который представляет собой аммониевую соль алифатического четвертичного амина Aliquat 336 (метилтриалкиламмоний), нанесенную на полимерную смолу Amberchrom CG-71. Размер частиц сорбента находится в диапазоне 100-150 мкм. Ранее этот сорбент неоднократно был эффективно применен для выделения технеция, чьи химические свойства весьма схожи с рением [1–3]. Для уточнения условий выделения рения и сопоставления сорбционных свойств рения и приведенных в литературе данных по технецию был проведен статический сорбционный эксперимент в азотнокислой и солянокислой средах, а также в щелочной среде. К навескам сорбента добавляли растворы W и Re, а также аликвоты воды и растворов кислот или щелочи до достижения требуемой концентрации и объема 1 мл. Сорбцию проводили в течение 2 часов, аликвоты растворов после сорбции и растворов сравнения измеряли с помощью атомно-эмиссионной спектроскопии.

Коэффициенты распределения определяли по формуле:

$$K_d = \frac{C_0 - C_s}{C_s} \cdot \frac{V}{m}$$

где C_0 – концентрация металла до сорбции (мг/мл), C_s – концентрация металла после сорбции (мг/мл), V - объем раствора (мл), m - масса сорбента (г), K_d - коэффициент распределения (мл/г). Рассчитанные коэффициенты представлены на рисунке 1.

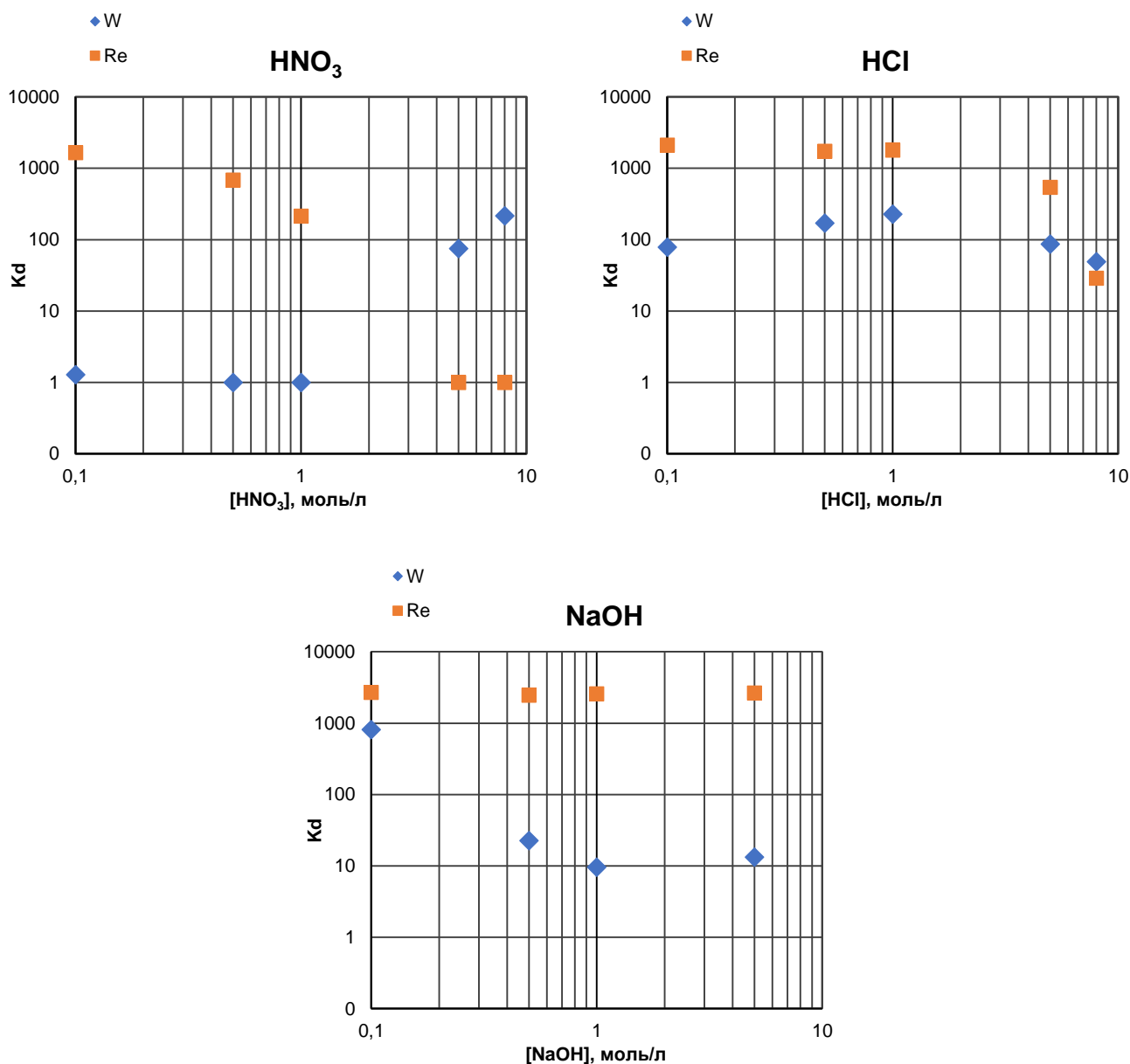


Рисунок 1. Сорбция вольфрама и рения на сорбенте TEVA Resin в азотной и соляной кислотах, а также в растворе гидроксида натрия

Из полученных данных можно заключить, что разделение вольфрама и рения следует проводить в щелочной среде с концентрацией 1 М и более: в данных условиях вольфрам не связывается с сорбентом, в то время как рений надежно удерживается. Рений можно десорбировать с использованием азотной кислоты концентрацией 4 М и более.

Мишень в форме диска диаметром 8 мм и толщиной 4 мм из порошка вольфрама естественного изотопного состава облучали на циклотроне У-150 НИЦ «Курчатовский институт» дейтронами энергией 28 МэВ, током ~ 0.15 мкА до достижения суммарного заряда 0.1 мкА·ч. В данных условиях нарабатывались не только радиоактивные изотопы вольфрама и рения, но и ряд изотопов тантала. В качестве радиоактивных индикаторов использовали радиоизотопы ^{187}W ($T_{1/2} = 23.72$ ч.), ^{181}Re ($T_{1/2} = 19.9$ ч.) и ^{183}Ta ($T_{1/2} = 5.1$ сут.).

Для экспериментов по химическому разделению вольфрама и рения использовали части мишени массой 2-25 мг, которые растворяли в 30% H_2O_2 при нагревании в присутствии щелочи. Полученный раствор наносили на колонку с 1 г TEVA Resin. Вольфрам и тантал элюировали раствором щелочи концентрацией 1 либо 3 М. При использовании 3 М NaOH вольфрам элюируется быстрее. После полного элюирования вольфрама колонку промывали водой до достижения pH 7-8, после чего элюировали рений 4 М HNO_3 (рис. 2).

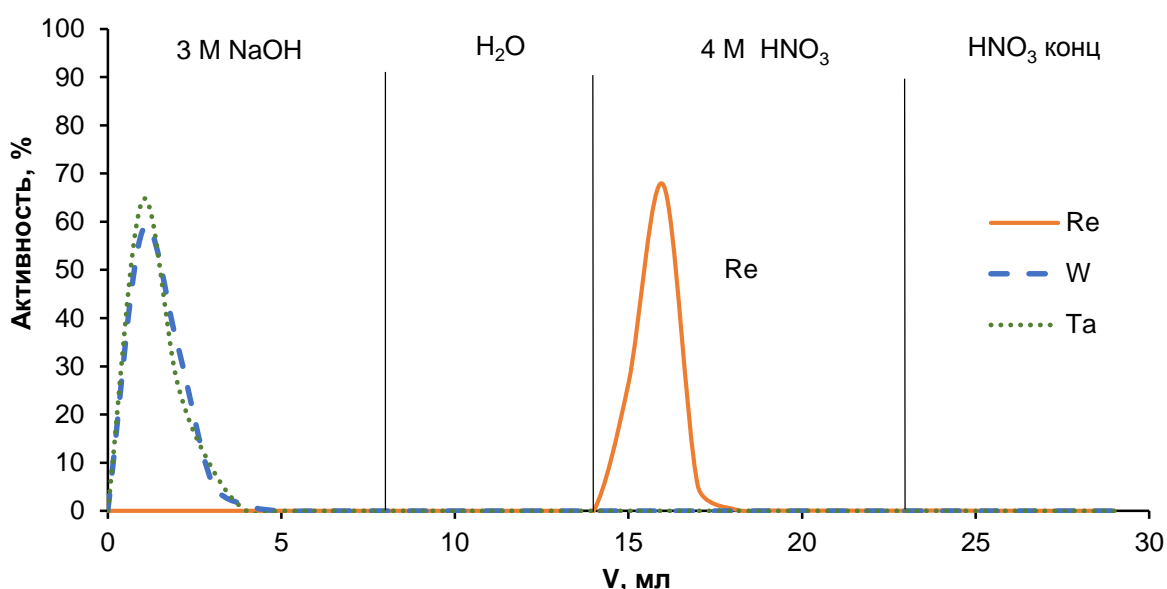


Рисунок 2. Элюирование вольфрама, рения и тантала с колонки с сорбентом TEVA

В первых 5 мл элюируется 97% рения. Для полной очистки колонки от следовых количеств рения использовали концентрированную HNO_3 .

Автоматизация методики выделения рения и регенерация мишенного вольфрама

Для проведения разделений по созданной методике собрана установка (рис. 3). Установка состоит из хроматографической колонки объемом 1 мл со стекловолоконным фильтром, заполненной сорбентом TEVA Resin и подключенной к перистальтическому насосу и двум клапанам, соединенными с подающими и принимающими растворы емкостями. Установка была размещена в рентгенозащитном вытяжном шкафу. Расчетная скорость потока растворов через насос составила 1 мл/мин. Управление клапанами и насосом осуществлялось дистанционно.

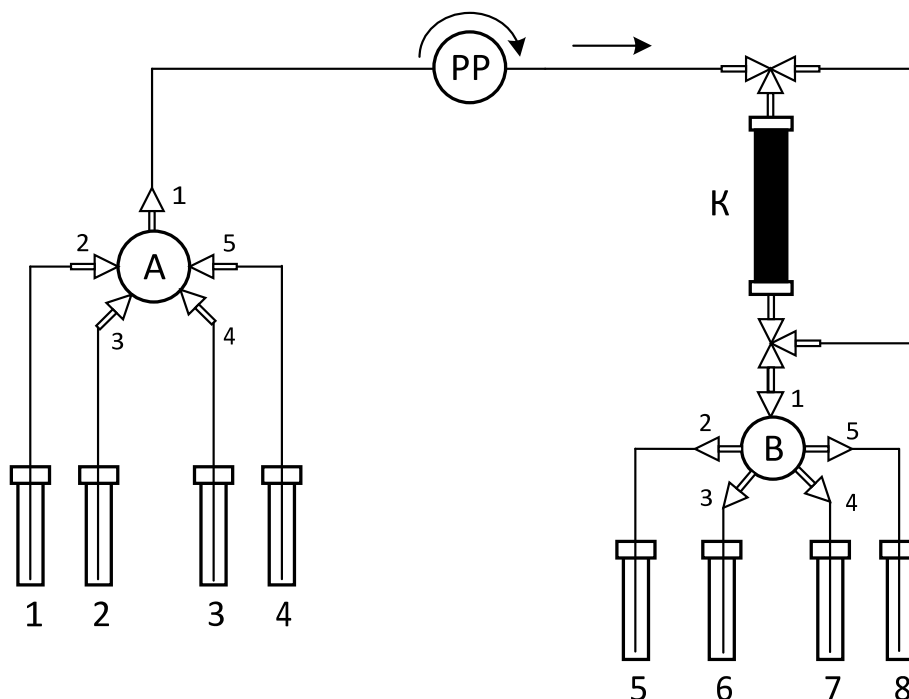


Рисунок 3. Схема установки для выделения рения из раствора облученной вольфрамовой мишени. Растворы к клапану А: емкость 1 – мишенный раствор в 3 М NaOH; затем – раствор 3 М NaOH для элюирования, емкость 2 – дистиллированная вода, емкость 3 – раствор 4 М HNO₃, емкость 4 – раствор 8 М HNO₃. Растворы от клапана В: емкость 5 – элюат нанесения с основной массой вольфрама, емкость 6 – элюат промывки водой, емкость 7 – фракция с рением, емкость 8 – сброс отходов. К – экстракционная колонка, с трехходовыми кранами и байпасной трубкой для удаления воздуха. PP – перистальтический насос

Для тестирования работы установки использовали порошок металлического вольфрама естественного изотопного состава массой 153 мг, облученный на циклотроне У-150 НИЦ «Курчатовский институт» дейтронами энергией 28 МэВ до достижения интегрального заряда 0.1 мкА·ч. Растворение мишени и разделение вольфрама и рения осуществляли согласно описанной выше методике. Удалось достичь полного разделения вольфрама и рения: гамма-линий рения не обнаружено в спектре вольфрамового элюата и, соответственно, гамма-линий вольфрама не обнаружено в спектрах рениевых образцов. Весь вольфрам элюируется в первых 10 мл элюата, основная часть рения - в 5 мл элюата (с 30 по 35 мл). Объем элюата с вольфрамом зависит от исходного объема мишенного раствора, помещаемого на колонку. Объем элюата с рением не зависит от объема исходного раствора. Можно предположить, что даже при значительно больших количествах рения (вплоть до единиц Ки) весь рений будет элюироваться в данном минимальном объеме.

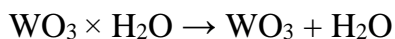
При наработке ¹⁸⁶Re для медицинских целей в качестве мишенного материала необходимо использовать высокообогащенный (более 99%) ¹⁸⁶W для минимизации образования других изотопов рения. Обогащенные изотопные материалы, как правило, имеют довольно высокую стоимость – и их многократное использование позволит

уменьшить стоимость производства рения. Как следствие, появляется необходимость разработать методику регенерации мишенного вольфрама.

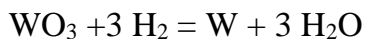
После выделения рения был получен раствор 3 М NaOH, содержащий вольфрам в виде вольфрамата натрия (Na_2WO_4). Осаждение вольфрамовой кислоты из щелочного раствора вольфрамата натрия осуществляли путем добавления соляной кислоты:



Условия осаждения вольфрамовой кислоты влияют на характеристики получаемого осадка: при комнатной температуре образуется мелкодисперсный белый осадок гидрата вольфрамовой кислоты ($\text{WO}_3 \times 2 \text{H}_2\text{O}$), который медленно оседает и очень плохо фильтруется. Потери вольфрама в маточном растворе в этом случае достигают 50%. Концентрирование реакционных растворов, а также проведение процесса при температуре 90-95°C способствуют образованию крупного кристаллического желтого осадка вольфрамовой кислоты, который легко отделяется от раствора с помощью центрифугирования и декантации. Полученный осадок промывали 0.3 М HCl и ацетоном и переносили в кварцевую лодочку. Разложение вольфрамовой кислоты проводили при температуре 400-450°C в трубчатой печи. Выход оксида вольфрама составил 90%:



Для восстановления оксида вольфрама (VI) водородом до металлического W использовали газовый стенд, основной частью которого является кварцевый реактор. Навеску WO_3 загружали в алундовый тигель, опускаемый в кварцевый реактор, в систему напускали H_2 и нагревали реактор.



После остывания извлекали и взвешивали тигель с восстановленным вольфрамом. Результирующий выход вольфрама в процессе двухстадийной регенерации составил 89.5 %.

Наработка ^{161}Tb на реакторе ИР-8

Для наработки ^{161}Tb использовали оксид Gd, обогащенный по ^{160}Gd до 97.6%. Навески $^{160}\text{Gd}_2\text{O}_3$ запаивали в кварцевые ампулы и погружали в зону облучения (первый блок отражателей, ячейка 5-6) реактора ИР-8. Облученные мишени выдерживали для спада наведенной активности короткоживущих изотопов. Ампулу разрезали с помощью дистанционно управляемого устройства. Порошок оксида гадолиния растворяли в 4 М HNO_3 . Из растворов отбирали аликвоты объемом 5 мкл в качестве образцов сравнения для гамма-спектрометрического анализа. Gd определяли по пику ^{159}Gd 363.54 кэВ (11.78 %), Tb - по пику ^{161}Tb 74.57 кэВ (10.2 %). Параметры облучений приведены в таблице 1.

Таблица 1. Параметры наработки ^{161}Tb

	Облучение 1	Облучение 2
Масса мишени, мг	11.7	12
Время облучения, ч	18	62
Средняя мощность реактора, МВт	4.7	5.07
Поток тепловых нейтронов $\Phi_{\text{тепл}}$, нейтрон/($\text{см}^2 \cdot \text{с}$)	$7.0 \cdot 10^{13}$	$9.6 \cdot 10^{13}$
Скорость реакции $RR \text{ } ^{160}\text{Gd}(n,\gamma)^{161}\text{Gd}$, с^{-1}	$7.69 \cdot 10^{-11}$	$1.06 \cdot 10^{-10}$
Активность ^{161}Tb на ЕОВ, Бк	$2.23 \cdot 10^8$	$9.50 \cdot 10^8$
Выдержка после облучения, сут	5	4
Объем после растворения, мл	5	3

Хроматографическое поведение гадолиния и тербия на сорбентах LN и DGA

В качестве сорбента для разделения Gd и Tb использовали LN Resin (Triskem), который представляет собой ди-(2-этилгексил)фосфорную кислоту (Д2ЭГФК), нанесенную на инертный носитель. В работе [4] приведены данные об удерживании различных элементов, в том числе Tb и Gd, на данном сорбенте в азотнокислой среде. На основании этих данных можно предполагать, что разделение Gd и Tb будет происходить в диапазоне концентраций 0.3-0.6 М HNO_3 .

Раствор мишени после первого облучения объемом 5 мл в 4 М HNO_3 упаривали до влажных солей и растворяли в 0.05 М HCl . Полученный раствор помещали на колонку с 1 г LN Resin. Колонку промывали 10 мл H_2O , 70 мл 0.5 М HNO_3 , 40 мл 0.7 М HNO_3 и 10 мл 2 М HNO_3 . Было обнаружено, что не удается добиться полного разделения элементов при использовании 0.5 М HNO_3 (рис. 4) из-за довольно большой (11.7 мг) массы Gd на 1 г сорбента. Потери ^{161}Tb в гадолиниевой фракции составили 40%.

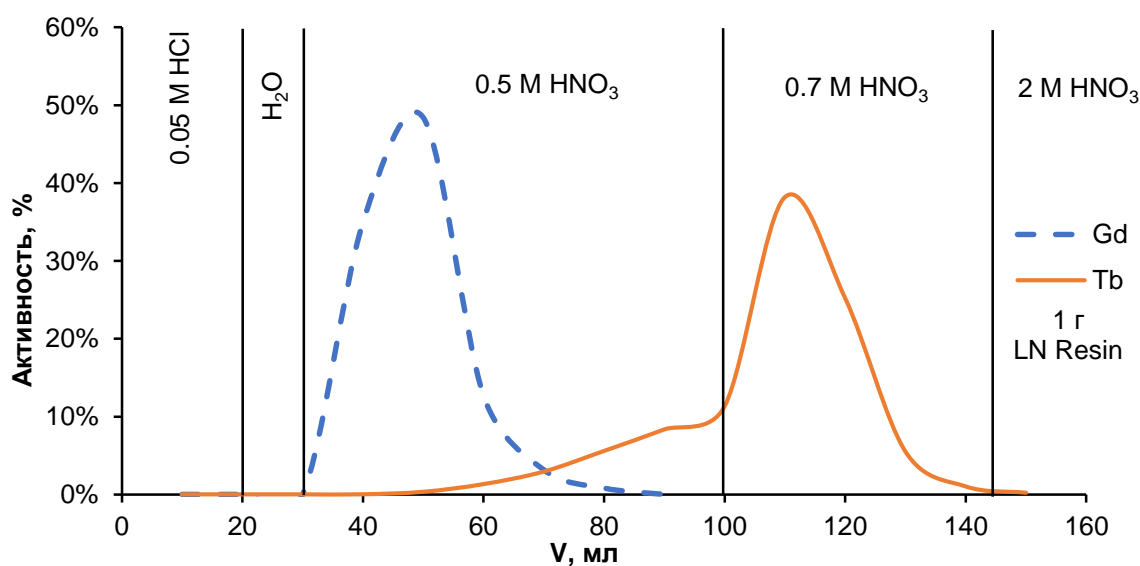


Рисунок 4. Элюирование Gd и Tb с сорбента LN Resin (1 г) при массе Gd в растворе 11.7 мг

При проведении дальнейших экспериментов использовали радиоактивные метки ^{153}Gd ($T_{1/2} = 240.4$ сут., $E_{\gamma} = 97.43$ кэВ (30.0%)) и ^{160}Tb ($T_{1/2} = 72.3$ сут., $E_{\gamma} = 298.58$ кэВ (26.1%)).

Для оптимизации методики разделения на LN Resin была изучена сорбция Gd и Tb в 0.3 – 0.5 М азотной кислоте и в присутствии различных количеств стабильного Gd: 1, 5, 10, 20 мг Gd в пересчете на 1 г сорбента (рис. 5).

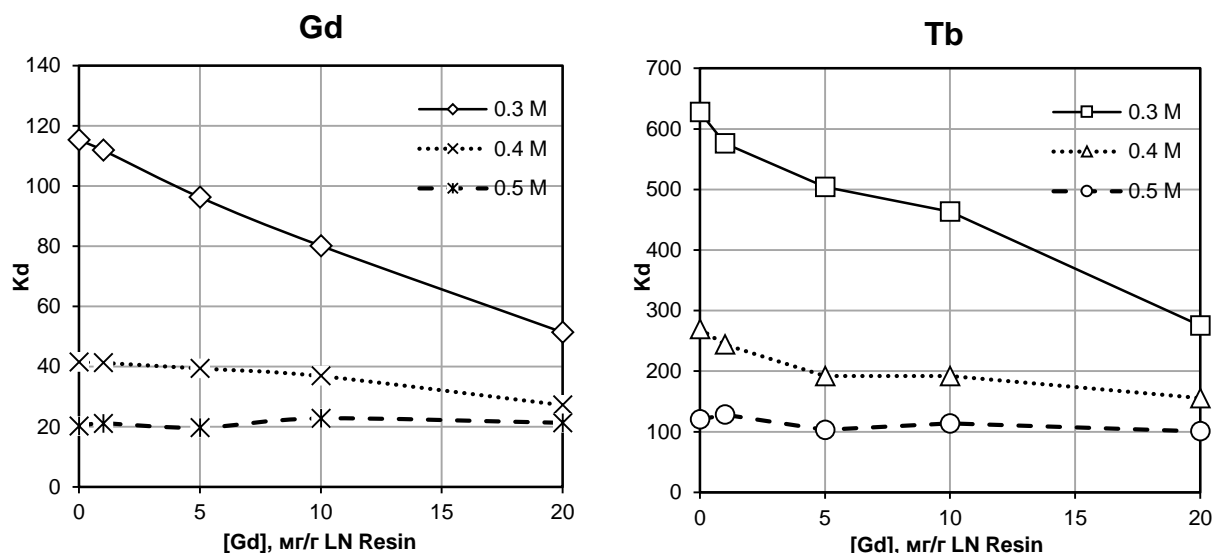


Рисунок 5. Сорбция Gd и Tb в присутствии макроколичеств Gd в среде HNO_3 на LN Resin

Коэффициенты распределения рассчитывали по формуле:

$$K_d = \frac{(A_0 - A_s) \cdot V}{g \cdot A_s}$$

где A_0 – активность раствора сравнения, A_s – активность раствора после проведения сорбции и отделения сорбента, V – объем раствора, использованного для сорбции, (мл), g – масса добавленного сорбента (г).

На основании полученных результатов представляется перспективным разделение Tb и Gd с использованием 0.4 и 0.3 М азотной кислоты. В этих условиях были проведены динамические эксперименты (таблица 2).

Таблица 2. Условия динамических экспериментов по разделению Gd и Tb на LN.

	Колонка 1	Колонка 2	Колонка 3
Масса сорбента, г	1	1	0.5
C (HNO_3) для элюирования Gd, М	0.4	0.3	0.3
V (HNO_3) для элюирования Gd, мл	115	210	180
C (HNO_3) для элюирования Tb, М	0.7	0.7	0.7
V (HNO_3) для элюирования Tb, мл	80	100	80
Потери Tb во фракции Gd, %	16.5	>5	41

Во всех экспериментах использовали раствор-имитатор облученной мишени объемом 5 мл, содержащий метки ^{153}Gd и ^{160}Tb и 10 мг стабильного Gd в 0.05 М HCl. Раствор наносили на колонку, далее элюировали Gd, после чего элюировали Tb. Удастся добиться эффективного разделения Gd и Tb при использовании колонки с 1 г LN Resin и 0.3 М HNO₃ в качестве элюента (колонка 2).

Растворение гадолиниевых мишеней происходит в концентрированной азотной кислоте. Однако сорбция Gd и Tb на LN Resin возможна только из слабых соляно- или азотнокислых растворов, а разделение необходимо проводить в 0.3 М HNO₃. При работе с малыми активностями можно осуществлять смену среды путем упаривания досуха и растворением в кислоте требуемой концентрации, но при производстве изотопов подобный подход неприменим. Было принято решение разработать методику хроматографической смены среды. Для данной процедуры был выбран экстракционно-хроматографический сорбент DGA Resin фирмы Triskem, который представляет собой N,N,N',N'-тетра-N-октилдигликомид, нанесенный на сополимер стирола с дивенилбензолом. В работе [5] приведены коэффициенты удерживания Tb и Gd на DGA Resin в солянокислой и азотнокислой средах, а также кривая реэкстракции Tb с данной смолы. Tb и Gd сорбируются на DGA Resin из растворов HNO₃, и при этом десорбируются в среде соляной кислоты низких концентраций.

Изучение поведения Gd и Tb на DGA Resin проводили в динамических условиях на колонках с сорбентом массой 0.5 г и 1 г. Во всех экспериментах использовали раствор-имитатор облученной мишени объемом 5 мл, содержащий метки ^{153}Gd и ^{160}Tb и 10 мг стабильного Gd в 4 М HNO₃. Раствор наносили на колонку и промывали её 5 мл H₂O и 20 мл 0.05 М HCl.

При использовании колонки с 0.5 г DGA Resin масса сорбента недостаточна для удержания 10 мг стабильного Gd. При использовании колонки с 1 г DGA Resin раствор эффективно концентрируется на колонке; Gd начинает элюироваться первым, и в первых 5 мл после начала пропускания 0.05 М HCl элюируется 40.8% Gd и 6.2% Tb. Таким образом, данную методику можно использовать не только для перевода мишенного раствора в оптимальную среду, но и для частичного сброса мишенного материала с минимальными потерями Tb.

При переработке реальной мишени после выделения тербий необходимо сконцентрировать в минимальном объеме, так как для синтеза РФЛП требуются растворы радионуклида с высокой удельной активностью. Для этой задачи также можно использовать DGA Resin. Провели два динамических эксперимента с использованием колонок с 0.5 г и 0.1 г сорбента. На колонки наносили 80 мл ^{161}Tb в 0.7 М HNO₃, затем элюировали тербий 0.05 М HCl. На обеих колонках удалось сконцентрировать ^{161}Tb при нанесении. Для полного элюирования Tb с колонки с сорбентом массой 0.5 г потребовалось пропустить 30 мл 0.05 М HCl. При элюировании тербия с колонки с сорбентом массой 0.1 г в первых 6 мл элюировалось 97.75% Tb, в 7 мл – 98.90%. Для полного элюирования Tb потребовалось пропустить 12 мл 0.05 М HCl. Таким образом, удалось сконцентрировать Tb в небольшом объеме и в слабой солянокислой среде.

Методика выделения тербия из облученной гадолиниевой мишени

Схема методики представлена на рисунке 6 и состоит из нескольких этапов: растворение мишени, смена среды мишенного раствора с частичным отделением мишенного гадолиния на колонке с 1 г DGA Resin, разделение гадолиния и тербия на колонке с 1 г LN Resin, концентрирование выделенного ^{161}Tb на колонке с 0,1 г DGA Resin и очистка полученного раствора от органических примесей на колонке с 0,1 г Prefilter.

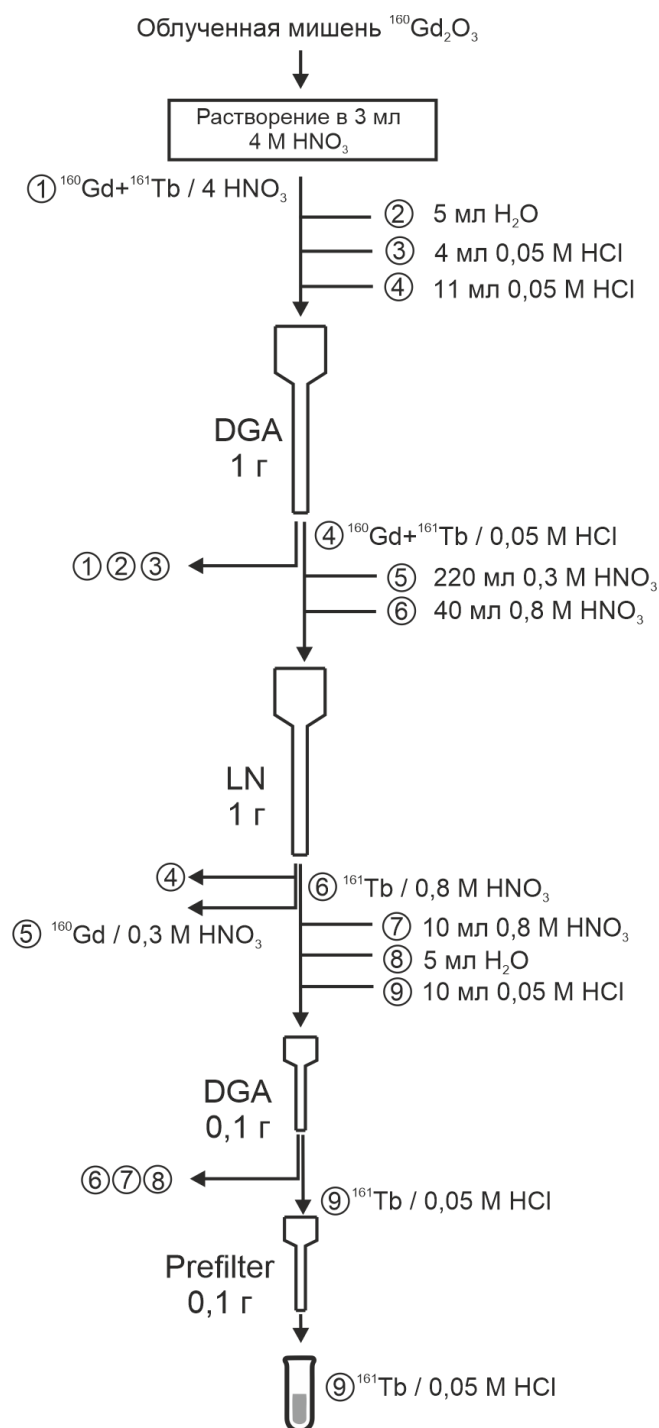


Рисунок 6. Схема методики выделения ^{161}Tb из облученной гадолиниевой мишени

На первом этапе раствор мишени из облучения 2 помещали на колонку, далее колонку промывали 5 мл H_2O . Элюат собирали во флаконы по 5 мл. Затем элюировали Gd и Tb 40 мл 0.05 М HCl. Первые 5 мл собирали фракции по 1 мл, далее – по 5 мл (рис. 7).

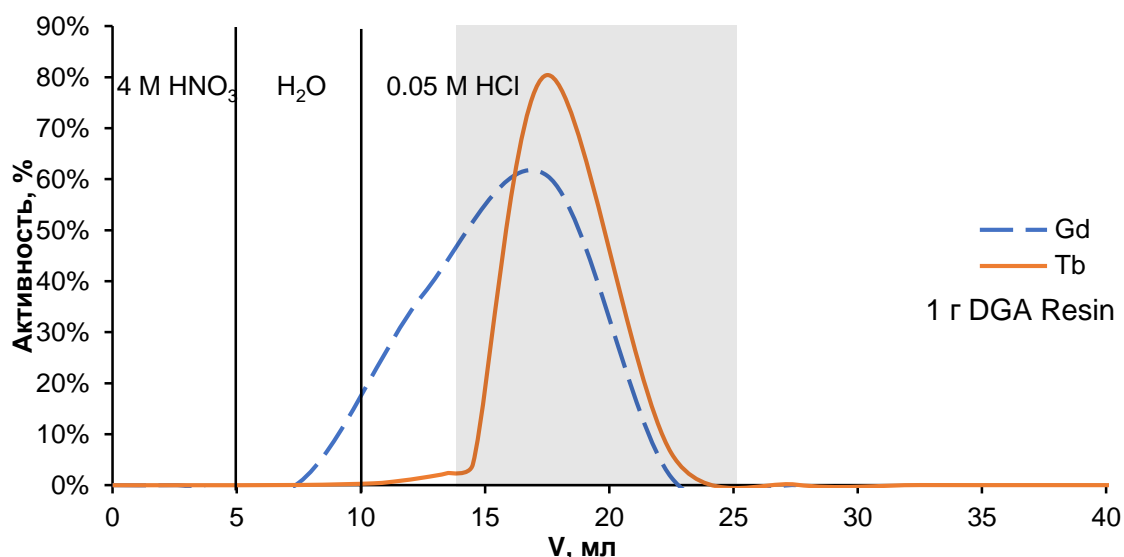


Рисунок 7. Элюирование Gd и ^{161}Tb с колонки с DGA Resin массой 1 г

Gd и Tb из мишенного раствора полностью сорбируются при нанесении на колонку. Gd начинает элюироваться при промывании водой, Tb - при смене среды на 0.05 М HCl. На данной стадии удалось эффективно сменить среду с концентрированной азотной кислоты на 0.05 М HCl и отделить 29.98% Gd, потеряв при этом менее 3% Tb. Фракции с 14 по 25 мл были объединены для последующего выделения ^{161}Tb .

Для разделения Gd и Tb использовали колонку с 1 г LN Resin (рис. 8).

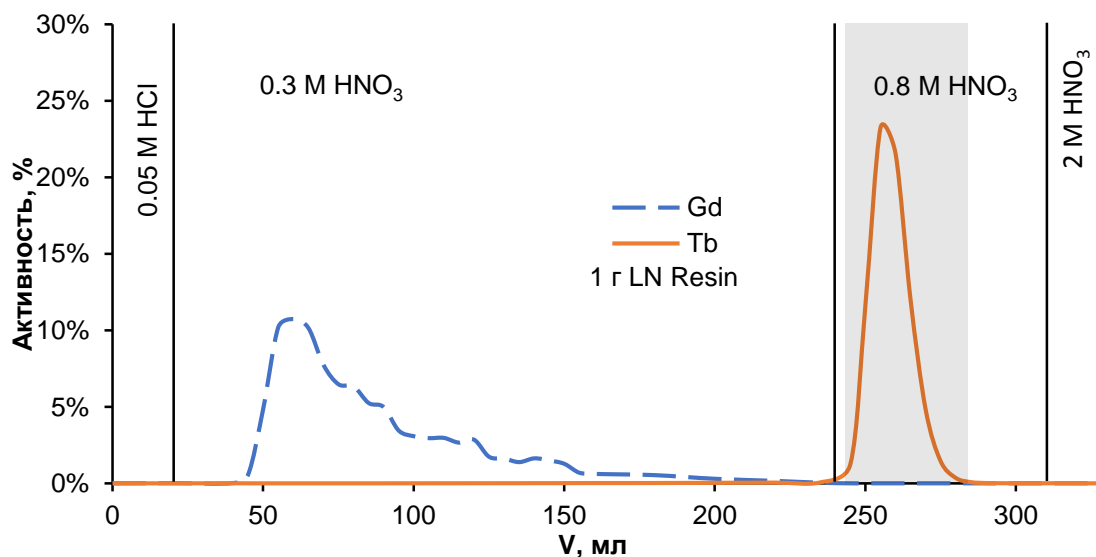


Рисунок 8. Разделение Gd и ^{161}Tb на колонке с LN Resin массой 1 г

Гадолиний полностью элюируется при пропускании 0.3 М HNO_3 . Потери Tb в гадолиниевой фракции составили 1.5%. Tb элюируется 0.8 М HNO_3 . Увеличение

концентрации HNO_3 с 0.7 до 0.8 М сократило объем тербиевой фракции на 20 мл по сравнению с экспериментами на метках. 98% Tb содержится во фракции объемом 40 мл. Затем колонку промывали 20 мл 2 М HNO_3 для удаления остатков Tb и дочернего Dy.

Раствор ^{161}Tb концентрировали на колонке с 0.1 г DGA Resin (рис. 9). Повышение концентрации HNO_3 в растворе нанесения с 0.7 М до 0.8 М не повлияло на сорбцию Tb на колонке.

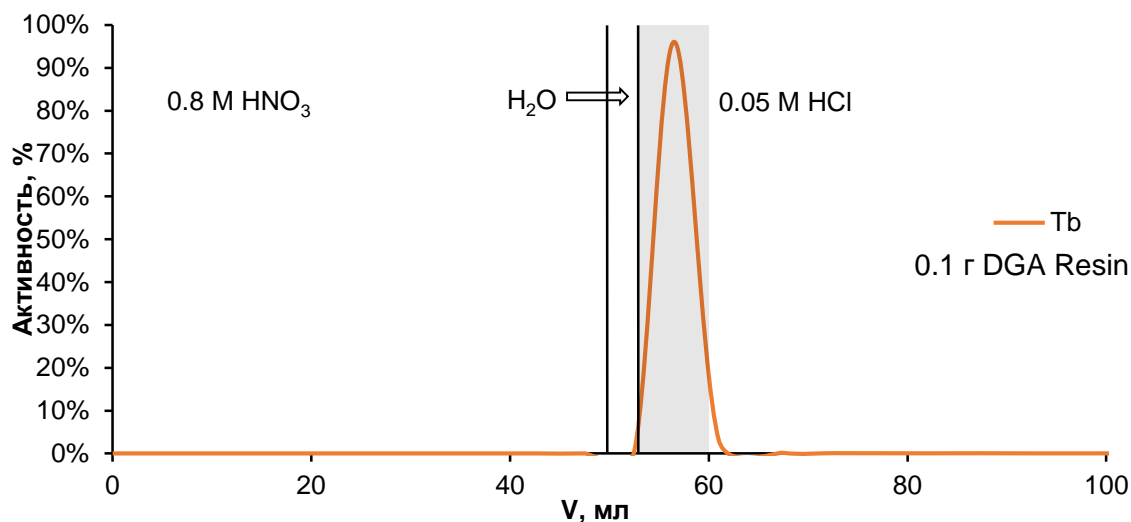


Рисунок 9. Концентрирование ^{161}Tb на колонке с DGA Resin массой 0.1 г

Десорбция Tb при промывке колонки водой составила 0.5%. Удалось сконцентрировать 96% Tb в 5 мл раствора (фракция 55-60 мл). Ещё 3.2% содержатся в следующих 5 мл.

Последней стадией является очистка раствора ^{161}Tb от микроколичеств экстрагентов с предыдущих колонок. Это необходимо в связи с применением данного раствора для доклинических исследований и, впоследствии – для производства радиофармпрепаратов для массового применения. Для данной задачи используется колонка с сорбентом Prefilter массой 0.1 г (рис. 10).

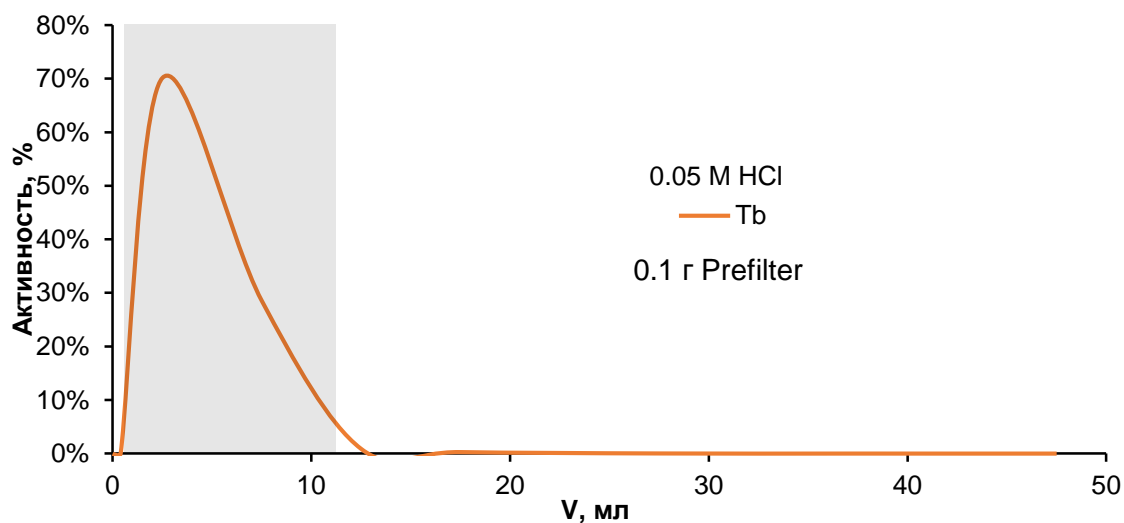


Рисунок 10. Очистка раствора ^{161}Tb на колонке с Prefilter массой 0.1 г

Первые 0.8 мл элюата с колонки сливали в отдельную пробу в связи с необходимостью удалить раствор, заполнявший трубки и саму колонку до начала нанесения на неё Тб. Далее элюат собирали во флаконы по 5 мл. Первые 5 мл содержали 70.12% от общего количества Тб (73.3 МБк/мл), вторые 5 мл – 28.54%. Суммарно в рамках данного эксперимента удалось выделить 522 МБк ^{161}Tb . Потери тербия в процессе выделения составили менее 5%.

Комплексообразование тербия с селективно направленными лигандами простатического специфического мембранного антигена

Опухоли предстательной железы являются одним из самых распространенных по заболеваемости среди мужчин типов онкологии. Белковым маркером данного заболевания является простатический специфический мембранный антиген (ПСМА) за счет сверхэкспрессии в злокачественных клетках. Возможность модификаций применяемого в клинической практике конъюгата PSMA-617 (в составе препарата [^{177}Lu]Lu-PSMA-617) с целью улучшения аффинности, биораспределения и иных свойств в настоящий момент вызывает большой интерес [6–8]. Перспективным направлением является добавление дипептидного линкера, обеспечивающего дополнительное связывание конъюгата с рецептором ПСМА [9]. В данной работе исследуется комплексообразование ^{161}Tb с различными модификациями конъюгатов-аналогов PSMA-617 с присутствием дипептидных линкеров в структуре конъюгатов.

Для синтеза комплексов ^{161}Tb с конъюгатами использовали аликвоты раствора ^{161}Tb активностью 50-3000 кБк, что соответствует концентрации катионов 0.7-40 нМ. В процессе синтеза конъюгат присутствует в заведомом избытке (концентрация в пробирке составляет 0.1 мМ). В терапевтических препаратах на основе тербия используют сотни МБк - единицы ГБк ^{161}Tb (0.01-0.1 мкМ) [10], что на несколько порядков превышает используемые в работе количества ^{161}Tb . Однако, ожидаемая концентрация тербия всё ещё существенно меньше концентрации конъюгата. Таким образом, стоит ожидать, что синтез терапевтических количеств препарата будет аналогичен синтезу, проведенному в данной работе.

На первом этапе провели параллельный синтез комплексов ^{161}Tb с PSMA-617 и m-Cl-DCL-L-Phe-L-Phe-DOTA (конъюгат 1, рис. 11).

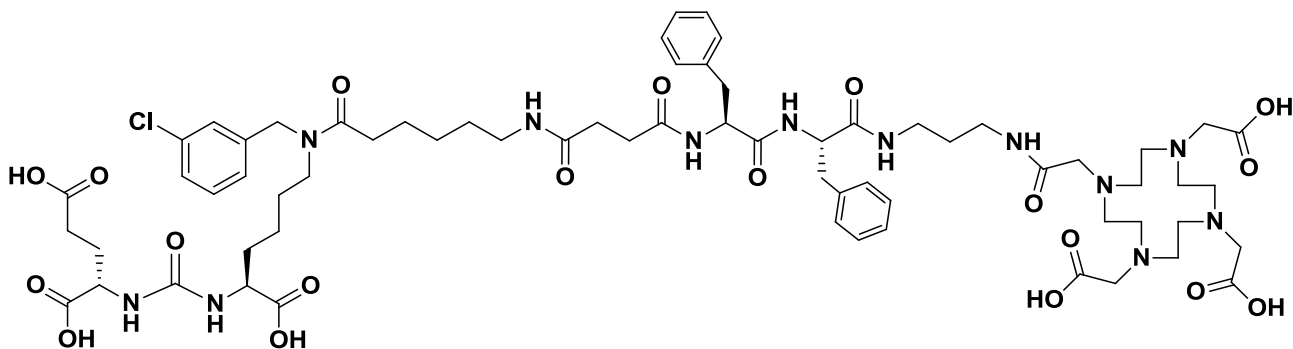


Рисунок 11. Структура конъюгата к ПСМА на основе мочевины с хелатирующим агентом DOTA (конъюгат 1, m-Cl-DCL-L-Phe-L-Phe-DOTA)

Оба конъюгата связывают 100% тербия в комплекс, однако комплекс ^{161}Tb -m-Cl-DCL-L-Phe-L-Phe-DOTA образуется быстрее, чем ^{161}Tb -PSMA-617. Это может быть обусловлено более высокой стехиометрической доступностью цикла DOTA в m-Cl-DCL-L-Phe-L-Phe-DOTA.

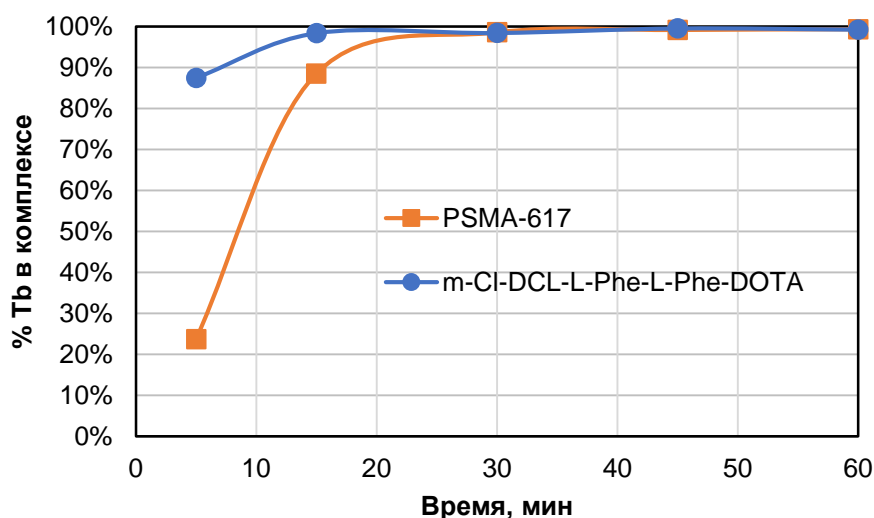


Рисунок 12. Кинетика синтеза комплексов ^{161}Tb с PSMA-617 и m-Cl-DCL-L-Phe-L-Phe-DOTA

Для определения оптимальных условий синтеза комплексов тербия с конъюгатами данного типа была проведена серия экспериментов в различных условиях: при варьировании pH, концентрации лиганда в растворе и температуры синтеза. Наибольшая полнота связывания за минимальное время достигается при pH 4, температуре 80 °C и концентрации лиганда в пробирке не менее 0.1 мМ. В данных условиях проведён синтез комплексов тербия с пятью конъюгатами (рис. 13):

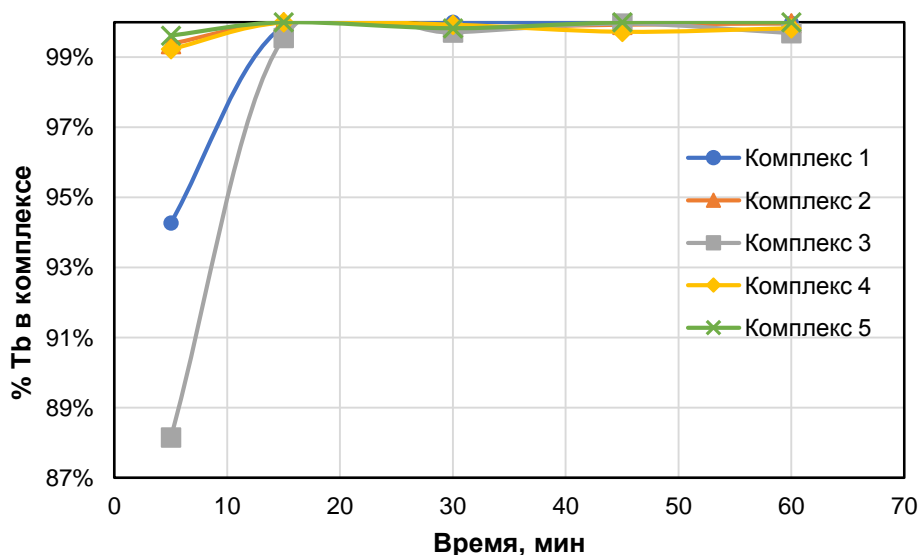


Рисунок 13. Кинетика синтеза комплексов ^{161}Tb с исследуемыми конъюгатами

Конъюгат 1: m-Cl-DCL-L-Phe-L-Phe-DOTA

Конъюгат 2: o-NO₂-DCL-L-Phe-L-Tyr-DOTA

Конъюгат 3: p-COOH-DCL-L-Tyr-L-Tyr-DOТА

Конъюгат 4: p-Br-DCL-L-Phe-L-Tyr-DOТА

Конъюгат 5: p-COOH-DCL-L-Phe-L-Phe(4-Br)-DOТА

Все конъюгаты полностью связывают тербий за небольшое (менее 15 минут) время. Синтезированные комплексы были использованы в экспериментах по изучению их стабильности в различных средах: в изотоническом растворе (0.9% NaCl в воде), в растворах биогенных катионов (0.1 мМ Fe³⁺, Zn²⁺, Cu²⁺; 5 мМ Ca²⁺, Mg²⁺) и в фетальной телячьей сыворотке. Эксперимент по устойчивости в изотоническом растворе и растворах катионов проводили, смешивая раствор комплекса с требуемым раствором в объемном соотношении 1:20, эксперимент по устойчивости в сыворотке проводили с соотношением растворов 1:50. Смеси инкубировали при 37 °С в течение 165 часов. В растворах катионов и изотоническом растворе комплексы остаются стабильными на протяжении всего срока инкубирования.

Комплексы демонстрируют разный уровень устойчивости к фетальной телячьей сыворотке. Наибольшую устойчивость продемонстрировал комплекс 1 (¹⁶¹Tb-m-Cl-DCL-L-Phe-L-Phe-DOТА): высвобождение тербия не превысило 10%, что является допустимым показателем для использования в качестве РФЛП.

Выводы

- 1) Определены коэффициенты распределения W и Re на сорбенте TEVA в диапазоне 0.1 - 8 М HCl, 0.1 - 8 М HNO₃ и 0.1 - 5 М NaOH;
- 2) Создана автоматизированная экстракционно-хроматографическая методика выделения ¹⁸⁶Re из вольфрамовых мишеней с выходом более 97%. Мишенный вольфрам регенерирован с выходом 89%;
- 3) Определены коэффициенты распределения Tb и Gd на сорбенте LN в диапазоне концентраций 0.3 - 0.5 М HNO₃ в присутствии 0 - 20 мг Gd на 1 г сорбента;
- 4) Разработан метод получения ¹⁶¹Tb, основанный на последовательном экстракционно-хроматографическом разделении и последующем концентрировании на сорбентах DGA, LN и Prefilter из облученных нейтронами ¹⁶⁰Gd мишеней с выходом тербия более 95%;
- 5) Методика выделения ¹⁶¹Tb апробирована на мишени массой 12 мг, выделено 0.5 ГБк ¹⁶¹Tb;
- 6) Синтезировано 5 комплексов ¹⁶¹Tb с конъюгатами на основе DOТА и высокоселективных ПСМА-лигандов. Исследована устойчивость полученных комплексов в изотоническом растворе, растворах биогенных катионов и фетальной телячьей сыворотке.

Список цитируемой литературы

1. Horwitz E.P. et al. Separation and preconcentration of actinides by extraction chromatography using a supported liquid anion exchanger: application to the characterization of high-level nuclear waste solutions // *Analytica Chimica Acta*. 1995. Vol. 310, № 1. P. 63–78.
2. Zhang Z. lu et al. Preconcentration and separation of ⁹⁹Tc in groundwater by using TEVA resin // *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2017. Vol. 314, № 1. P. 161–166.
3. Kołacińska K. et al. A comparison study on the use of Dowex 1 and TEVA-resin in determination of ⁹⁹Tc in environmental and nuclear coolant samples in a SIA system with ICP-MS detection // *Talanta*. 2018. Vol. 184, № November 2017. P. 527–536.
4. Horwitz E.P., Bloomquist C.A.A. Chemical separations for super-heavy element searches in irradiated uranium targets // *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*. 1975. Vol. 37, № 2. P. 425–434.
5. Pourmand A., Dauphas N. Distribution coefficients of 60 elements on TODGA resin: Application to Ca, Lu, Hf, U and Th isotope geochemistry // *Talanta*. Elsevier, 2010. Vol. 81, № 3. P. 741–753.
6. Wester H.-J., Schottelius M. PSMA-Targeted Radiopharmaceuticals for Imaging and Therapy // *Seminars in Nuclear Medicine*. 2019. Vol. 49, № 4. P. 302–312.
7. Banerjee S.R. et al. ¹⁷⁷Lu-labeled low-molecular-weight agents for PSMA-targeted radiopharmaceutical therapy // *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2019. Vol. 46, № 12. P. 2545–2557.
8. Gourni E., Henriksen G. Metal-Based PSMA Radioligands // *Molecules*. 2017. Vol. 22, № 4. P. 523.
9. Uspenskaya A.A. et al. The Importance of Linkers in the Structure of PSMA Ligands // *CMC*. 2022. Vol. 29, № 2. P. 268–298.
10. Baum R.P. et al. First-in-Humans Application of ¹⁶¹Tb: A Feasibility Study Using ¹⁶¹Tb-DOTATOC // *J Nucl Med*. 2021. Vol. 62, № 10. P. 1391–1397.

Основные результаты диссертации изложены в следующих публикациях:

Статьи в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus:

1. Алиев Р.А., Кормазева Е.С., Фуркина Е.Б., Моисеева А.Н., Загрядский В.А. Радиоизотопы рения – получение, свойства и направленная доставка с помощью наноструктур // *Российские нанотехнологии*. 2020. Т. 15. С. 428–436.
2. Furkina E.B., Moiseeva A.N., Aliev R.A., Zagryadskiy V.A., Makoveeva K.A., Novikov V.I., Unezhev V.N. Chromatographic separation of rhenium radioisotopes from

irradiated tungsten cyclotron target // Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. 2022. V. 331. P. 4563–4568.

3. Фуркина Е.Б., Курочкин А.В., Алиев Р.А., Загрядский В.А., Маламут Т.Ю., Новиков В.И., Унежев В.Н. Лабораторная установка для хроматографического выделения ^{186}Re без носителя из облученных мишеней из вольфрама // Приборы и техника эксперимента. 2023. № 3. С.117-120.

Патенты:

1. Патент N 2803641C1 Российская Федерация, МПК G21G 1/10 (2006.01). Способ получения радиоизотопа тербий-161 : N 2022134247 : заявл. 26.12.2022: опубликовано 19.09.2023 / Алиев Р.А., Загрядский В.А., Коневега А.Л., Курочкин А.В., Маковеева К.А., Моисеева А.Н., Фуркина Е.Б.

Тезисы докладов научных конференций:

1. Фуркина Е.Б. Выделение рения из облученных вольфрамовых мишеней // Конференция Ломоносов-2020: Сборник тезисов — 2020.

2. Фуркина Е.Б., Загрядский В.А., Алиев Р.А., Моисеева А.Н., Курочкин А.В., Кузнецова Т.М., Кравец Я.М. Получение ^{186}Re из облученной дейтронами вольфрамовой мишени// X Российская конференция с международным участием «Радиохимия»: Сборник тезисов — 2022.

3. Фуркина Е.Б., Моисеева А.Н., Петров С.А., Успенская А.А., Мачулкин А.Э. Комплексообразование тербия-161 с селективно направленным лигандом простатического специфического мембранного антигена // Конференция Ломоносов-2023: Сборник тезисов — 2023.

4. Фуркина Е.Б., Загрядский В.А., Алиев Р.А., Моисеева А.Н., Курочкин А.В., Кузнецова Т.М., Кравец Я.М. Получение рения-186 – перспективного радионуклида для ядерной медицины // XVII Курчатовская междисциплинарная молодежная научная школа: Сборник тезисов. — 2023.

5. Шпунтов Д.В., Красников П.А., Петров С.А., Зык Н.Ю., Успенская А.А., Фуркина Е.Б., Мачулкин А.Э. Комплексы тербия-161 с селективно направленными лигандами простатического специфического мембранного антигена // Конференция Ломоносов-2024: Сборник тезисов — 2024.

6. Шпунтов Д.В., Красников П.А., Петров С.А., Зык Н.Ю., Успенская А.А., Фуркина Е.Б., Мачулкин А.Э. Комплексы тербия-161 с селективно направленными лигандами простатического специфического мембранного антигена // 66-я Всероссийская научная конференция МФТИ: Сборник тезисов. — 2024.