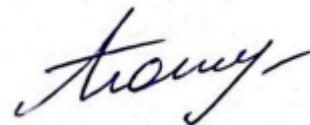


На правах рукописи



Моисеева Анжелика Николаевна

**НОВЫЕ МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ РАДИОНУКЛИДОВ
 ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb И ПЕПТИДОВ, МЕЧЕННЫХ ^{155}Tb**

1.4.1. – Неорганическая химия, 1.4.13 – Радиохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата химических наук

Москва

2022

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: **Дуфлот Владимир Робертович** – доктор химических наук, директор по инновационной деятельности акционерного общества «Ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский физико-химический институт имени Л.Я. Карпова», г. Обнинск;

Кузнецов Ростислав Александрович – кандидат химических наук, старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск.

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

Защита состоится 04 октября 2022 года в 15 ч. 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 «___» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 02.1.003.03,
кандидат физико-математических наук



Т.Е. Григорьев

Общая характеристика работы

Актуальность работы

Совершенствование методов ядерной медицины, развитие органической и неорганической химии, а также новые достижения молекулярной биологии требуют расширения круга радионуклидов, применяемых для диагностики и терапии. Перспективным подходом является тераностика – сочетание терапевтического и диагностического подхода в одном препарате. Это важно для того, чтобы радиотерапия приобрела персонализированный характер, и наносила минимальный ущерб здоровым органам и тканям. Для тераностики можно использовать препараты на основе радионуклидов, пригодных и для терапии, и для визуализации. Например, ^{149}Tb , при распаде испускает α -частицы, играющие роль поражающего фактора, и позитроны, обеспечивающие визуализацию методом позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ). В других случаях используют радионуклидные пары, в которых один радионуклид играет диагностическую, а второй – терапевтическую роль. Примером может служить диагностический ^{152}Tb (β^+) для ПЭТ или ^{155}Tb (мягкие γ -линии) для однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) в совокупности с ^{161}Tb (β^-) для терапии. По такому принципу уже активно используется пара радионуклидов ^{124}I (β^+) и ^{131}I (β^-).

Также велика потребность в новых радионуклидах для ПЭТ. Предложенный в 70-х годах прошлого столетия, данный подход позволяет получать изображения с лучшим контрастом и разрешением, чем методы ОФЭКТ и сцинтилляционной камеры. Именно благодаря ПЭТ можно произвести визуализацию всего тела, определить местонахождение мельчайших метастазов, а также очертить положение крупных опухолей. Самый распространенный радиофармпрепарат (РФП), направленный на применение в ПЭТ, ^{18}F -ФДГ имеет ряд недостатков. Во-первых, ФДГ - аналог глюкозы, вследствие чего создаёт повышенную дозовую нагрузку на те органы, которые в норме физиологически поглощают глюкозу (например, головной мозг, миокард, желудок и печень). По той же причине введение этого препарата запрещено беременным и кормящим женщинам. Во-вторых, радионуклид ^{18}F имеет очень короткий период полураспада (109,77 мин), и его поставки возможны только в места, находящиеся в непосредственной близости от циклотрона. Кроме того, этот радионуклид не пригоден для использования в виде РФП, медленно накапливающихся в опухоли, в первую очередь – антител. Также, химия неметаллов предполагает создание соединений на основе ковалентных связей, которые, безусловно, очень устойчивы, однако требуют значительно больше времени и усилий при производстве, чем синтез

комплексных соединений с металлами. Для решения данных проблем могли бы подойти радионуклиды металлов, в частности $^{149,152}\text{Tb}$.

Наконец, важным фактором является локальность воздействия излучения при терапии. При исследовании терапевтических свойств β^- -эмиттеров эффект оказался не таким значительным, как ожидалось. Было сделано предположение, что это связано со слишком большим пробегом β^- -частиц в биологической ткани – до 12 мм, а значит, линейная передача энергии (ЛПЭ) слишком низкая для поражения конкретных клеток, к которым такие радионуклиды направляются. Однако, исходя из теоретических данных, было рассчитано, что α -эмиттеры примерно на два порядка эффективнее способны убивать клетки. Например, у ^{149}Tb ЛПЭ составляет 140 кэВ/мкм, а сам пробег всего 26 мкм. И это влияет не только на то, что лечение проходит эффективнее, но и на то, что здоровые клетки в окружении пострадают значительно меньше. Таким образом, большее внимание обращено к радионуклидам, пробег испускаемых частиц которых меньше, а линейная передача энергии – больше (рис. 1).

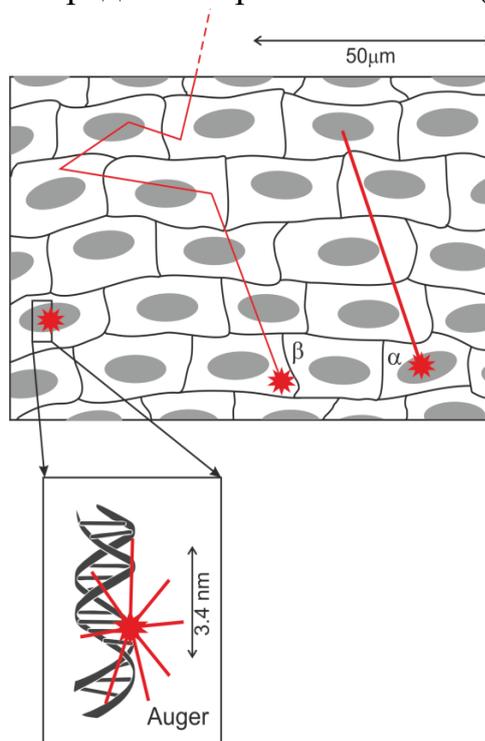


Рисунок 1 — Пробег частиц в биологической ткани

Радионуклиды тербия отвечают всем потребностям современной ядерной медицины. Радионуклид ^{149}Tb проявляет тераностические свойства благодаря своим ядерным данным (Таблица 1). ^{152}Tb хорошо зарекомендовал себя в визуализации с использованием ПЭТ, и уже прошел доклинические испытания. ^{155}Tb имеет мягкие γ -линии, идентичные $^{99\text{m}}\text{Tc}$, что позволяет применять его в ОФЭКТ, а высокая вероятность испускания Оже-электронов может впоследствии привести к применению данного радионуклида и в терапии. ^{161}Tb является ближайшим аналогом наиболее популярного терапевтического бета-

излучателя ^{177}Lu по своим ядерным свойствам, однако более эффективен из-за дополнительного воздействия Оже-электронов. Эффективность всех вышеописанных радионуклидов в медицине была доказана ранее в опытах на животных, однако их производство связано с серьезными трудностями.

Таблица 1. Ядерные данные радионуклидов тербия

Радионуклид	$T_{1/2}$	Тип распада (%)	Основные γ -линии		Применение
			Энергия, кэВ	Выход, %	
^{149}Tb	4,12 ч	α (16,7) β^+ (4,3) $\Xi\Xi$ (79)	352,24	29,43	Таргетная α -терапия, ПЭТ
^{152}Tb	17,5 ч	$\Xi\Xi$ (82) β^+ (18)	344,28	65	ПЭТ
^{155}Tb	5,32 сут	$\Xi\Xi$ (100)	86,54	32	ОФЭКТ
			105,3	25	
^{161}Tb	6,88 сут	β^- (100)	25,65	23,2	Радиотерапия
			74,56	10,2	

Таким образом, **целью** данного исследования являлась разработка новых эффективных методов получения медицинских радионуклидов ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb .

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

- 1) выбор ядерных реакций для получения α -эмиттера ^{149}Tb , β^+ -эмиттера ^{152}Tb и оже/ γ -эмиттера ^{155}Tb ;
- 2) экспериментальное исследование функций возбуждения реакций $^{151}\text{Eu}(\alpha, xn)^{155-x}\text{Tb}$, $^{151}\text{Eu}({}^3\text{He}, xn)^{154-x}\text{Tb}$, $^{\text{nat}}\text{Gd}(\alpha, x)$. Подбор на их основе оптимальных условий облучения мишеней, чтобы получить наибольшую активность целевого продукта при наименьшем содержании радионуклидных примесей;
- 3) разработка радиохимических методик выделения радионуклидов тербия из облученных мишеней без носителя;

4) исследование комплексообразования радионуклидов тербия на примере ^{155}Tb с биомолекулой – средством доставки – конъюгатом функциональной части соматостатина с лигандом DOTA (1,4,7,10-тетраазациклододекан-N,N',N'',N'''-тетрауксусная кислота), и исследование устойчивости данного комплекса *in vitro*.

Научная новизна:

- Получены сечения реакций образования $^{149,150,151,152}\text{Tb}$ посредством облучения обогащённой мишени ^{151}Eu ^3He -частицами с энергией от 70 МэВ до 20 МэВ;
- получены сечения реакций образования $^{149,150,151,152,153}\text{Tb}$ посредством облучения обогащённой мишени ^{151}Eu α -частицами с энергией от 60 МэВ до 19 МэВ;
- получены сечения реакций образования $^{155,157}\text{Dy}$ и $^{153,154,154m,154m2,155,156}\text{Tb}$ посредством облучения природной мишени $^{\text{nat}}\text{Gd}$ α -частицами с энергией от 60 МэВ до 20 МэВ;
- создана методика двухстадийного выделения ^{155}Tb из оксида гадолиния природного изотопного состава через промежуточное образование ^{155}Dy с помощью колоночной хроматографии на сорбенте LN, обеспечивающая высокую радионуклидную чистоту ^{155}Tb ;
- проведено исследование комплексообразования конъюгата функциональной части соматостатина с лигандом DOTA с радионуклидом ^{155}Tb .

Теоретическая и практическая значимость работы

Данные по облучению европиевых и гадолиниевых мишеней с образованием ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb могут быть применены для оптимизации условий производства указанных радионуклидов. Также приведенные результаты дополняют литературные данные о фундаментальных основах процессов получения радионуклидов с помощью ускорителей.

Предложенные пути получения радионуклидов ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb позволяют сделать их значительно более доступными. Это приведет к новым радиофармпрепаратам для персонализированной медицины, превосходящим по своим возможностям аналоги на основе ^{177}Lu и других бета-излучателей.

Результаты исследования комплексообразования радионуклида ^{155}Tb с конъюгатом DOTA-тетрапептид открывают путь к их дальнейшим исследованиям *in vivo*, а также позволяют синтезировать другие аналогичные радиофармацевтические препараты ($^{149, 152, 155}\text{Tb}$ -DOTA-TATE).

Методология диссертационного исследования

В рамках данной работы были использованы следующие методы и подходы:

Разработанные радиохимические методики могут быть масштабированы для промышленного производства радионуклидов тербия. **Личный вклад автора** состоит в следующих пунктах:

- Проведение критического обзора литературных данных;
- изготовление гадолиниевых мишеней;
- сборка мишенных конструкций для облучения на циклотроне;
- обработка спектров, полученных при α - и γ -спектрометрии;
- расчёт сечений образования и выходов радионуклидов;
- радиохимическая переработка облученных мишеней;
- исследование комплексообразования конъюгата DOTA-тетрапептид с радионуклидом ^{155}Tb ;
- проведение экспериментов по определению стабильности комплекса *in vitro* с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ);
- подготовка публикаций по выполненной работе.

Степень достоверности и апробация результатов:

Достоверность данных экспериментов обеспечена использованием современных методов исследования и стандартных образцов. Все эксперименты проводили несколько раз. Для анализа данных использовали современные методы статистической обработки. Полученные в работе результаты соответствуют результатам моделирования с помощью широко применяемых программных продуктов и подтверждаются современными исследованиями в данной тематике.

Результаты работы были представлены в виде устных докладов на конференциях: Обнинск, Россия; IV Международная научно-практическая конференция «Радиофарма-2021», Переславль-Залесский, Россия; VIII Всероссийский с международным участием Молодежный научный форум «Open Science» (2021), Гатчина, Россия, Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2019», «Ломоносов-2020», Москва, Россия; II Международный научно-технический семинар «Производство альфа-эмиттеров и перспективы создания РФЛП на их основе» (2019).

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 4 статьи в международных журналах, индексируемых международными базами Web of Science, Scopus, и 5 тезисов докладов.

Положения, выносимые на защиту:

- 1) получение короткоживущего α -эмиттера ^{149}Tb путём облучения мишеней, содержащих обогащенный изотоп ^{151}Eu , ^3He -частицами. Процесс его выделения из материала мишени посредством экстракционной хроматографии на сорбенте LN занимает не более одного периода полураспада;
- 2) получение β^+ -эмиттера ^{152}Tb облучением мишеней, содержащих обогащенный изотоп ^{151}Eu , α -частицами. Радионуклидная чистота может быть повышена путём уменьшения энергетического диапазона α -частиц до промежутка 42-34 МэВ;
- 3) получение оже/ γ -эмиттера ^{155}Tb с высокой радионуклидной чистотой при облучении гадолиниевых мишеней α -частицами средней энергии через промежуточное образование ^{155}Dy ;
- 4) выделение целевых радионуклидов из мишеней при помощи колоночной хроматографии с использованием смолы LN Resin с высоким коэффициентом разделения;
- 5) комплексообразование конъюгата функциональной части соматостатина с лигандом DOTA с радионуклидом ^{155}Tb приводит к образованию стабильного комплекса, пригодного для дальнейшего исследования в качестве кандидата на роль РФП.

Структура и объем диссертации

Диссертация выполнена на 162 листах печатного текста и состоит из:

- введения;
- обзора литературных данных;
- описания материалов и методов исследования;
- результатов и их обсуждения;
- выводов;
- списка цитируемой литературы.

Список цитируемой литературы включает 118 источников. Работа содержит 77 рисунков и 13 таблиц.

Основные результаты работы

Во введении кратко обоснованы актуальность работы, сформулированы цель и задачи, а также новизна и практическая значимость работы. Обзор литературы состоит из четырех подразделов. В первом подразделе представлен

краткий экскурс в историю развития ядерной медицины; во втором рассмотрены свойства и получение радионуклидов тербия; в третьем – методы выделения радионуклидов тербия из мишеней; в четвертом применение тербия в биологии и медицине. В экспериментальной части описаны материалы и методы исследования, методики проведения всех экспериментов. Описана методика определения радионуклидного состава облученных мишеней. Представлены схемы переработки облученных европиевых и гадолиниевых мишеней. Показана структура исследуемого лиганда, синтезированного в НИЦ «Курчатовский институт» – ИРЕА (рук. Хачатрян Д.С.), описана методика комплексообразования и методы исследования стабильности полученного комплекса. В следующем разделе представлены результаты и их обсуждение.

Исследование возможности получения ^{149}Tb облучением ^{151}Eu ядрами гелия-3

Стопку фольг, включающей мишени $^{151}\text{Eu}_2\text{O}_3$ толщиной до 200 мкг/см^2 , нанесенные на титановые фольги, алюминиевые поглотители толщиной до 100 мкм и фольги-мониторы из алюминия и меди, облучали ^3He -частицами с энергией до 70 МэВ и током до 1 мкА . Ток и энергия налетающих частиц контролировались с помощью мониторинговых реакций, протекающих на алюминии, титане и меди. Мишени ^{151}Eu разбирали поштучно и измеряли каждую мишень γ - и α -спектрометрически. В γ -спектрах облученных мишеней были обнаружены радионуклиды $^{149,150,151,152}\text{Tb}$ и $^{147,149}\text{Gd}$. В α -спектре идентифицировали два пика, соответствующих ^{151}Tb и ^{149}Tb .

По рассчитанной активности радионуклидов тербия были определены сечения реакций $^{151}\text{Eu}(^3\text{He},xn)^{154-x}\text{Tb}$ (рис. 2).

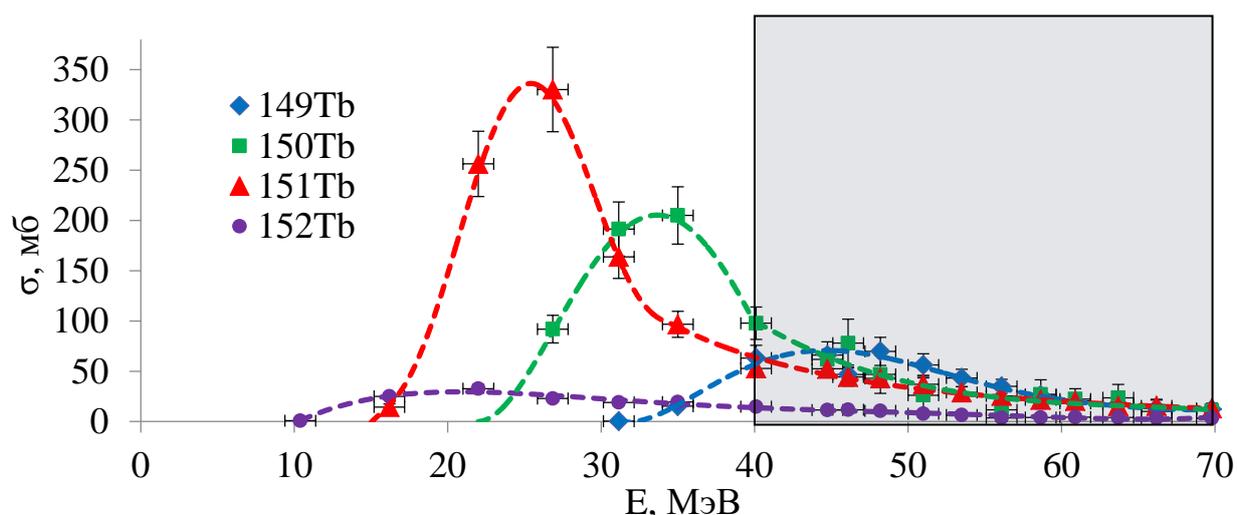


Рисунок 2 — Функции возбуждения реакций $^{151}\text{Eu}(^3\text{He},xn)^{154-x}\text{Tb}$. Прямоугольником выделена область, оптимальная для производства ^{149}Tb

На рис. 2 представлены сечения образования $^{149,150,151,152}\text{Tb}$. Функция возбуждения $^{151}\text{Eu}(^3\text{He},5n)^{149\text{g}}\text{Tb}$ достигает 70 мб. Таким образом, за облучение в течение 8 ч с током 20 мкА можно получить 3,4 ГБк ^{149}Tb . По оценкам эффективности α -эмиттеров, этого достаточно для нескольких терапевтических доз. Одновременно образуются радионуклиды $^{150,151}\text{Tb}$. Их образование более вероятно, а максимальные значения сечений реакций $^{151}\text{Eu}(^3\text{He},4n)^{150\text{g}}\text{Tb}$ и $^{151}\text{Eu}(^3\text{He},3n)^{151}\text{Tb}$ составляют 200 мб и 330 мб соответственно. Также был обнаружен радионуклид ^{152}Tb , перспективный для диагностических целей в медицине. Однако его количество в данной реакции является недостаточным для медицинского применения, а в условиях значительного преобладания образования ^{151}Tb данный метод не может использоваться для рутинного производства ^{152}Tb .

Таким образом, предлагаемый способ наработки $^{149\text{g}}\text{Tb}$ не позволяет получить продукт, свободный от радионуклидных примесей ^{150}Tb и ^{151}Tb . Однако обе эти примеси имеют относительно короткий период полураспада. Кроме того, основная примесь – ^{150}Tb – испускает позитроны, а также конверсионные и Оже-электроны. Вследствие чего можно сделать вывод, что примесь ^{150}Tb не должна создавать дополнительные трудности при медицинском использовании ^{149}Tb . Частично проблема радионуклидных примесей может быть решена путем выбора подходящего диапазона энергий налетающих частиц. Как видно из рис. 2, максимумы функций возбуждения значительно удалены друг от друга. Изменяя нижний предел энергии падающих частиц, можно уменьшить количество примесей. Тем не менее, следует помнить, что при этом также снижается выход целевого радионуклида (рис. 3). Предлагается использовать диапазон 70 → 40 МэВ как разумный компромисс между количеством и чистотой продукта. Данный диапазон задается выделенной областью на рис. 2, для большей наглядности используемых диапазонов функций возбуждения. При облучении европиевой мишени, обогащенной по изотопу ^{151}Eu , в заданном энергетическом диапазоне, активность целевого продукта ^{149}Tb через восемь часов составит 150 МБк/мкА, что всего на 10 % меньше максимально возможного. При этом содержание примесей снижается более чем в два раза по сравнению с диапазоном 70 → 30 МэВ.

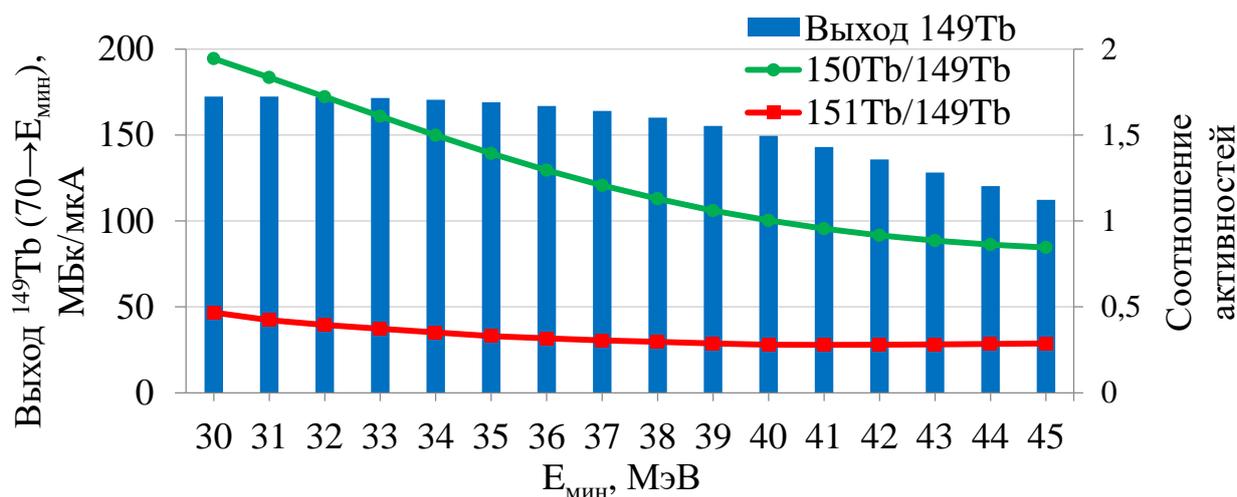


Рисунок 3 — Рассчитанный выход ^{149}Tb и доля радионуклидных примесей при облучении мишени из металлического ^{151}Eu в течение 8 ч

Таким образом, использование реакции $^{151}\text{Eu}(^3\text{He},5n)^{149}\text{Tb}$ является эффективным решением проблем, связанных с получением многообещающего радионуклида ^{149}Tb . В проведенной работе использовались пучки малой интенсивности, однако значения до 20 мкА могут быть достигнуты на изохронном циклотроне У-150 Курчатовского института. Это означает, что при восьмичасовом облучении можно получить до 3 ГБк целевого радионуклида, что достаточно не только для доклинических и клинических исследований, но и для дальнейшего использования в терапии онкологических заболеваний.

Исследование возможности получения ^{152}Tb облучением ^{151}Eu α -частицами

Стопка фольг, содержащая мишени из оксида европия, обогащенного по изотопу ^{151}Eu , толщиной до 200 мкг/см^2 , нанесенный на титановую фольгу, алюминиевые поглотители толщиной до 50 мкм и фольги-мониторы из алюминия и меди, облучали α -частицами с энергией до 60 МэВ и током до 1 мкА. Ток и энергия налетающих частиц контролировались с помощью мониторинговых реакций, протекающих на алюминии, титане и меди. Активность радионуклидов измеряли γ - и α -спектрометрически. В γ -спектрах облученных мишеней были обнаружены радионуклиды $^{149}, ^{150}, ^{151}, ^{152}, ^{153}\text{Tb}$. В α -спектре идентифицировали два пика, соответствующих ^{151}Tb и ^{149}Tb .

По измеренной активности радионуклидов тербия были рассчитаны сечения реакций $^{151}\text{Eu}(\alpha, xn)^{155-x}\text{Tb}$ (рис. 4).

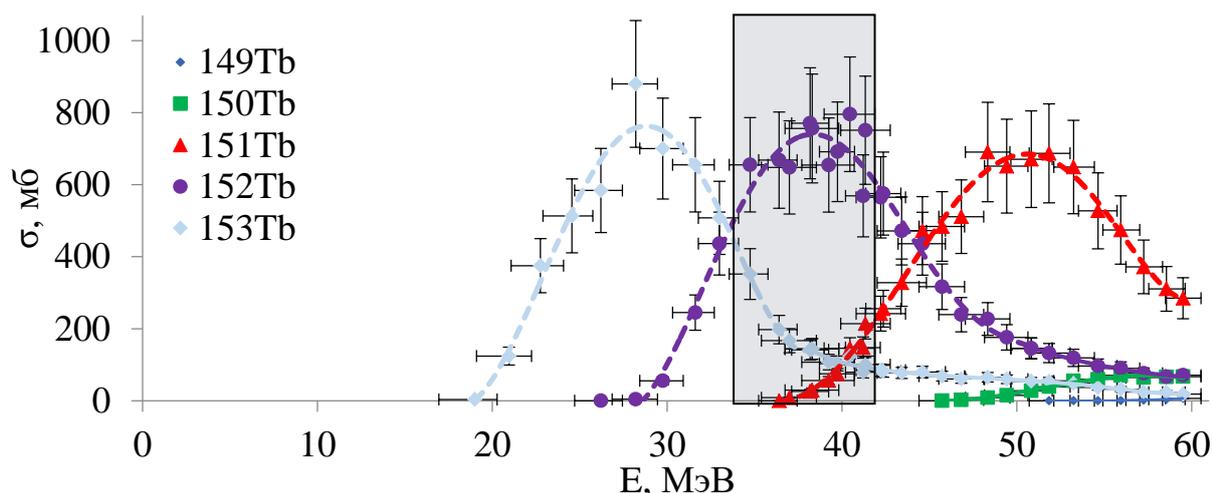


Рисунок 4 — Функции возбуждения реакций $^{151}\text{Eu}(\alpha, xn)^{155-x}\text{Tb}$. Прямоугольником выделена область, оптимальная для производства ^{152}Tb

По рис. 4 видно, что при облучении α -частицами мишени, обогащенной по ^{151}Eu , преимущественно образуются радионуклиды $^{151,152,153}\text{Tb}$. максимальное значение сечения реакции $^{151}\text{Eu}(\alpha, 3n)^{152}\text{Tb} \sim 800$ мб, что позволяет производить до 8 ГБк при 8-часовом облучении с током 20 мкА. Тем не менее, образование соседних радионуклидов $^{151,153}\text{Tb}$, имеющих соизмеримые с ^{152}Tb периоды полураспада, также существенно, в связи с чем невозможно избежать их одновременного образования. Минимизировать количество примесей можно, подобрав оптимальный диапазон энергий налетающих частиц. При этом увеличение чистоты достигается за счет уменьшения выхода на треть (рис. 5).

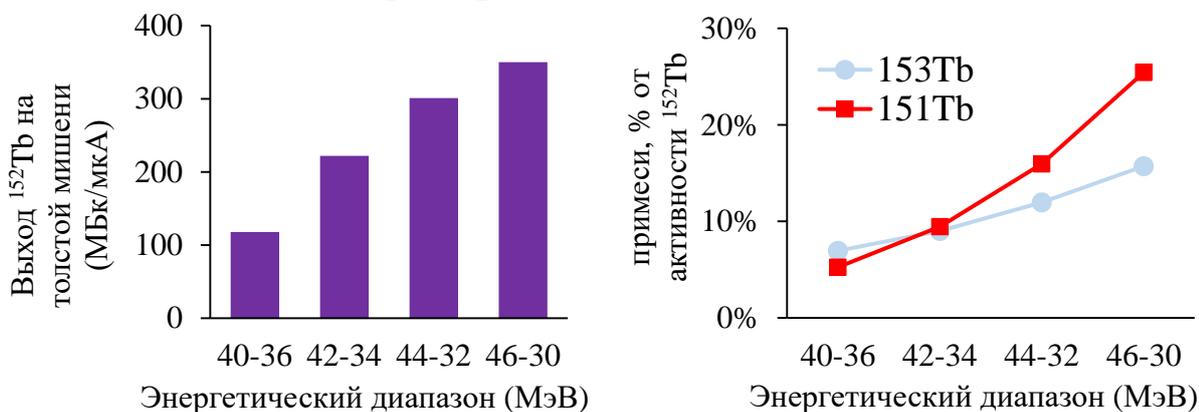


Рисунок 5 — Влияние энергетического диапазона α -частиц на выход и радионуклидную чистоту ^{152}Tb

Наиболее оптимальным энергетическим диапазоном для облучения является $42 \rightarrow 34$ МэВ, при котором выход ^{152}Tb на толстой мишени составит 222 МБк/мкА при 8-часовом облучении. Этот же диапазон обозначен на рис. 4 выделенной областью, для большей наглядности используемых диапазонов функций возбуждения. При этом суммарное содержание примесей составит не более 20 %.

Выделение ^{149}Tb из облучённой 63 МэВ α -частицами европиевой мишени

Помимо облучения ультратонких мишеней из оксида европия, обогащенного по изотопу ^{151}Eu , толщиной 100-200 мкг/см², было проведено облучение более толстой мишени из оксида европия природного изотопного состава, толщина которой 8,50 мг/см². Данное облучение было проведено для отработки радиохимического выделения наработанного тербия из облученной европиевой мишени. Облучением мишени из $^{\text{nat}}\text{Eu}_2\text{O}_3$, ядрами ^4He с энергией 63 МэВ получена смесь радионуклидов тербия, включающая важный для ядерной медицины радионуклид ^{149}Tb . Так как данный метод разделения был описан ранее [1], основной целью текущего исследования являлась демонстрация практической возможности оперативного выделения радионуклидов тербия из облученной $^{\text{nat}}\text{Eu}_2\text{O}_3$ мишени в срок, не превышающий 1 период полураспада ^{149}Tb . Мишень, снятая с циклотронной установки, не могла быть измерена α -спектрометрически, в связи со слишком большой толщиной мишени (11,5 мкм), и как следствие, самопоглощением α -частиц (рис. 6).

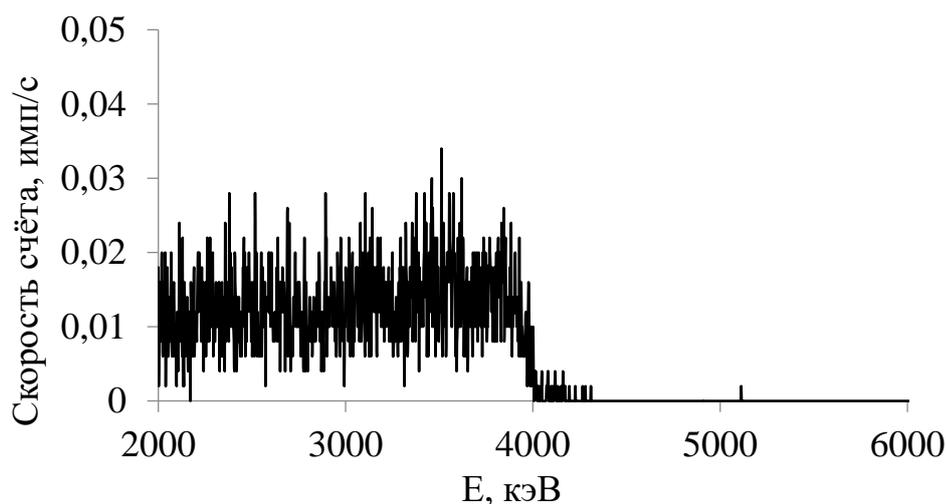


Рисунок 6 — Спектр α -излучения мишени из $^{\text{nat}}\text{Eu}_2\text{O}_3$, облученной 63 МэВ α -частицами, полученный через 1,5 часа после завершения облучения, время измерения 500 с

На приведенном α -спектре видны сигналы от α -частиц тербия в энергетическом диапазоне до 4 МэВ, что как раз соответствует энергии пика радионуклида ^{149}Tb (3,967 МэВ), но поскольку данный радионуклид распределен в объеме, спектр получается непрерывным. Таким образом, было принято решение о выделении целевого радионуклида из облученной мишени по методу, описанному в работе [1]. После радиохимического разделения тербий в микроколичествах сосаждали на фильтре с микроколичеством трифторида лантана для повторного α -спектрометрического анализа и идентификации медицинского радионуклида (рис. 7).

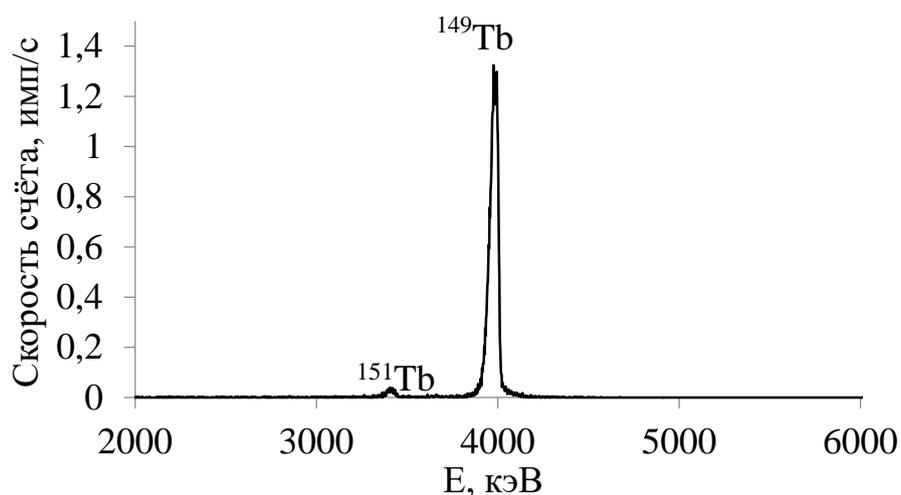


Рисунок 7 — Спектр α -излучения выделенного препарата радионуклидов тербия через 8 часов после завершения облучения, время измерения 500 с

Как видно из рис. 7, полученный образец обладает толщиной, достаточной для определения α -излучения ^{149}Tb . Помимо пика данного радионуклида, на спектре был также обнаружен пик ^{151}Tb . Анализ спектра γ -излучения не показал присутствие примесей в виде гадолиния и тербия. С учётом всех процедур, включая охлаждение мишени, её растворение, разделение и приготовление конечного сухого образца тербия, работа по очистке заняла не более 5 ч. При автоматизации процесса, а также без осаждения конечного раствора тербия на фильтр, работа по очистке может занять не более 2 ч, что подходит для выделения целевого радионуклида.

Получение ^{155}Tb облучением гадолиния природного изотопного состава α -частицами

Стопку тонких мишеней из оксида гадолиния природного изотопного состава толщиной 8-12 мкм, нанесенного на алюминиевую подложку, облучали α -частицами с энергией до 60 МэВ. При анализе γ -спектров облучённых мишеней были обнаружены пики, соответствующие ^{159}Gd , $^{153,154,154m,154m2,155,156}\text{Tb}$ и $^{155,157}\text{Dy}$. Сечения реакций, приводящих к образованию указанных радионуклидов, приведены на рис. 8-10.

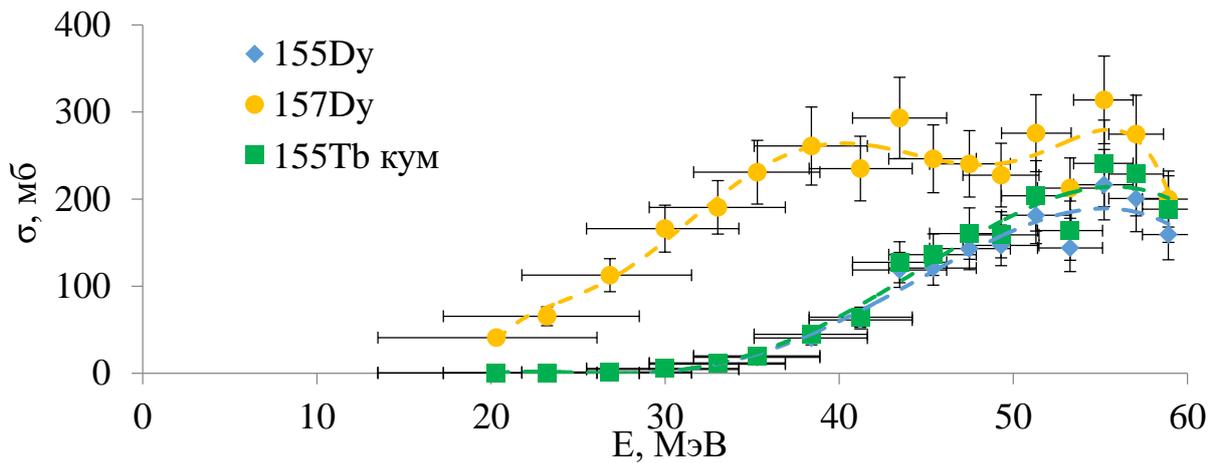


Рисунок 8 — Функции возбуждения реакций $^{nat}\text{Gd}(\alpha, xn)^{155,157}\text{Dy}$ и кумулятивное сечение образования ^{155}Tb

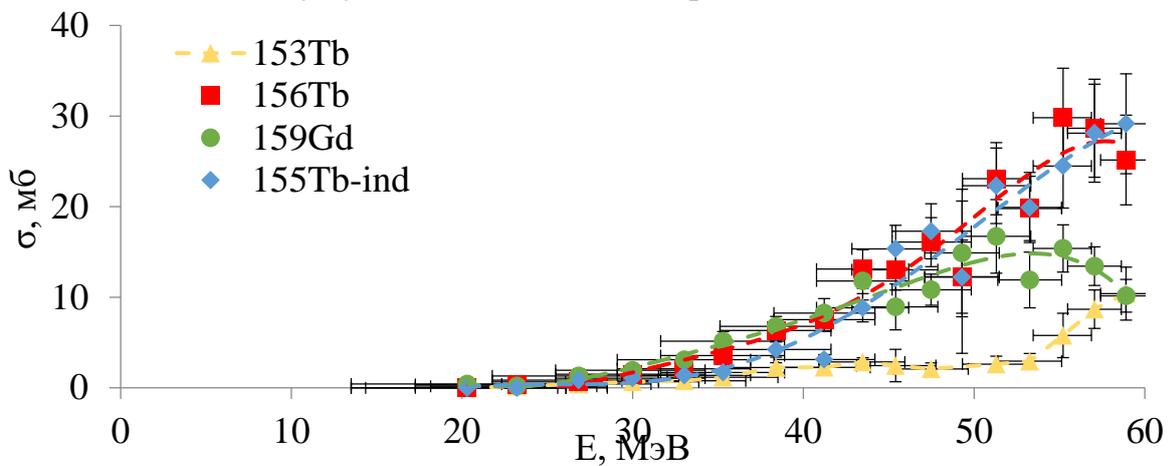


Рисунок 9 — Функции возбуждения реакций $^{nat}\text{Gd}(\alpha, pxn)^{153,155,156}\text{Tb}$ и сечение реакции образования ^{159}Gd

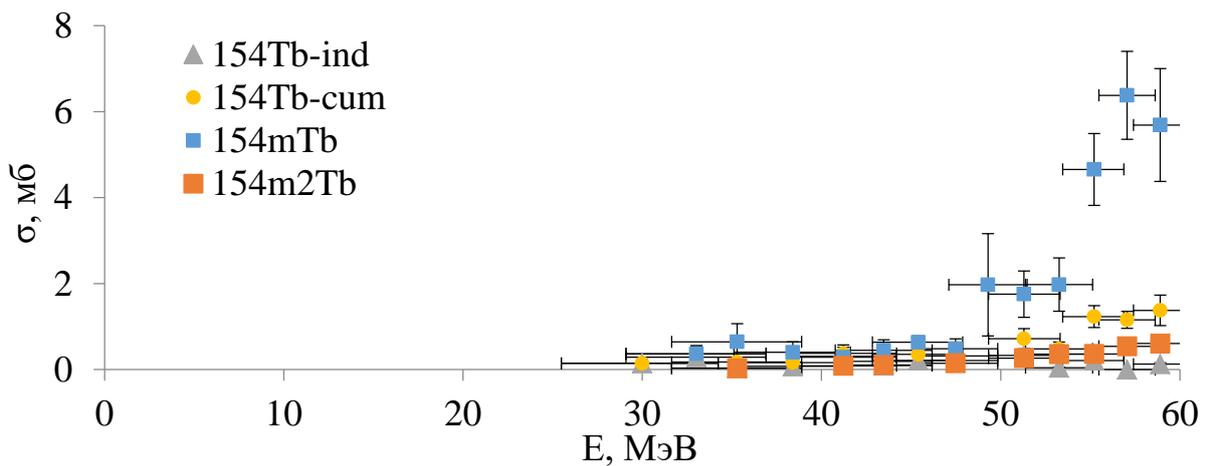


Рисунок 10 — сечение реакции образования основного и метастабильных состояний ^{154}Tb

Как видно из рисунков 8-10, с наибольшей вероятностью образуются радионуклиды диспрозия-155,157. Это связано с тем, что реакции образования данных радионуклидов протекают с испусканием исключительно нейтронов.

Для образования других радионуклидов в прямой ядерной реакции необходимо дополнительное испускание протонов, что является менее вероятным событием. Таким образом, было сделано предположение о возможности использования данного метода в качестве получения чистого радионуклида ^{155}Tb , через образование промежуточного продукта ^{155}Dy , являющегося материнским радионуклидом и имеющим период полураспада, равный 9,9 ч. Однако было замечено, что, помимо ^{155}Tb , по аналогичному пути происходит наработка ^{153}Tb . На основании расчетов, его количество не превысит 6 % в конечном растворе целевого радионуклида.

Кумулятивный выход ^{155}Tb растет с ростом энергии пучка α -частиц во всем исследованном диапазоне энергий. При этом доля основной радионуклидной примеси – ^{153}Tb , образующегося из ^{155}Dy , также растет. Однако эта доля невелика (около 5% по активности) и с течением времени уменьшается из-за более короткого периода полураспада ^{153}Tb в сравнении с ^{155}Tb . В таблице 2 приведен выход ^{155}Tb , который может быть достигнут в различных условиях проведения облучения и переработки. Величины рассчитаны для 40 ч после окончания облучения, то есть того времени, когда активность ^{155}Tb имеет максимальное значение (Рис. 11).

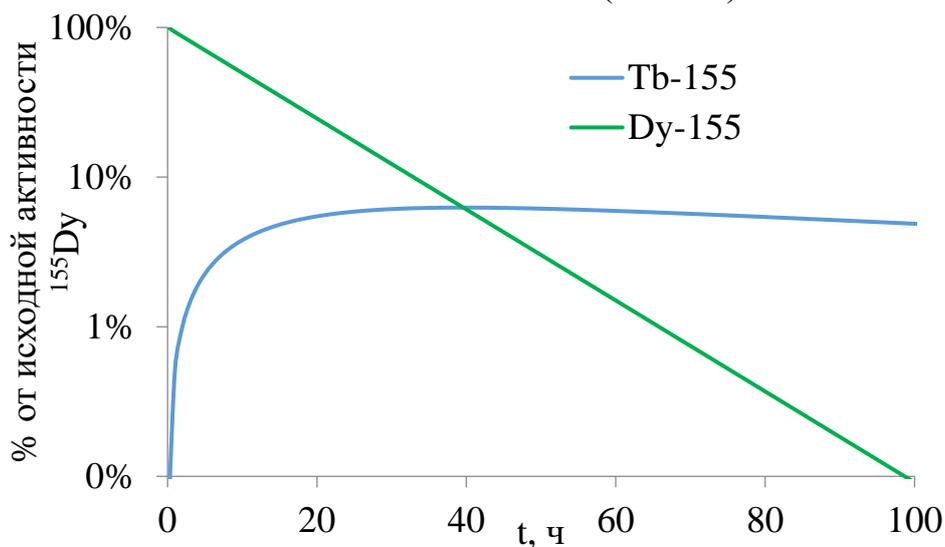


Рисунок 11 — Распад ^{155}Dy и накопление ^{155}Tb

Как видно из таблицы 2, использование косвенного пути получения позволяет избежать примеси ^{156}Tb (до 12% по активности). Присутствие этого радионуклида нежелательно, так как он имеет период полураспада, соизмеримый с ^{155}Tb , и в то же время испускает жесткое γ -излучение.

Таблица 2. Анализ оптимальной процедуры производства ^{155}Tb

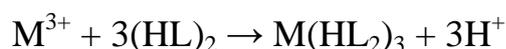
Путь получения	Интегральный выход ^{155}Tb (40 ч после ЕОВ), МБк/(мкА·ч)	Примеси
60 МэВ, с выделением Dy	1,98	$^{153}\text{Tb} < 5,4 \%$
60 МэВ	2,48	^{153}Tb 4,5%, ^{154g}Tb 0,7%, ^{154m}Tb 1,2%, $^{154m2}\text{Tb}$ 0,3%, ^{156}Tb 12%

Еще одной неизбежной примесью является ^{157}Tb ($T_{1/2} = 71$ а), который образуется через промежуточное образование ^{157}Dy . Активность этого радионуклида крайне невелика, и не будет вносить заметного вклада в дозовую нагрузку при медицинском применении полученного предлагаемым методом ^{155}Tb . В то же время, примесь, выраженная в количестве ядер, составляет ~ 280 % от целевого радионуклида при 60 МэВ. Это может несколько снижать удельную активность, и как следствие, эффективность комплексообразования биоконъюгатов. С ростом энергии пучка относительное содержание ^{157}Tb падает.

Увеличить радионуклидную чистоту возможно, используя в качестве материала мишени изотопно-обогащенный гадолиний, в частности ^{155}Gd . В этом случае ожидается максимум функции возбуждения реакции $^{155}\text{Gd}(\alpha,4n)^{155}\text{Dy} \rightarrow ^{155}\text{Tb}$ при энергии α -частиц 45 МэВ. Для ответа на этот вопрос необходимы дальнейшие исследования функций возбуждения реакций на отдельных изотопах гадолиния.

Выделение ^{155}Tb из предварительно очищенной диспрозиевой фракции

Gd, Tb и Dy могут быть эффективно разделены в азотнокислой среде на сорбенте на основе Д2ЭГФК [1,2]. Этот материал давно и эффективно используется для препаративного разделения РЗЭ. Являясь жестким основанием, Д2ЭГФК образует устойчивые комплексы с жесткими катионами, такими как РЗЭ. Предполагается, что ионный обмен описывается следующим уравнением:



Уравнение отражает тот факт, что реагент образует устойчивые димеры за счет водородных связей. Устойчивость комплексов растет в ряду La – Lu по мере уменьшения радиуса катиона из-за лантанидного сжатия. Коэффициенты удерживания (k') РЗЭ на сорбенте LN были подробно исследованы в работе [3].

Условия разделения, представленные в настоящей работе, были подобраны на основании данных, взятых из работы [3].

На первом этапе основной задачей было отделение основной массы материала мишени – гадолиния. Как было показано в работах [4], масса макрокомпонента значительно влияет на эффективность экстракционно-хроматографического разделения редкоземельных элементов, поэтому были проведены эксперименты с различными массами гадолиния. На рис. 12 приведены профили элюирования для различной массы макрокомпонента.

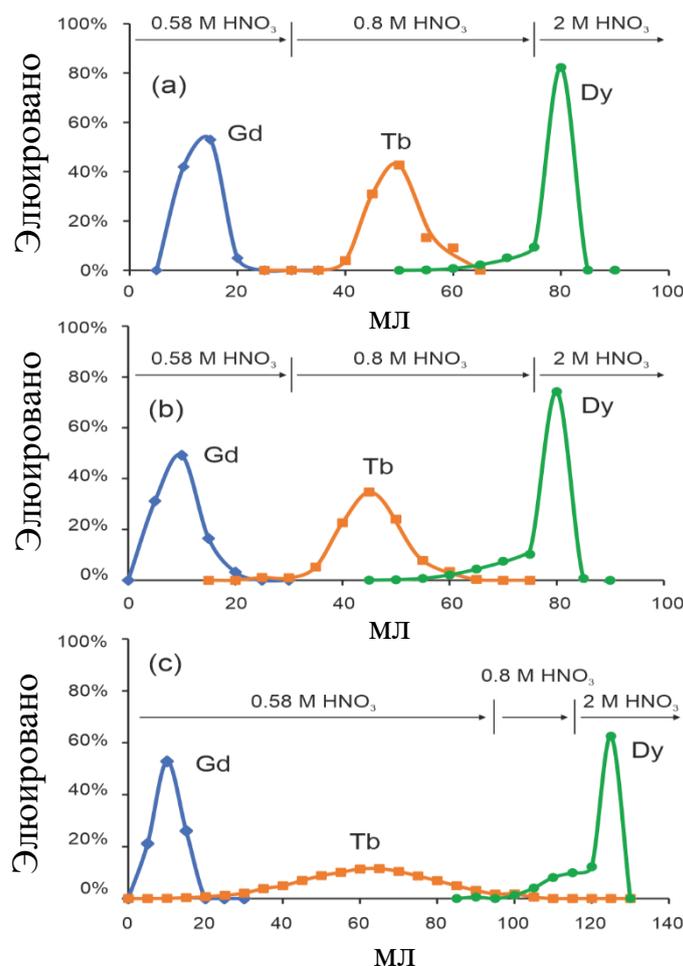


Рисунок 12 — Профили элюирования Gd – Tb – Dy на смоле Ln Resin в азотнокислой среде для загрузки (а) 2 мг/г, (б) 20 мг/г, (с) 40 мг/г

Радиохимический выход диспрозия при загрузках 2 и 20 мг/г составляет 97 ± 2 %. Радионуклидов Gd и Tb в диспрозиевой фракции обнаружено не было. Для содержания тербия в диспрозиевой фракции была получена верхняя оценка $< 0,1$ % от исходного количества.

Видно, что разделение происходит эффективно при загрузке 2 и 20 мг/г, однако при загрузке колонки 40 мг гадолиния наблюдается значительное изменение поведения тербия и диспрозия на колонке. Тербий выходит уже при 0.58 М HNO₃, а диспрозий не удерживается сорбентом при концентрации

азотной кислоты 0.8 М. Поэтому схема элюирования в этом случае была несколько изменена. При показанной на рис. 12с схеме разделения выход диспрозия уменьшился до 93 ± 2 % при той же степени очистки от тербия.

Через сутки из диспрозиевой фракции был выделен накопившийся при распаде ^{155}Dy радионуклид ^{155}Tb . На рис. 13 показан профиль элюирования ^{155}Tb , накопившегося при распаде ^{155}Dy .

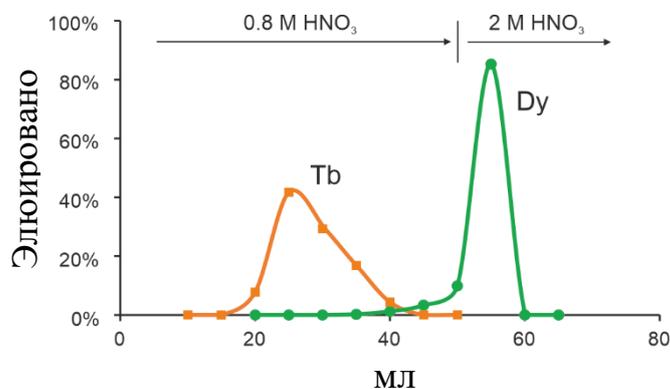


Рисунок 13 — Выделение ^{155}Tb , накопившегося в объединенной фракции диспрозия

На рис. 14 приведены спектры γ -излучения облучённой мишени и тербиевых фракций, выделенных в результате первой и второй стадии хроматографии. Как видно, промежуточное выделение ^{155}Dy значительно уменьшает количество радионуклидных примесей, в первую очередь, ^{156}Tb . Процедура занимает около 1.5 ч, что позволяет выделить до ~ 90 % целевого радионуклида от максимально возможной активности.

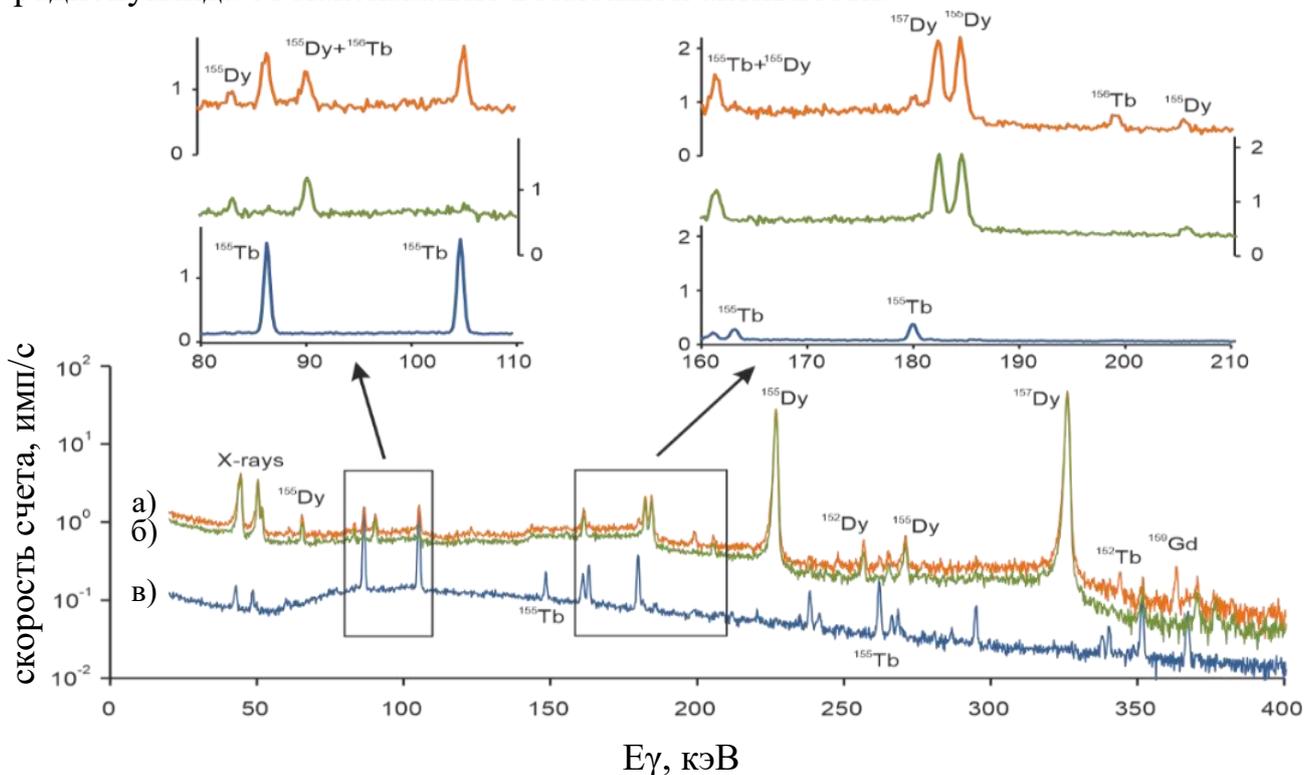


Рисунок 14 — Фрагменты γ -спектров а) образца облученной мишени (энергия α -частиц 49,3 МэВ); б) диспрозиевой фракции; и в) препарата ^{155}Tb .
 Время измерения ~ 400 с, 700 с и 3600 с, соответственно. Спектр образца облученной мишени и диспрозиевой фракции получен через 6 ч после ЕОВ, спектр препарата ^{155}Tb через 2 суток после ЕОВ

Комплексообразование радионуклида ^{155}Tb с конъюгатом DOTA-Phe-D-Trp-Lys-Thr-OMe

Макроциклический хелатор DOTA медленно реагирует с ионами металлов, поэтому для ускорения связывания раствор нагревали до 90°C . Величину pH поддерживали в области 7,5 – 8, исходя из результатов предыдущих исследований [5]. Кинетический эксперимент показал, что в этих условиях в течение часа достигается требуемая глубина протекания реакция (рис. 15).

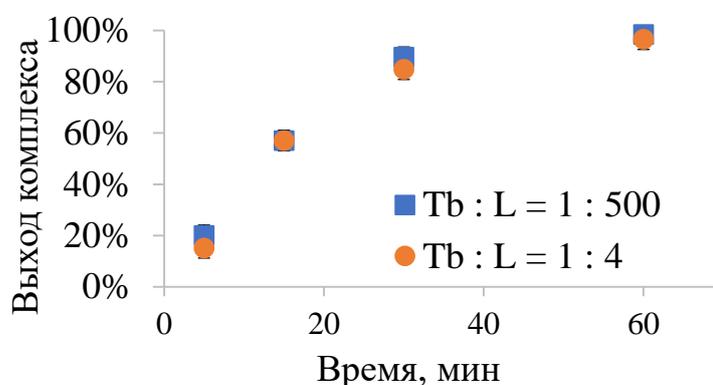


Рисунок 15 — Зависимость выхода комплекса DOTA-Phe-D-Trp-Lys-Thr-OMe с Tb от времени при разном соотношении металла и конъюгата при температуре 90°C и концентрации лиганда 0,1 мкМ

Как видно из рисунка 15, комплексообразование происходит эффективно при обоих исследованных соотношениях Tb : Лиганд. Доля связанного за 1 ч тербия составляет в обоих случаях выше 96 %. R_f для всех точек составил 0.55-0.7 (рис. 16), что позволяет сделать вывод о единообразии структуры комплекса. Выход комплекса составил $98,5 \pm 4,0$ % для соотношения металл-лиганд 1:500 и $96,6 \pm 4,0$ % для соотношения 1:4 соответственно.

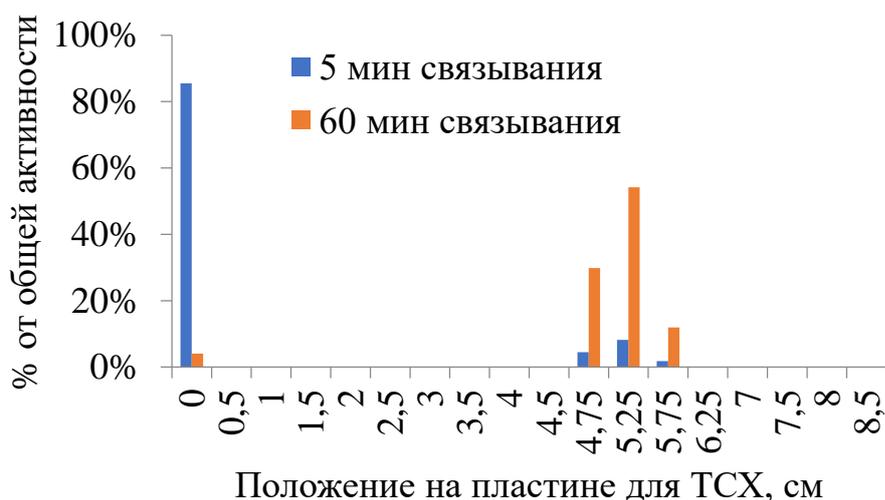


Рисунок 16 — Отображение активности ^{155}Tb на пластинах для ТСХ в результате комплексообразования в течение 5 и 60 мин

После экспериментов на комплексообразование были проведены исследования стабильности полученного комплекса *in vitro*. Для этого использовали комплекс Tb-DOTA-Phe-D-Trp-Lys-Thr-OMe, полученный в эксперименте с соотношением металл-лиганд 1:4.

Стабильность комплекса Tb-DOTA-Phe-D-Trp-Lys-Thr-OMe анализировали в 0,9 %-ном растворе NaCl при 37° C. Исходя из суточного эксперимента, можно сделать вывод, что комплекс сохранил выход комплексообразования выше 95 % при инкубировании в течение 24 часов. На пластинах ТСХ не было обнаружено пятна, соответствующего свободному иону Tb³⁺.

Также исследовали устойчивость комплекса в бычьей сыворотке. Полученные результаты демонстрируют, что при 10-кратном избытке сыворотки наблюдается начальное единовременное высвобождение до 20% свободного катиона из комплекса Tb-DOTA-Phe-D-Trp-Lys-Thr-OMe (Рисунок 17). После этого значимого изменения количества связанного в комплекс тербия не происходит, по крайней мере, в течение суток. Это согласуется с данными для других пептидных конъюгатов с DOTA, которые показывают, что комплексы с DOTA сохраняют высокую кинетическую стабильность даже после их конъюгирования с пептидами.

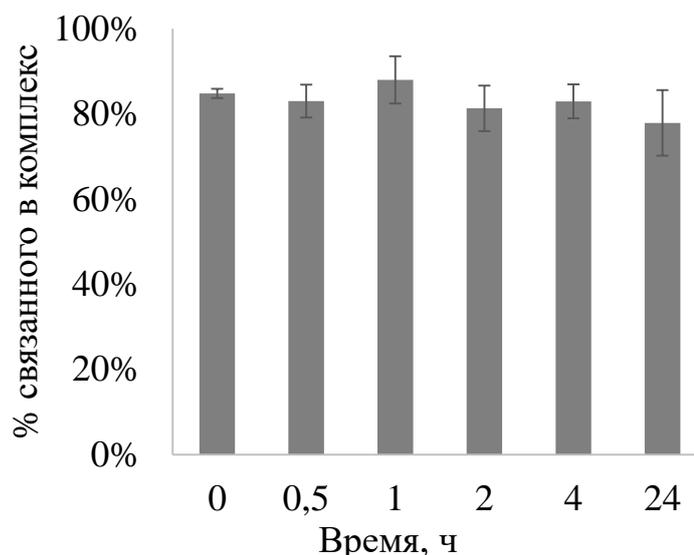


Рисунок 17 — Устойчивость Tb-DOTA- Phe-D-Trp-Lys-Thr-OMe в бычьей сыворотке при 37° С

Следует отметить, что комплекс демонстрирует высокую стабильность по сравнению с конкурирующим агентом, (сывороточный белок). Потеря до 20% тербия при смешивании может быть вызвана тем, что часть металла связана с лигандом неспецифическим образом.

Выполненное исследование показывает, что биоконъюгат тетрапептида и хелатора DOTA имеют хорошую степень связывания с тербием. Полученный комплекс устойчив в изотоническом растворе и сыворотке, а значит, является подходящим для дальнейших биологических и медицинских экспериментов *in vivo*.

Выводы

1. Измерены сечения и выходы ядерных реакций при облучении мишеней из ^{151}Eu ^3He -частицами в энергетическом диапазоне 20-70 МэВ. Определены оптимальные условия получения ^{149}Tb по реакции $^{151}\text{Eu}(^3\text{He},5n)$, обеспечивающие минимальное количество примесей при максимальной наработке;

2. измерены сечения и выходы ядерных реакций при облучении мишеней из ^{151}Eu α -частицами в энергетическом диапазоне 18-60 МэВ. Определены оптимальные условия получения ^{152}Tb по реакции $^{151}\text{Eu}(\alpha,3n)$, обеспечивающие минимальное количество примесей при максимальной наработке;

3. измерены сечения и выходы ядерных реакций при облучении мишеней из $^{\text{nat}}\text{Gd}$ α -частицами с энергией до 60 МэВ. Определены оптимальные условия получения ^{155}Tb по реакции $^{\text{nat}}\text{Gd}(\alpha,xn)$, обеспечивающие минимальное количество примесей при максимальной наработке;

4. продемонстрирована возможность выделения ^{149}Tb из облученной европиевой мишени. Показано, что все технологические операции могут быть реализованы в пределах одного периода полураспада ^{149}Tb ;

5. предложен косвенный метод получения ^{155}Tb без носителя из облученной α -частицами гадолиниевой мишени через промежуточное образование ^{155}Dy . Полученный продукт имеет радионуклидную примесь ^{153}Tb , составляющую не более 5,4 % по активности на момент разделения;

6. проведено комплексообразование конъюгата DOTA-Phe-D-Trp-Lys-Thr-OMe с радионуклидом ^{155}Tb с носителем. Степень связанного в комплекс тербия составила более 96 %. Полученный комплекс устойчив в изотоническом растворе и сыворотке, а значит, является подходящим для дальнейших биологических и медицинских экспериментов *in vivo*.

Список цитируемой литературы

1. Kazakov A.G. et al. Separation of radioisotopes of terbium from a europium target irradiated by 27 MeV α -particles // *Radiochim. Acta*. 2018. Vol. 106, № 2. P. 135–140.
2. Horwitz E.P., Bloomquist C.A.A. Chemical separations for super-heavy element searches in irradiated uranium targets // *J. Inorg. Nucl. Chem.* 1975. Vol. 37, № 2. P. 425–434.
3. Philip Horwitz E., McAlister D.R., Dietz M.L. Extraction Chromatography Versus Solvent Extraction: How Similar are They? // *Sep. Sci. Technol.* 2006. Vol. 41, № 10. P. 2163–2182.
4. Horwitz E.P. et al. A process for the separation of ^{177}Lu from neutron irradiated ^{176}Yb targets // *Appl. Radiat. Isot.* 2005. Vol. 63, № 1. P. 23–36.
5. Yakusheva A. et al. From octreotide to shorter analogues: Synthesis, radiolabeling, stability // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2019. Vol. 62, № 11. P. 718–728.

Основные результаты диссертации изложены в следующих публикациях:

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

1. *Moiseeva A.N., R.A. Aliev, E.B. Furkina, V.I. Novikov, V.N. Unezhev* New method for production of ^{155}Tb via ^{155}Dy by irradiation of natGd by medium energy alpha particles // *Nucl. Med. Biol.* — 2022. — Vol. 106–107. — Pp. 52–61.
2. *Moiseeva AN, Aliev RA, Unezhev VN, Gustova NS, Madumarov AS, Aksenov N V., et al.* Alpha particle induced reactions on ^{151}Eu : Possibility of

production of ^{152}Tb radioisotope for PET imaging // Nucl Instruments Methods Phys Res Sect B. — 2021. — Vol. 497. — Pp. 59–64.

3. *Moiseeva AN, Aliev RA, Unezhev VN, Zagryadskiy VA, Latushkin ST, Aksenov N V., et al.* Cross section measurements of $^{151}\text{Eu}(^3\text{He},^5\text{n})$ reaction: new opportunities for medical alpha emitter ^{149}Tb production // Sci Rep. — 2020. — Vol. 10. — P. 508.

4. *Р.А. Алиев, В.А. Загрядский, С.Т. Латушкин, А.Н. Моисеева, В.И. Новиков, В.Н. Унежев, А.Г. Казаков* Получение короткоживущего терапевтического α -эмиттера ^{149}Tb облучением европия α -частицами энергией 63 МэВ // Атомная энергия. — 2020. — Т. 129, № 6. — С. 326-328.

Тезисы докладов научных конференций:

1. *Хоменко И.А., Моисеева А.Н.* Измерение сечений образования медицинских изотопов тербия в реакциях под действием α -частиц на европиевых мишенях // Сборник тезисов конференции Ломоносов-2019 — 2019.

2. *Моисеева А.Н., Алиев Р.А.* Новый метод производства медицинского α -эмиттера ^{149}Tb // Научно-технический семинар Производство альфа-эмиттеров и перспективы создания РФЛП на их основе: Сборник тезисов — 2019.

3. *Моисеева А.Н.* Измерение сечений реакции образования изотопов тербия по реакции $^{151}\text{Eu}(\alpha, \text{xn})$ // Сборник тезисов конференции Ломоносов-2020. — 2020.

4. *Моисеева А.Н., Алиев Р.А.* Методы получения медицинских изотопов тербия на циклотроне // IV Международная научно-практическая конференция Радиофарма-2021: Сборник тезисов. — 2021.

5. *Моисеева А.Н., Алиев Р.А., Осипов В.Н., Хачатрян Д.С.* Получение медицинского радионуклида тербия-155 и меченых им пептидов // Сборник тезисов VIII Всероссийского молодежного научного форума Open Science 2021. — 2021.