

На правах рукописи



**Бубенщиков Виктор Борисович**

**ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОЧИСТЫХ ПРЕПАРАТОВ  $^{89}\text{Zr}$ , ПРИГОДНЫХ ДЛЯ  
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РАДИОНУКЛИДНОЙ ДИАГНОСТИКЕ**

Специальность 1.4.13 – Радиохимия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени

кандидата химических наук

Москва

2023

Работа выполнена в лаборатории технологии и методов контроля радиофармпрепаратов  
Отдела радиационных технологий медицинского назначения Федерального  
государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской  
Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна»  
(ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России)

Научный руководитель: **Ларенков Антон Алексеевич**,  
кандидат химических наук, заведующий лабораторией  
технологии и методов контроля радиофармпрепаратов,  
заведующего отделом радиационных технологий  
медицинского назначения ФГБУ ГНЦ ФМБЦ  
им. А.И. Бурназяна ФМБА России.

Официальные оппоненты: **Ермолаев Станислав Викторович**,  
доктор химических наук, ведущий научный сотрудник  
лаборатории радиоизотопного комплекса ФГБУН «Институт  
ядерных исследований Российской академии наук» (ИЯИ  
РАН).

**Казаков Андрей Геннадьевич**,  
кандидат химических наук, старший научный сотрудник  
лаборатории радиохимии ФГБУН «Ордена Ленина и Ордена  
Октябрьской Революции Институт геохимии и аналитической  
химии имени В. И. Вернадского Российской академии наук»  
(ГЕОХИ РАН).

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования «Московский  
государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Защита состоится 29 февраля 2024 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета  
24.1.195.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Ордена  
Ленина и Ордена Октябрьской Революции Институте геохимии и аналитической химии им.  
В.И. Вернадского Российской академии наук по адресу: 119991, г. Москва, ул. Косыгина,  
д.19.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке ГЕОХИ РАН и на сайте:  
[http://www.geokhi.ru/Thesis/2023/Кандидатские/Бубенщиков\\_ВБ/Диссертация\\_Бубенщиков\\_ВБ.pdf](http://www.geokhi.ru/Thesis/2023/Кандидатские/Бубенщиков_ВБ/Диссертация_Бубенщиков_ВБ.pdf).

Текст диссертации размещён на сайте ВАК России <https://vak.minobrnauki.gov.ru/>

Отзывы на автореферат в 2-х экземплярах, заверенные печатью учреждения, просим  
направлять ученому секретарю совета по адресу 119991 Москва, ул.Косыгина, д.19, а также  
на e-mail [elena.zakharchenko@gmail.com](mailto:elena.zakharchenko@gmail.com).

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 202\_\_ г.

Учёный секретарь диссертационного  
совета 24.1.195.01, кандидат химических наук

Е.А. Захарченко

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность работы

Молекулярная визуализация является одной из наиболее быстро развивающихся междисциплинарных областей. Основу методов молекулярной визуализации составляют методы ядерной медицины – однофотонная компьютерная томография (ОФЭКТ) и позитронно-эмиссионная компьютерная томография (ПЭТ). Данные методы позволяют проводить неинвазивную визуализацию различных биологических процессов посредством регистрации  $\gamma$ -излучения от введённого радиофармацевтического лекарственного препарата (РФЛП или упрощ. РФП). Использование меченых соединений позволяет решать широкий спектр задач по диагностике и терапии различных заболеваний. Основным преимуществом методов ядерной медицины, и, в частности, метода ПЭТ, является высокая чувствительность и специфичность, что в сочетании с другими методами, такими как компьютерная томография и магнитно-резонансная томография (ПЭТ-КТ, ПЭТ-МРТ) позволяет проводить диагностику с высокой точностью. Сегодня данные методы являются неотъемлемой частью мировой клинической практики развитых стран.

Среди многообразия позитрон-излучающих радионуклидов (РН), находящихся применение в ядерной медицине, отдельного внимания заслуживает цирконий-89. В отличие от уже активно используемых в повседневной практике циклотронных ПЭТ РН ( $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{18}\text{F}$ )  $^{89}\text{Zr}$  имеет более длительный период полураспада ( $T_{1/2} = 78,42$  ч), что делает его крайне привлекательным для исследования биологических процессов с медленной кинетикой. Наиболее востребован цирконий-89 при разработке РФЛП на основе моноклональных антител (mAb) и их фрагментов (Fab), что в совокупности с ядерно-физическими характеристиками  $^{89}\text{Zr}$  позволяет получать томограммы с высоким разрешением и большой клинической значимостью. Сочетание высокой специфичности mAb и высокой чувствительности ПЭТ способствовало развитию отдельного направления – иммуноПЭТ, направленного на диагностику, планирование и мониторинг терапии разнообразных заболеваний, главным образом, онкологических.

Важным преимуществом циркония-89 является возможность его наработки на стандартных медицинских циклотронах (9-18 МэВ), при этом обычно в качестве мишени используется фольга из природного моноизотопного иттрия. Для выделения циркония-89 из мишени широкое распространение получили экстракционно-хроматографические методы на гидроксаматных смолах. Однако, несмотря на все преимущества циркония-89 как диагностического радионуклида, его внедрение в клиническую практику ставит перед исследователями и разработчиками ряд нетривиальных задач, связанных со сложностью

химии циркония как элемента. Используемые методы кондиционирования должны обеспечивать высокую степень очистки от примесных металлов, которые могут негативно влиять на качество синтезируемых РФЛП. Таким образом, разработка метода получения циркония-89 в фармацевтически приемлемой и удобной химической форме является актуальной задачей в рамках разработки и развития концепции  $^{89}\text{Zr}$ -РФЛП и иммуноПЭТ в целом.

**Целью данной работы** являлась разработка метода получения растворов циркония-89, фармацевтически приемлемых для синтеза меченых молекул и дальнейшего применения в технологии радиофармацевтических лекарственных препаратов.

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

1. Разработка метода получения растворов  $^{89}\text{Zr}$  в фармацевтически приемлемой форме.
2. Разработка и сравнение методов анализа радиохимической чистоты растворов и комплексов  $^{89}\text{Zr}$ .
3. Оценка стабильности растворов  $^{89}\text{Zr}$ , полученных различными методами, и подтверждение пригодности для синтеза РФЛП на примере комплексообразования с хелатором дефероксамином (ДФО).
4. Сравнение и выбор наиболее подходящей химической формы  $^{89}\text{Zr}$  для применения в синтезе РФЛП.

### **Научная новизна работы**

- Впервые разработан новый метод получения растворов  $^{89}\text{Zr}$ , включающий комбинированную очистку  $^{89}\text{Zr}$  на экстракционно-хроматографической смоле ZR и хелатной смоле Chelex-100, позволяющий получать  $^{89}\text{Zr}$  в форме  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата и  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата в физиологически приемлемых растворах.
- Предложенный метод выделения циркония-89 обеспечивает высокие коэффициенты очистки от примесей металлов, высокую радионуклидную и радиохимическую чистоту, позволяет получать  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалат и  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрат в растворах с изотонической концентрацией, высоким выходом (>90%) и высокой объемной активностью.
- Проведено сравнение различных химических форм  $^{89}\text{Zr}$ . Впервые предложено использование  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата для разработки и синтеза  $^{89}\text{Zr}$ -РФЛП. Растворы  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата являются стабильными, не токсичными и позволяют получать комплексы  $^{89}\text{Zr}$  с высокой радиохимической чистотой.

## Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы заключается в получении новых сведений о процессах сорбции на сорбентах Chelex-100 и Chromafix- $\text{HCO}_3$ ; хроматографическом поведении различных форм циркония-89 в процессах выделения и анализа, включая как исходные растворы, так и препараты  $^{89}\text{Zr}$ .

Получены результаты по сорбционному поведению  $^{89}\text{Zr}$  на различных сорбентах, имеющие большую практическую значимость для оптимизации и расширения текущих методов производства  $^{89}\text{Zr}$ . Применение разработанного оригинального метода выделения циркония-89 с использованием смол ZR и Chelex-100 позволяет проводить эффективную очистку  $^{89}\text{Zr}$  от всех основных примесных металлов и получать  $^{89}\text{Zr}$  в растворах с изотонической концентрацией, значениями pH, близкими к нейтральным, высокой удельной активностью, радиохимической, химической и радионуклидной чистотой.

Показано, что наиболее популярный метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) для контроля качества препаратов  $^{89}\text{Zr}$  (ITLC-SG/50 mM ДТПА) является необъективным. Разработаны методы анализа для идентификации различных химических форм циркония-89, позволяющие точно определять радиохимическую чистоту, как исходных растворов, так и комплексов с DFO, что улучшает текущие методологические подходы к контролю качества РФП и снижает риск получения недостоверных результатов.

Показано, что метод конверсии  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата в  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорид не обеспечивает полную очистку от щавелевой кислоты, что приводит к нестабильным результатам синтезов с использованием таких растворов. Предложен альтернативный метод синтеза радиофармацевтических комплексов с использованием  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида.

Проведено сравнение различных химических форм  $^{89}\text{Zr}$  ( $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалат,  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорид,  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрат). Показано, что химическая форма  $^{89}\text{Zr}$  оказывает значительное влияние на стабильность исходных растворов во времени и эффективность комплексообразования с целевыми молекулами.

Разработан оригинальный метод получения растворов  $^{89}\text{Zr}$  в форме  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата и  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата. Показаны преимущества использования  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата для синтеза РФЛП.

Полученные результаты были использованы для разработки диагностического препарата « $[^{89}\text{Zr}]\text{Циркония оксалат}$ » для ПЭТ-диагностики воспалительных процессов и метаболических поражений скелета при выполнении государственного контракта № 14. N08.11.0162 от 14.08.2017 г. в рамках Федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу».

## **Положения, выносимые на защиту**

1. Результаты исследования сорбционного поведения  $^{89}\text{Zr}$  на сорбентах ZR, Chelex-100, ТВР, Chromafix- $\text{HCO}_3$  и разработанный на их основе оригинальный метод очистки, включающая использование экстракционно-хроматографической (ZR) и хелатной смолы (Chelex-100) для получения стабильных и физиологически приемлемых растворов (осмолярность, pH)  $^{89}\text{Zr}$ -оксалата и  $^{89}\text{Zr}$ -цитрата с высоким выходом (>90%) и высокой объёмной активностью (>90%  $^{89}\text{Zr}$  в 1 мл элюата).
2. Результаты исследования конверсионного метода получения  $^{89}\text{Zr}$ -хлорида. Изменение хроматографического распределения и свойств раствора  $^{89}\text{Zr}$ -хлорида из-за неполной очистки от щавелевой кислоты уже при концентрации в 1 мМ.
3. Методика ТСХ-анализа растворов  $^{89}\text{Zr}$ . Предложены системы для анализа различных компонентов реакционной смеси в зависимости от используемой химической формы (стекловолокно, импрегнированное силикагелем /  $\text{MeOH-H}_2\text{O}$  (1:1), 4 об.% ТФУ; ITLC-SA / 50 мМ ЭДТА (pH 5); силикагель, модифицированный C18 / 0,1 М  $\text{Na}_3\text{Citr}$  (pH 5); силикагель на алюминиевой подложке с модифицированной  $\text{NH}_2$  поверхностью /  $\text{MeOH-H}_2\text{O}$  (1:1), 1 М  $\text{AcONH}_4$ ). Продемонстрирована недостаточная информативность широко используемого метода анализа ITLC-SG/50 мМ ДТПА<sub>aq.</sub>.
4. Данные по сравнению химических форм  $^{89}\text{Zr}$  по параметрам стабильности во времени, скорости и эффективности комплексообразования с хелатором. Экспериментальное доказательство пригодности данных растворов для синтеза РФЛП на примере комплексообразования с DFO. Высокая перспективность  $^{89}\text{Zr}$ -цитрата для дальнейших исследований по синтезу комплексов и радиофармацевтических препаратов на основе  $^{89}\text{Zr}$ .

## **Личный вклад автора**

Состоит в критическом обзоре литературных данных; подготовке и проведении экспериментов с  $^{89}\text{Zr}$ ; в проведении анализов количественного содержания металлов методом атомно-абсорбционной спектроскопии; в обработке, интерпретации экспериментальных данных и подготовке материалов к публикации.

## **Вклад соавторов печатных работ**

к.х.н. Ларенков А.А., к.х.н. Кодина Г.Е.– научное руководство, постановка цели и задач исследования, обсуждение полученных результатов; Макичян А.Г. – помощь в проведении экспериментов по выделению и анализу растворов  $^{89}\text{Zr}$ ; Жукова М.В., Красноперова А.С. – проведение доклинических исследований и исследований на биологических моделях.

## **Апробация результатов**

Результаты работы были представлены в виде стендовых и устных докладов на следующих конференциях: Школа-конференция молодых учёных и специалистов «Ильинские чтения» 22 марта 2018 года; IX Научная конференция молодых ученых «Инновации в химии: достижения и перспективы» 9-13 апреля 2018 года; I межрегиональная молодежная научная конференция «Достижения и перспективы молодых ученых» 25 мая 2018 года; IX Российская конференция с международным участием «Радиохимия 2018» 17-21 сентября 2018 года.; Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine. 13-17 октября 2018 года, Дюссельдорф, Германия; Научно-практическая конференция «Радиофарма-2019» 18-21 июня 2019 г; II Межрегиональная молодежная научная конференция «Достижения и перспективы молодых ученых» 31 мая 2019 г; Школа-конференция молодых ученых «Ильинские чтения 2019» 10-11 октября 2019 года; VI Курчатовская междисциплинарная молодежная научная школа 2 - 5 декабря 2019 г; Школа-конференция молодых ученых «Ильинские чтения 2020» 22-24 декабря 2020 года; Научно-практическая конференция, посвященная памяти академика Анатолия Михайловича Гранова «Инновационные технологии ядерной медицины» 11 декабря 2020 года; IV международная научно-практическая конференция «Радиофарма-2021». 30- сентября – 3 октября 2021 года; X Российская конференция «Радиохимия-2022» 26-30 сентября 2022 года.

По материалам диссертации опубликовано 20 печатных работ, из них 4 статьи в рецензируемых научных журналах из списка ВАК, входящих в базы Scopus, Web of Science, RSCI и 16 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях.

**Структура и объём диссертационной работы:** диссертация состоит из введения, обзора литературных данных, двух глав, содержащих основные результаты работы и выводов. Работа изложена на 116 страницах и включает 45 рисунков, 36 таблиц и 233 источника цитируемой литературы.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Во введении** обоснована актуальность темы диссертационной работы, сформулированы цели, задачи, отмечена научная новизна и практическая значимость проведённых исследований.

**Первая глава** (литературный обзор) посвящена получению, выделению, синтезу комплексов и радиофармацевтических препаратов  $^{89}\text{Zr}$ .

**Вторая глава** содержит описание использованных экспериментальных методов, реактивов и оборудования. Объектом исследования являлись растворы  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида, полученные методом ионного обмена и приобретённые у ЗАО “Циклотрон” (Обнинск). На основании данных растворов было проведено моделирование выделения и очистки  $^{89}\text{Zr}$  из облучённой мишени. Приведены методики исследования в статических, динамических условиях, методика получения растворов  $^{89}\text{Zr}$ , методика количественного определения содержания металлов в модельном эксперименте и методика мечения хелатора дефероксамина (ДФО) для различных химических форм  $^{89}\text{Zr}$ . Представлены ТСХ-системы для анализа различных компонентов реакционной смеси.

**В третьей главе** представлены результаты и их обсуждение.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Современные методы выделения  $^{89}\text{Zr}$  основаны на твердофазной экстракции с использованием гидроксаматных смол. Для выделения  $^{89}\text{Zr}$  в работе была использована коммерчески доступная экстракционно-хроматографическая гидроксаматно-модифицированная смола ZR (Triskem). Особенностью данной смолы является возможность десорбции  $^{89}\text{Zr}$  разбавленными растворами щавелевой кислоты (0,1 М) с достаточно высоким выходом (>90% в 1 мл элюата). Для остальных гидроксаматных смол, описанных в литературе, используется 1 М щавелевая кислота. Использование других элюентов для десорбции  $^{89}\text{Zr}$  со смолы ZR является неэффективным (таблица 1).

Таблица 1. Эффективность элюирования  $^{89}\text{Zr}$  со смолы ZR различными элюентами.

Элюент	Эффективность элюирования, %
Щавелевая кислота 0,1-1,0 М	> 90
Оксалат натрия 0,1 М	~ 40
Лимонная кислота 0,1 М	< 1
Цитрат натрия 0,1 М (рН 4)	~ 2
Малоновая кислота 0,1 М	< 1
Янтарная кислота 0,1 М	< 1

В ходе работы обнаружено, что при выделении  $^{89}\text{Zr}$  на смоле ZR растворы соляной кислоты приобретали слабую желтую окраску, что отмечается и на УФ-спектрах всех

растворов до и после контакта со смолой ZR. Предположительно данный факт связан с нарушением структуры смолы и попаданием в раствор примесей органической фазы. Кроме того, полученные образцы  $^{89}\text{Zr}$ Zr-оксалата проявляли различное хроматографическое поведение (*система* силикагель на стекловолноке (ITLC-SG) /50 мМ ДТПА (pH 7) (далее – *метод 1*): для  $^{89}\text{Zr}$ Zr-оксалата в 0,1 М растворе щавелевой кислоты (метод получения «ZR») отмечено значительное количество «гидролизованного»  $^{89}\text{Zr}$  ( $R_f = 0$ ). Тогда как для аналогичного модельного раствора  $^{89}\text{Zr}$ Zr-оксалата, приготовленного путём добавления аликвоты исходного раствора  $^{89}\text{Zr}$ Zr-хлорида (выделенного с помощью смолы Dowex 1×8) в раствор 0,1 М оксалата натрия пик с  $R_f = 0$  практически отсутствовал. Было установлено, что для получения фармацевтически приемлемых растворов данной очистки недостаточно. Для дальнейшей очистки полученных растворов была выбрана хелатная смола Chelex-100.

Для проведения второй стадии очистки были определены коэффициенты распределения  $^{89}\text{Zr}$  на смоле Chelex-100 в растворах щавелевой кислоты с различной концентрацией. Наиболее высокий коэффициент распределения ( $K_d \sim 100$ ) был получен при сорбции из 0,5 М щавелевой кислоты (рисунок 1).

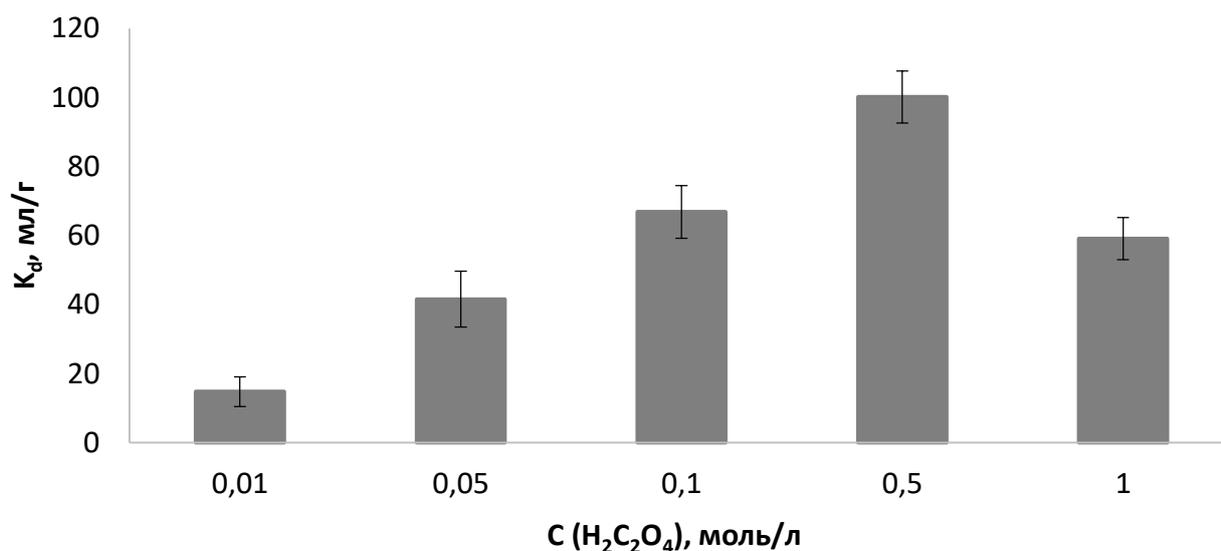


Рисунок 1. Коэффициенты распределения  $^{89}\text{Zr}$  на смоле Chelex-100.

Раствор 0,5 М H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> был выбран в качестве раствора для десорбции  $^{89}\text{Zr}$  со смолы ZR и последующей сорбции на смоле Chelex-100. Для промывки смолы Chelex-100 использовали раствор 0,1 М HCl, для десорбции  $^{89}\text{Zr}$  – 0,115 М раствор оксалата натрия (1,55%, изотонический раствор). Выход составляет >95% в 1 мл элюата. Схема разработанного процесса выделения представлена на рисунке 2.

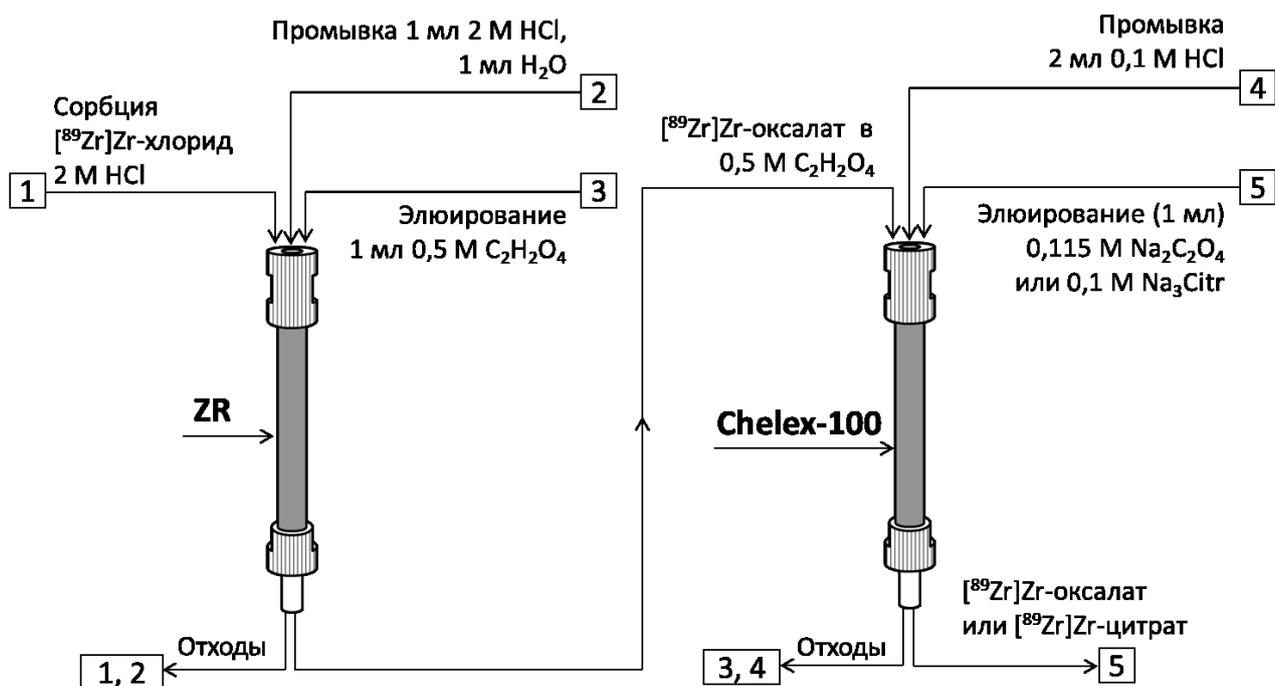


Рисунок 2. Схема получения  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата на смолах ZR и Chelex-100.

Для контроля качества образцов  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата использовали две ТСХ-системы: широко используемая в литературе система на основе ДТПА (*метод 1*) и впервые предложенная ИТLC-SG / MeOH- $\text{H}_2\text{O}$  (1:1), 4 об.% ТФУ (далее – *метод 2*). При анализе растворов  $^{89}\text{Zr}$  с использованием *метода 1* наблюдается следующее хроматографическое распределение:  $R_f$  комплексов  $^{89}\text{Zr}$  — 0,  $R_f$  несвязанного  $^{89}\text{Zr}$  — 1 (оксалат, хлорид  $^{89}\text{Zr}$ ). *Метод 2* был выбран для анализа образцов  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата ( $R_f$   $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата — 1,  $R_f$   $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида — 0).

При анализе полученных образцов  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата *методом 1* и *2* были получены различные значения радиохимической чистоты (РХЧ). *Методом 2* были получены более высокие значения РХЧ (>95%), в то время как *метод 1* указывал на значительное количество гидролизованного  $^{89}\text{Zr}$  (пик с  $R_f = 0$ ). Для установления корреляции между содержанием гидролизованных форм  $^{89}\text{Zr}$  в препаратах  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата и их хроматографическим распределением при использовании *метода 1* и *метода 2*, был проведён эксперимент с биологическими моделями: препараты с различным значением РХЧ были введены лабораторным животным.

Согласно результатам ПЭТ, для образцов 1 и 2 (рисунок 3) большая часть накопленной активности связана с костной тканью животного (РХЧ согласно *методу 2* — 100%), накопление увеличивается в зонах активного метаболизма костной ткани. Для образца 3, который имеет РХЧ = 90% (по *методу 2*) отмечается накопление в скелете, а также чёткая визуализация печени, что противоречит данным *метода 1* (если считать, что в

методе 1 на старте хроматограммы представлен только гидролизированный  $^{89}\text{Zr}$ ). Введение образца 4, который имеет РХЧ = 0 согласно методу 2, приводит к накоплению препарата исключительно в печени, что подтверждает корректность метода 2. Таким образом, метод 1 в ряде случаев не отражает истинного значения РХЧ. В данном случае разработанный метод 2 дает более полную и адекватную оценку содержания различных форм  $^{89}\text{Zr}$ .

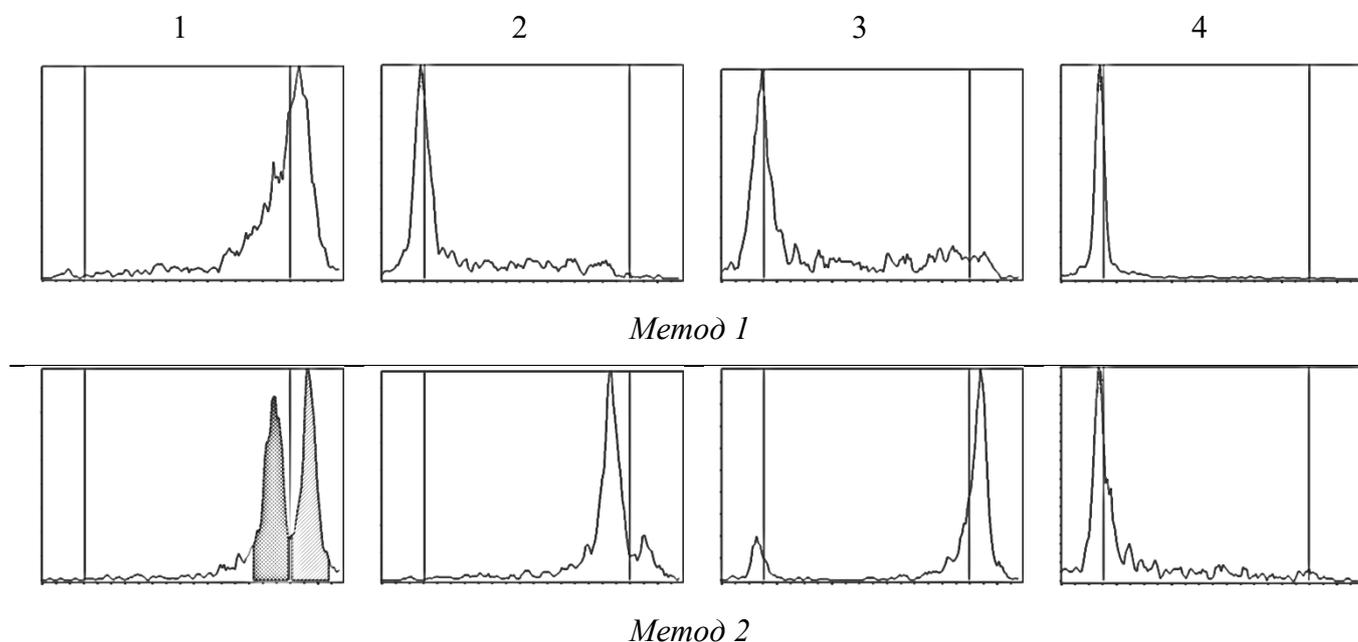


Рисунок 3. Хроматограммы образцов  $^{89}\text{Zr}$  Zr-оксалата с различными значениями РХЧ (образцы 1-4) для метода 1 и метода 2.

Десорбция  $^{89}\text{Zr}$  со смолы Chelex-100 возможна не только оксалатом натрия, но и солями различных карбоновых кислот (таблица 2). Цитрат натрия незначительно уступает оксалату натрия по эффективности элюирования  $^{89}\text{Zr}$  и образует достаточно стабильные цитратные комплексы  $^{89}\text{Zr}$ , что снижает образование гидролизированных форм. Для десорбции  $^{89}\text{Zr}$  был выбран 0,1 М раствор  $\text{Na}_3\text{Citr}$  (изотоническая концентрация). Выход составил  $94,5 \pm 0,9\%$  в 1 мл элюата. При этом для получения  $^{89}\text{Zr}$  Zr-цитрата с более высокой удельной активностью возможно снизить объём элюата до 300 мкл (выход  $\sim 93\%$ ).

Схема получения  $^{89}\text{Zr}$  в форме  $^{89}\text{Zr}$  Zr-цитрата включает следующие стадии:

1. подготовка колонки 50 мм  $\times$   $\varnothing$  2,1 с  $\sim 50$  мг смолы Chelex-100, промывка водой;
2. пропускание 1 мл сорбционного раствора  $^{89}\text{Zr}$  Zr-оксалата в 0,5 М  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ;
3. промывка 2 мл 0,1 М  $\text{HCl}$ ;
4. десорбция  $^{89}\text{Zr}$  1 мл 0,1 М  $\text{Na}_3\text{Citr}$ .

Таблица 2. Эффективность элюирования  $^{89}\text{Zr}$  со смолы Chelex-100 солями различных карбоновых кислот.

Элюент	Распределение активности $^{89}\text{Zr}$ по фракциям		
	Сорбционный и промывочный растворы, %	Содержание $^{89}\text{Zr}$ в элюате, %	Остаточная активность $^{89}\text{Zr}$ на колонке, %
0,1 М Оксалат натрия	0,9 ± 0,7	95,9 ± 0,2	2,7 ± 0,4
0,1 М Цитрат натрия		95,0 ± 0,3	4,1 ± 0,7
0,1 М Тартрат натрия		87,0 ± 3,0	12,6 ± 3,1
0,1 М Сукцинат натрия		79,9 ± 2,9	19,6 ± 2,3
0,1 М Малонат натрия		78,7 ± 2,3	20,8 ± 2,9

Данная технология была реализована на автоматизированном модуле синтеза Modular-Lab PharmTracer (Eckert & Ziegler Eurotop GmbH). Для проведения полного цикла очистки использовалась одноразовая кассета, соединённая полипропиленовыми коммуникациями (рисунок 4). Была разработана соответствующая программа очистки. Процесс синтеза полностью автоматизирован с возможностью дистанционного контроля посредством датчиков температуры, активности и давления. Все используемые в цикле очистки растворы были предварительно расфасованы в стеклянные флаконы (5 мл) и присоединены к кассете посредством мини-спайков, в качестве колонок использовали полипропиленовые картриджи с полиэтиленовыми фриттами, заполненные 50 мг смол (ZR, Chelex-100). Общий цикл очистки занимает примерно 30 минут, при этом выход продукта составляет >75% без поправки на распад.

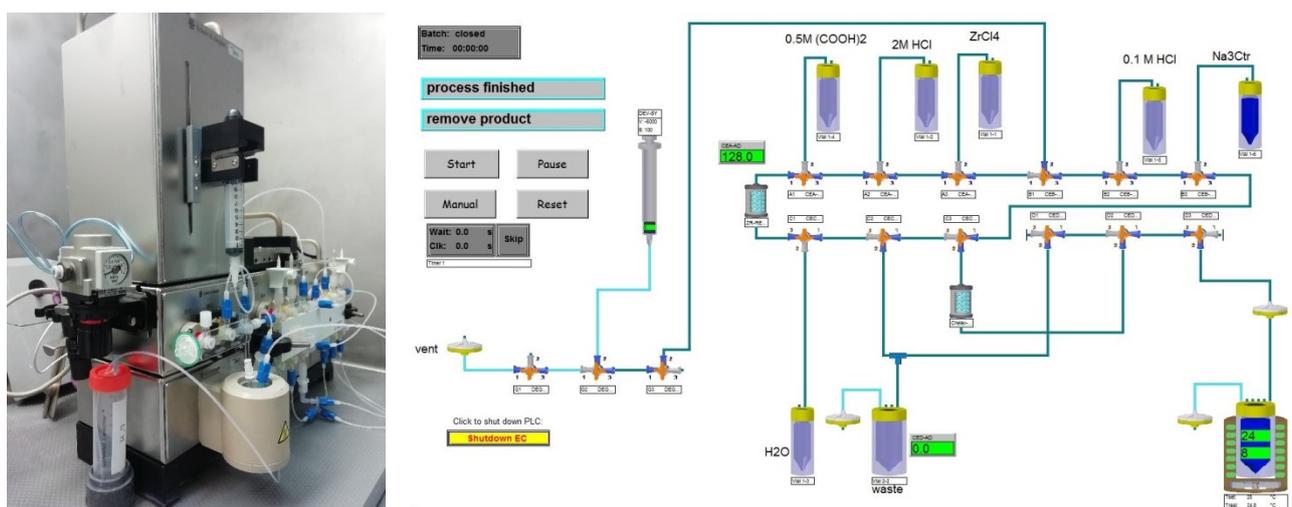


Рисунок 4. Внешний вид и интерфейс программы модуля Modular-Lab PharmTracer.

### Применение [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-оксалата в синтезе РФЛП

Изотонический раствор оксалата циркония-89 может использоваться в качестве отдельного РФЛП для ПЭТ-диагностики воспалительных процессов и метаболических поражений скелета. По результатам проведённых исследований в лаборатории

доклинических и клинических исследований радиофармацевтических препаратов ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России для изотонического раствора  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата не было выявлено каких-либо токсических эффектов. Полулетальная доза ( $\text{LD}_{50}$ ) для мышей составила 149,9 мг/кг, что превышает концентрацию оксалат-ионов во вводимой дозе РФЛП в 26,2 раза. Изучение биораспределения показало увеличенное накопление препарата в очагах воспалительных процессов и метаболических поражений скелета (коэффициент дифференциального накопления патология/интактная костная ткань достигает 2,8 через 6 суток после введения).

#### *Получение $^{89}\text{Zr}$ в форме $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида*

Щавелевая кислота является токсичной и после проведения реакции мечения с использованием  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата должна быть удалена из конечного раствора РФЛП. Альтернативным вариантом, описанным в литературе, является получение  $^{89}\text{Zr}$  в форме  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида. Наиболее популярным методом получения  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида является конверсия  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата на картридже Sep-пак QMA. По аналогии с данной методикой для получения  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида был использован картридж Chromafix 30PS- $\text{HCO}_3$ , который зарекомендовал себя при получении и очистке препаратов с другими РН (например,  $^{68}\text{Ga}$ ). Выход для данного метода составляет более 90% в 1 мл раствора. Схема процедуры очистки представлена на рисунке 5.

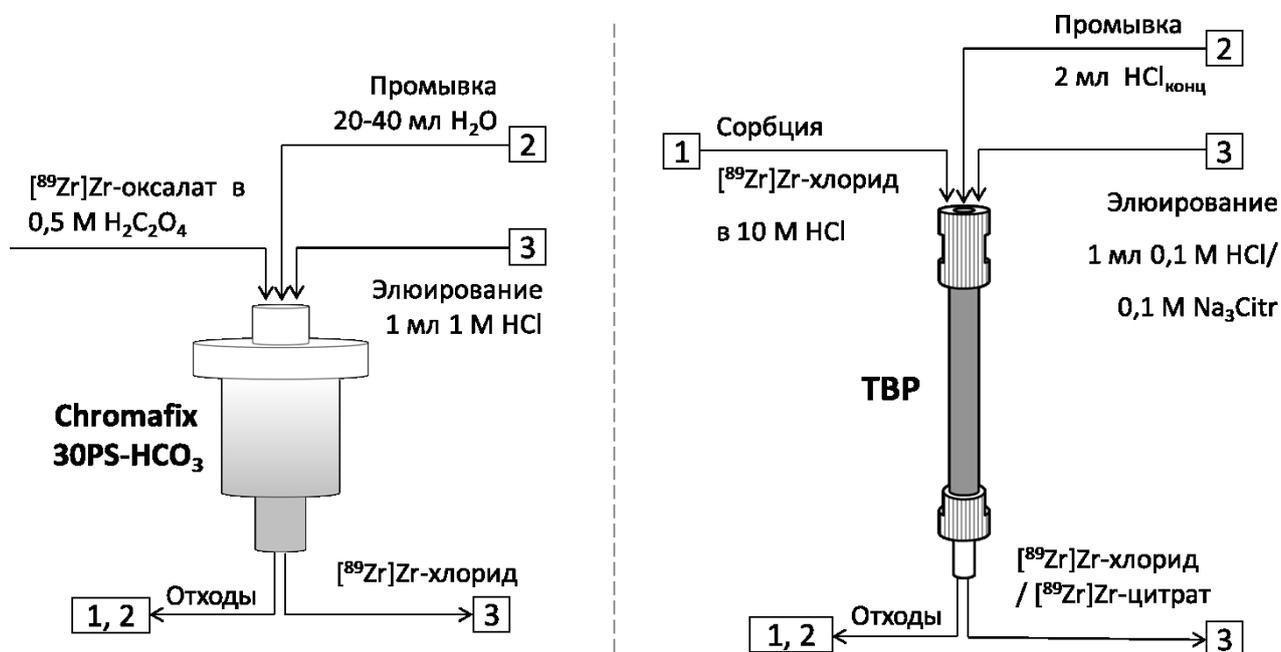


Рисунок 5. Схема получения  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида на смоле Chromafix 30PS- $\text{HCO}_3$  и ТВР.

Еще одним методом получения растворов  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида являются экстракционно-хроматографические методы, которые имеют более высокую селективность и позволяют

получать  $^{89}\text{Zr}$  с более высокой объёмной активностью, чем методы ионного обмена. Для одностадийного получения  $^{89}\text{Zr}$ -хлорида была выбрана экстракционно-хроматографическая смола ТВР (экстрагент — трибутилфосфат, рисунок 5). Использование в процессе выделения  $^{89}\text{Zr}$  концентрированных растворов  $\text{HCl}$  приводит к сильному закислению растворов элюата ( $\text{pH} \leq 1$ ) за счёт остаточной кислоты и требует дополнительной корректировки  $\text{pH}$ . Далее было проведено исследование возможности элюирования  $^{89}\text{Zr}$  со смолы ТВР растворами  $0,1 \text{ M H}_3\text{Cit}$  и  $\text{Na}_3\text{Cit}$  (выход  $92,3 \pm 0,5\%$  и  $91,4 \pm 1,0\%$  соответственно). При использовании в качестве элюента  $0,1 \text{ M HCl}$  выход составляет  $95,5 \pm 0,5\%$ .

При проведении анализа образцов  $^{89}\text{Zr}$ -хлорида *методом 2* было отмечено различие в хроматографическом поведении (рисунок 6).  $^{89}\text{Zr}$ -хлорид, полученный на смоле ТВР, также как и исходный раствор  $^{89}\text{Zr}$ -хлорида, полученный от производителя (ЗАО «Циклотрон») характеризуется пиком  $R_f = 0$ , тогда как  $^{89}\text{Zr}$ -хлорид, полученный конверсионным методом ( $\text{ZR} + \text{Chromafix 30PS-HCO}_3$ ) характеризуется пиком с  $R_f = 1$  (хроматографическое поведение, свойственное растворам  $^{89}\text{Zr}$ -оксалата).

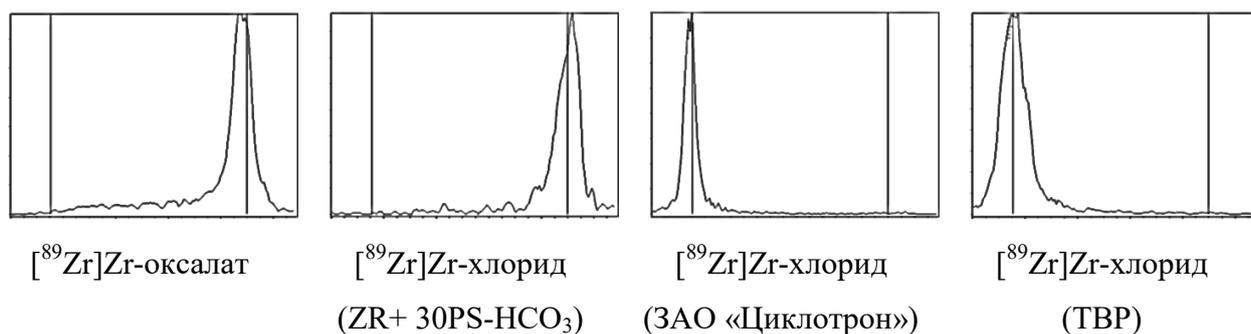


Рисунок 6. Различие в хроматографическом поведении образцов  $^{89}\text{Zr}$  в ТСХ (*метод 2*).

Было установлено, что изменение хроматографического поведения  $^{89}\text{Zr}$ -хлорида связано с неполной очисткой от щавелевой кислоты и наблюдается уже при остаточной концентрации  $1 \text{ mM}$  (рисунок 7), что соответствует проскоку  $0,1\%$  щавелевой кислоты при использовании в качестве исходного раствора  $^{89}\text{Zr}$ -оксалата в  $1 \text{ M H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ . Для получения раствора  $^{89}\text{Zr}$ -хлорида, не отличающегося от аналогичного образца, полученного по безоксалатной технологии (исходный раствор, предоставляемый ЗАО «Циклотрон»), был увеличен объём промывки до  $40 \text{ ml H}_2\text{O}$  и снижена концентрация исходного раствора щавелевой кислоты до  $0,1 \text{ M}$ . Данный метод является менее надёжным (по сравнению с методом выделения с использованием ТВР), поскольку не гарантирует очистку от щавелевой кислоты, присутствие которой приводит к изменению свойств растворов и получению невоспроизводимых результатов.

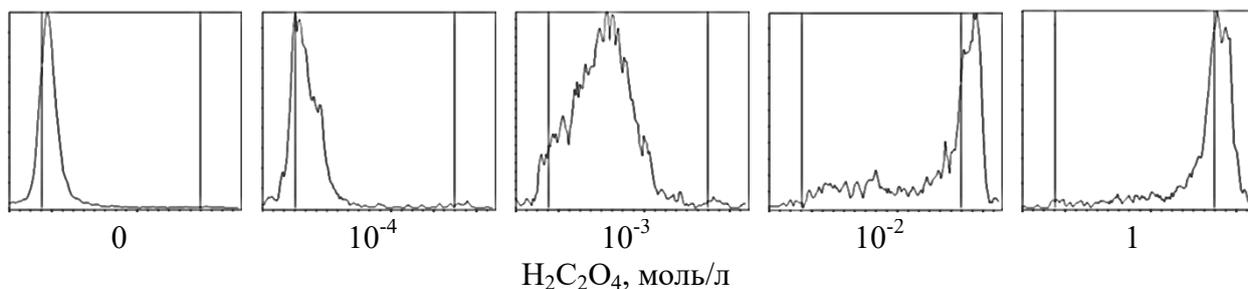


Рисунок 7. Хроматограммы образцов  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида с различным содержанием щавелевой кислоты (метод 2).

По результатам исследований, все исследованные в работе методы позволяют получать растворы циркония-89 с высоким выходом (таблица 3). Метод с использованием смол ZR и Chelex-100 является наиболее технологичным. Кроме того, в отличие от «классического» метода очистки на гидроксаматной смоле, в котором для элюирования  $^{89}\text{Zr}$  используют 1 М раствор  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$  получаемые растворы  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата и  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата на смолах ZR + Chelex-100 характеризуются значением pH, близким к нейтральному и изотонической концентрацией, что позволяет использовать полученные растворы для синтеза комплексов и препаратов  $^{89}\text{Zr}$  без дополнительной стадии нейтрализации. Для получения  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида более предпочтительным является метод с использованием смолы ТВР.

Таблица 3. Методы получения растворов  $^{89}\text{Zr}$ .

Химическая форма	Элюент	Сорбент	Выход в 1 мл р-ра, %	pH
$[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалат	0,1 М $(\text{COOH})_2$	ZR	$90 \pm 2$	$1,0 \pm 0,5$
	0,115 М $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$	ZR + Chelex-100	$93 \pm 2$	$4,0 \pm 0,5$
$[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорид	0,1 М HCl	ТВР	$95 \pm 1$	$\leq 1$
	1 М HCl	ZR + 30PS- $\text{HCO}_3$	$91 \pm 1$	$\leq 1$
$[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрат	0,1 М $\text{Na}_3\text{Cit}$	ТВР	$91 \pm 1$	$1,0 \pm 0,5$
		ZR + Chelex-100	$91 \pm 1$	$5,0 \pm 0,5$

Применение  $^{89}\text{Zr}$  для синтеза препаратов на основе mAb накладывает дополнительные требования к свойствам хелатора: требуется высокая эффективность комплексообразования без нагревания реакционной смеси при значениях pH, близких к нейтральному. Для комплексообразования  $^{89}\text{Zr}$  сегодня широко используется хелатор DFO (DFOM и p-Bn-NCS-DFO, рисунок 8).

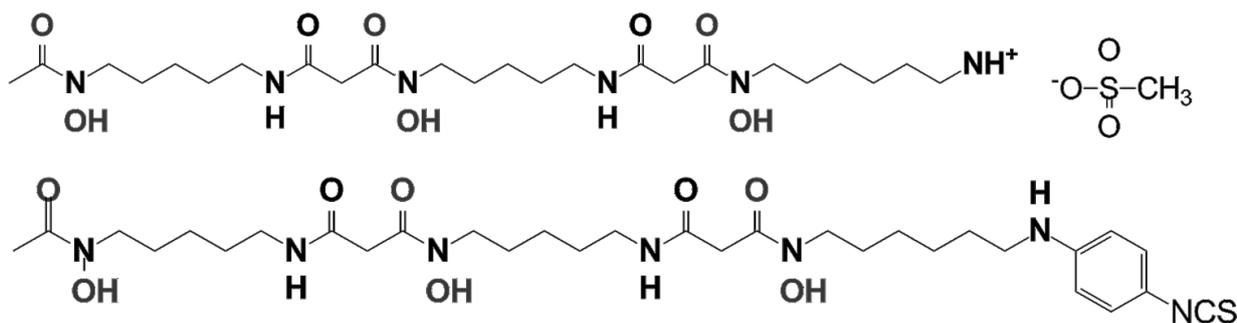


Рисунок 8. Структурные формулы DFOM и p-Bn-NCS-DFO.

Для анализа растворов и комплексов  $^{89}\text{Zr}$  были выбраны следующие ТСХ-системы:

- ИТЛС-SG / MeOH-H<sub>2</sub>O (1:1), 4 об.% ТФУ (*метод 2*) для определения содержания гидролизованного  $^{89}\text{Zr}$  в растворах [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-оксалата;
- силикагель, модифицированный С18 (обращённая фаза), на алюминиевой подложке / 0,1 М цитратный буфер (рН 5) для определения несвязанных форм  $^{89}\text{Zr}$  в растворах [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-хлорида и [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-цитрата (далее – *метод 3*);
- силикагель на алюминиевой подложке с модифицированной NH<sub>2</sub> поверхностью / MeOH-H<sub>2</sub>O (1:1), 1 М AcONH<sub>4</sub> для определения содержания комплексов [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-DFOM (далее – *метод 4*);
- кремниевая кислота на стекловолкне ИТЛС-SA / 50 мМ ЭДТА (рН 5) для определения свободного [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-оксалата (далее – *метод 5*).

Для определения РХЧ комплексов [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-DFOM использовали 2 системы: *система 4* + *система 3* и *5* (в зависимости от используемой химической формы  $^{89}\text{Zr}$ ). Для анализа образцов [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-p-Bn-NCS-DFO полученных с использованием [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-хлорида использовали системы ИТЛС-SG / MeOH-H<sub>2</sub>O (3:1), 1% ТФУ и/или ИТЛС-SG / Ацетон-H<sub>2</sub>O (7:3), 1% ТФУ.

Было установлено, что высокое значение РХЧ согласно результатам ТСХ анализа в ряде случаев не отражает реальных радиохимических параметров качества анализируемых образцов. При проведении реакции комплексообразования с использованием [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-хлорида в диапазоне рН 5-7 достигается высокое значение РХЧ (>90%), однако при измерении активности раствора наблюдается значительное снижение объёмной активности, вероятно, из-за образования коллоидных/гидролизованных форм  $^{89}\text{Zr}$ . Впоследствии дополнительно рассчитывали радиохимический выход:

$$\text{РХВ} = \text{РХЧ} \times \frac{A_1}{A_0},$$

где  $A_0$  – исходная объёмная активность,  $A_1$  – объёмная активность раствора после окончания синтеза.

По результатам экспериментов в качестве оптимального значения pH для проведения реакции меченая DFO было выбрано значение pH = 6. При данном значении pH наблюдаются высокие значения РХЧ (>90%) как для хелатора DFOM, так и для p-Bn-NCS-DFO и более низкое количество гидролизованного  $^{89}\text{Zr}$ , чем при pH 7.

Для уменьшения количества гидролизованного  $^{89}\text{Zr}$  возможно увеличение концентрации солигандов (оксалат и цитрат ионов), однако это также влияет на эффективность комплексообразования. Увеличение концентрации оксалата натрия в растворе с 0,1 до 0,27 М (предельная растворимость при 25°C) приводит к снижению РХЧ с  $93,7 \pm 3,2$  до  $48,7 \pm 4,2\%$ . Для цитрата натрия наблюдается более плавное снижение (с  $96,7 \pm 3,6$  при 0,1 М до  $37,0 \pm 3,5$  при 1,0 М), предположительно связанное с более высокой стабильностью оксалатных комплексов циркония (константа равновесия для комплексов Zr со щавелевой и лимонной кислотами  $(3,16 \pm 0,3) \times 10^5$  и  $348 \pm 43$  соответственно). При этом для растворов  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата реакция комплексообразования с DFO протекает медленнее (РХЧ выходит на плато после 60 минут инкубирования) по сравнению с растворами  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата (~30 мин) и  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида (15 мин).

Для растворов  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида отмечается большое количество гидролизованного  $^{89}\text{Zr}$  ( $\geq 30\%$ ) при проведении реакции комплексообразования. Гидролиз отмечается сразу после добавления  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида в буферный раствор с pH 6 (0,1 М HEPES). Изменение порядка добавления реагентов позволило снизить количество гидролизованного  $^{89}\text{Zr}$  (рисунок 9, порядок смешения – б). Во всех последующих экспериментах раствор хелатора (DFOM, p-Bn-NCS-DFO) добавлялся в кислый раствор  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида, и, далее, строго рассчитанный объём буфера. В результате изменения порядка смешения реагентов удалось значительно повысить как РХЧ (~40%), так и в целом РХВ (рисунок 10).

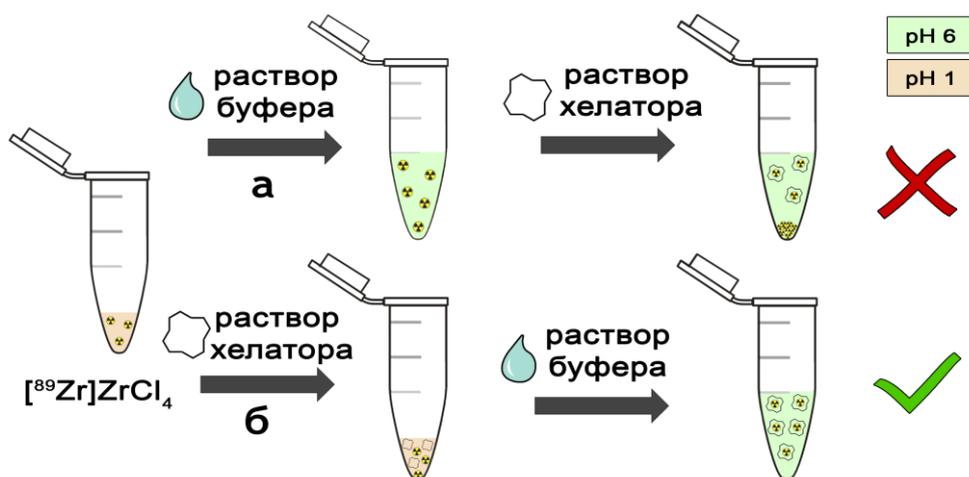


Рисунок 9. Порядок смешения реагентов при синтезе комплексов  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{-DFO}$  для  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{-}$ хлорида.

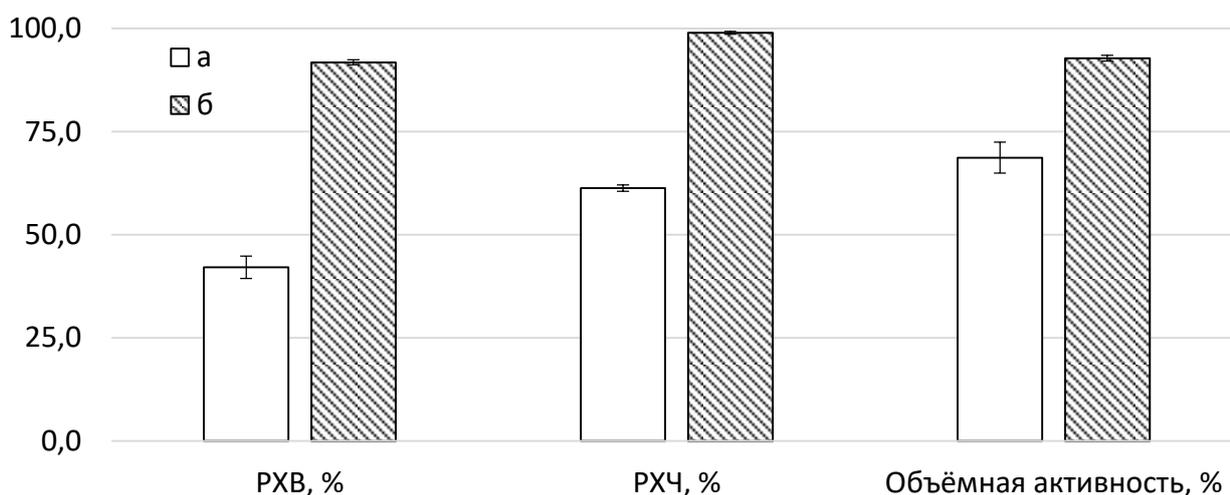


Рисунок 10. Влияние порядка смешения реагентов (а, б) на РХЧ и РХВ для  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида.

#### *Химическая и радионуклидная чистота*

Для оценки эффективности очистки использованных методов получения растворов  $^{89}\text{Zr}$  от примесных металлов был проведён эксперимент с модельными растворами, полностью повторяющими технологию получения  $^{89}\text{Zr}$  (таблица 4).

Таблица 4. Определение примесей металлов в модельных растворах для различных методов.

Сорбент	ZR		ТВР		Chelex-100	
	До очистки	После очистки	До очистки	После очистки	До очистки	После очистки
Fe (мкг)	16340 ± 270	2,6 ± 0,3	14580 ± 900	12780 ± 750	13520 ± 1200	10686 ± 1200
Cu (мкг)	19397 ± 440	50 ± 18	16550 ± 570	23 ± 21	19880 ± 240	170 ± 22
Al (мкг)	416200 ± 5900	52 ± 46	179510 ± 2100	260 ± 250	10690 ± 140	6910 ± 440
Pb (мкг)	9620 ± 130	6,4 ± 6,0	13960 ± 900	93 ± 14	6690 ± 430	6,6 ± 2,3
Zn (мкг)	10730 ± 380	<100	10830 ± 490	<100	23810 ± 660	<100
Y (мкг)	19340 ± 280	107 ± 25	18790 ± 230	320 ± 130	н/о	н/о

н/о – определение не проводилось

Наиболее эффективная очистка достигается при использовании смолы ZR. Примесные металлы практически не задерживаются на колонке. Кроме того, только метод, основанный на гидроксаматной смоле ZR, позволяет проводить эффективную очистку от Fe. Fe в данном случае является критической примесью, поскольку имеет большое сродство к основному хелатору циркония – DFO. Для метода на основе смолы ТВР концентрация примесных металлов в конечном растворе на порядок больше. Fe практически количественно сорбируется и десорбируется с колонки параллельно с  $^{89}\text{Zr}$ . Для смолы Chelex-100 высокие коэффициенты очистки не требуется, поскольку удаление основных примесей осуществляется на смоле ZR, а Chelex-100 используется для получения растворов в необходимой химической форме.

Определение радионуклидной чистоты полученных растворов показало, что получение  $^{89}\text{Zr}$  в различных химических формах с использованием сорбентов (ZR+Chelex-100 или ТВР) не оказывает влияние на РНЧ. Более того, не было выявлено каких-либо существенных различий между методами, основанными на смолах ZR+Chelex-100 и смоле ТВР (РНЧ для обоих методов  $>99,99\%$ ). В исходном растворе [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-хлорида (ЗАО «Циклотрон», для выделения использовался метод ионного обмена) были обнаружены радионуклидные примеси (РНП)  $^{56}\text{Co}$ ,  $^{57}\text{Co}$  и  $^{65}\text{Zn}$  (таблица 5), образование которых возможно из конструкционных материалов или примесей, входящих в состав мишени, а так же две основные РН примеси -  $^{88}\text{Y}$  и  $^{88}\text{Zr}$ , которые образуются в результате побочных ядерных реакций.  $^{88}\text{Y}$  является продуктом распада  $^{88}\text{Zr}$ , поэтому содержится даже в очищенных растворах.

Таблица 5. Содержание РН примесей в растворах  $^{89}\text{Zr}$ .

РН	$T_{1/2}$ (сут)	Активность, Бк		
		Исходный раствор ZrCl <sub>4</sub>	Метод очистки	
			ТВР	Zr+Chelex-100
$^{56}\text{Co}$	77,23	$499,6 \pm 64,2$	$13,8 \pm 5,1$	$<0,1$
$^{57}\text{Co}$	271,8	$9,5 \pm 2,7$	$<0,1$	$<0,1$
$^{65}\text{Zn}$	244,0	$2051,2 \pm 229,4$	$4,1 \pm 4,5$	$<0,1$
$^{88}\text{Y}$	106,6	$402,4 \pm 48,1$	$115,0 \pm 14,0$	$97,1 \pm 11,5$
$^{88}\text{Zr}$	83,0	$605,0 \pm 70,9$	$177,4 \pm 21,0$	$148,2 \pm 18,0$
$^{89}\text{Zr}$	3,26	$100 \times 10^6$	$30 \times 10^6$	$25 \times 10^6$
Суммарное содержание РНП, %		0,0036	0,0010	0,0010

Далее было проведено сравнение эффективности комплексообразования растворов  $^{89}\text{Zr}$ , полученных различными методами с различными количествами хелатора DFO для оценки эффективной молярной активности (рисунок 11). Эффективная молярная активность является важной характеристикой, показывающей отношение активности радионуклида к общему количеству веществ, вступающих в реакцию комплексообразования с хелатором. Наиболее высокая эффективность комплексообразования была достигнута при использовании [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-хлорида (порядок смешения – б), полученного по безоксалатной технологии (ТВР). При сравнении образцов [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-оксалата и [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-цитрата, полученных различными методами можно отметить более высокое значение РНЧ для образцов, полученных двухступенчатым методом (смола ZR + Chelex-100).

Несмотря на высокие значения РНЧ для комплексов, полученных с использованием [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-хлорида, его применение в технологии синтеза РФЛП вызывает ряд вопросов. Во-первых, при конверсионном методе получения [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-хлорида в большинстве случаев не

контролируется содержание щавелевой кислоты, что приводит к различиям в результатах синтезов с использованием данных растворов. Во-вторых, при использовании «чистых» растворов  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида фактически невозможно проведение синтеза с использованием прекоњуогированных mAb (рисунок 12). Или инактивация mAb в кислой среде, или низкие выходы и большой процент гидролизованного циркония-89 при pH 7. В связи с этим применение  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида является более предпочтительным для мечения небольших молекул и пептидов (например, PSMA-617), устойчивых в кислой области pH.

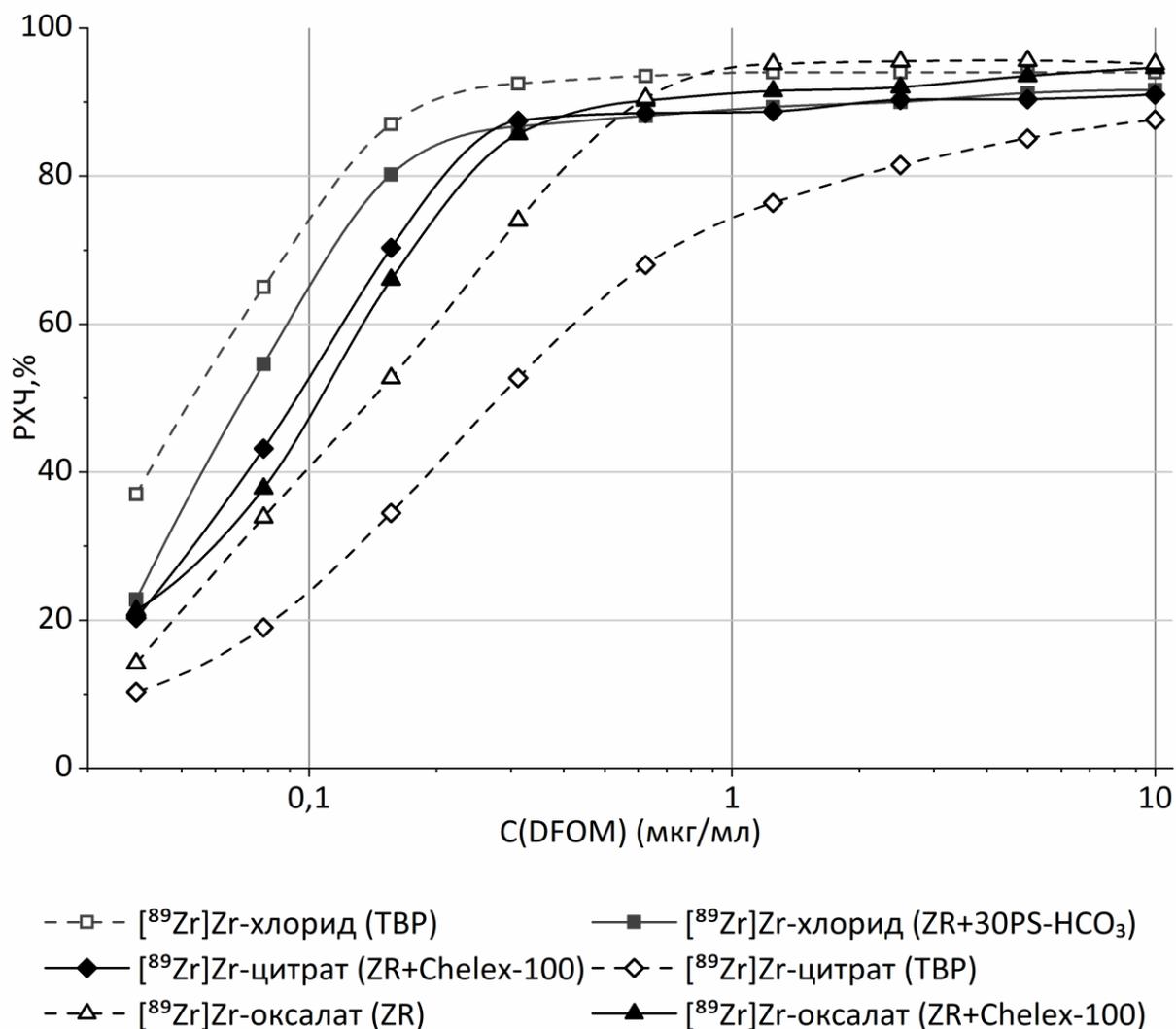


Рисунок 11. Зависимость РХЧ комплекса  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -DFO от концентрации хелатора для различных химических форм  $^{89}\text{Zr}$ , планки погрешностей опущены для ясности.

С хелатором p-Bn-NCS-DFO, используемым в синтезе радиоиммуноконъюгатов (рисунок 8), была получена схожая зависимость (рисунок 11). За исключением того, что при увеличении концентрации хелатора в реакционном растворе пропорционально уменьшалась активность  $^{89}\text{Zr}$  в растворе после синтеза.

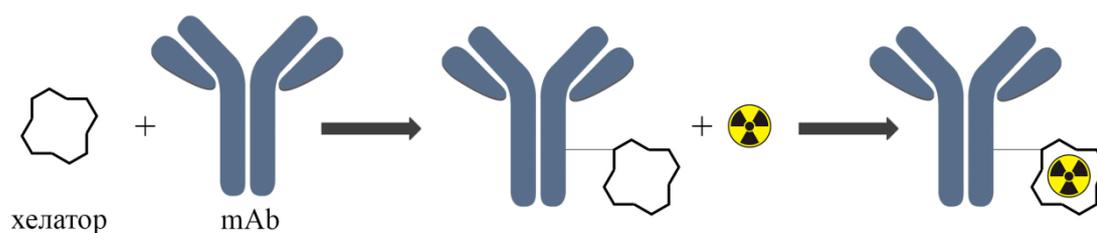


Рисунок 12. Синтез радиоиммуноконъюгатов с прекоњуогированием антител (post-labelling).

Данная тенденция наблюдалась для всех химических форм, при этом наиболее значительное снижение происходило при использовании растворов  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида и  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата. Предположительно, данный факт связан с более высокой липофильностью хелатора p-Bn-NCS-DFO и осаждением/сорбцией полученных комплексов. Однако при синтезе РФЛП проводится предварительная конъюгация p-Bn-NCS-DFO с mAb, после чего выполняется гель-фильтрация и мечение (рисунок 12). В связи с этим, можно предположить, что изменение химической формы не окажет существенного влияния на синтез радиоиммуноконъюгатов. В целом можно отметить высокую перспективность  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата для применения в технологии РФЛП (таблица 6).

Таблица 6. Сравнение химических форм  $^{89}\text{Zr}$

	$[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалат	$[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорид	$[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрат
Простота получения	✓		✓
Стабильность	✓		✓
Отсутствие токсичности		✓	✓
Простая процедура мечения	✓		✓
Высокий РХВ	✓	✓*	✓

\* при использовании порядка смешения реагентов б

$[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрат может быть получен методом с использованием смол ZR и Chelex-100, который обеспечивает высокий выход и высокие коэффициенты очистки. Кроме того, растворы  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата и  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата с изотонической концентрацией и значениями pH, близкими к нейтральным, являются более подходящими для практического применения. Основным отличием от широко используемых растворов оксалата натрия является физиологическая приемлемость растворов цитрата натрия, что делает необязательной стадию очистки конечного продукта. При этом растворы  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата являются более стабильными и удобными в обращении, чем растворы  $[^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида, и могут использоваться для синтеза комплексов и препаратов  $^{89}\text{Zr}$  с высокой молярной активностью.

## Выводы

- Разработан оригинальный метод двухступенчатой очистки  $^{89}\text{Zr}$  на сорбентах ZR и Chelex-100 для получения физиологически приемлемых растворов  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата и  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата с высоким выходом ( $>90\%$ ), высокой объёмной активностью ( $>90\%$   $^{89}\text{Zr}$  в 1 мл элюата), высокой радиохимической, химической и радионуклидной чистотой.
- Разработаны системы, позволяющие более достоверно определять РХЧ растворов и комплексов  $^{89}\text{Zr}$ , по сравнению с литературным методом ТСХ анализа  $^{89}\text{Zr}$  (ITLC-SG / 50 мМ ДТПА).
- Экспериментально показана пригодность полученных растворов для синтеза РФЛП на примере синтеза комплексов с DFO. Выбор химической формы  $^{89}\text{Zr}$  оказывает значительное влияние на эффективность комплексообразования. Растворы  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -хлорида являются стабильными только в сильноокислых средах, что существенно ограничивает их применение. Растворы  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата и  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата остаются стабильными как минимум в течение 14 суток при pH 6 и являются более универсальными для синтеза широкого спектра соединений на основе циркония-89.
- Впервые предложено использование  $^{89}\text{Zr}$  в форме  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата для синтеза комплексов и препаратов  $^{89}\text{Zr}$ . Растворы  $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата являются стабильными, а протокол мечения более прост в реализации. Кроме того, растворы цитрата натрия, в отличие от растворов оксалата, являются физиологически приемлемыми и разрешены для внутривенного введения, что снимает дополнительные токсикологические ограничения для парентерального использования полученных препаратов в процедурах ПЭТ.

### Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Larenkov, A., **Bubenschikov**, V., Makichyan, A., Zhukova, M., Krasnoperova, A., Kodina, G. (2019). Preparation of Zirconium-89 Solutions for Radiopharmaceutical Purposes: Interrelation Between Formulation, Radiochemical Purity, Stability and Biodistribution. *Molecules*, 2019. T. 24, N 8, C. 1534. doi:10.3390/molecules24081534
2. В.Б. **Бубенщиков**, А.А. Ларенков, Г. Е. Кодина. Получение растворов  $^{89}\text{Zr}$  для синтеза радиофармпрепаратов. *Радиохимия*, 2021, Т. 63, N 3, С. 281-295. doi: 10.31857/S00338311210100XX  
/ Bubenshchikov V. B., Larenkov A. A., Kodina G. E. Preparation of  $^{89}\text{Zr}$  solutions for radiopharmaceuticals synthesis // *Radiochemistry*. – 2021. – Т. 63. – №. 3. – С. 369-383. doi: 10.1134/S1066362221030152
3. В.Б. **Бубенщиков**, А.А. Ларенков. Хелатирующие агенты для циркония-89 в синтезе радиофармацевтических препаратов: текущее состояние и перспективы развития. *Координационная химия*, 2022. Т. 48, N 11. С. 647–668. doi: 10.31857/S0132344X22110020  
/ Bubenshchikov V. B., Larenkov A. A. Chelating Agents for Zirconium-89 in the Synthesis of Radiopharmaceuticals: Current State and Prospects of Development. *Russian Journal of Coordination Chemistry*, 2022. T. 48. N. 11. C. 675-695. doi: 10.1134/S1070328422110021
4. **Bubenshchikov**, V, Makichyan, A, Larenkov, A. The impact of zirconium-89 solution formulation on the efficiency of [ $^{89}\text{Zr}$ ]Zr-deferoxamine synthesis. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 2022, T.65, N 13. С. 326-337. doi: 10.1002/jlcr.4003

### Тезисы докладов

1. В.Б. **Бубенщиков**, А.А. Ларенков. Разработка процедуры выделения и очистки  $^{89}\text{Zr}$  для РФП // Сборник трудов школы-конференции молодых учёных с международным участием «Ильинские чтения». ГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России – Москва, 2018. – 158 с.
2. В.Б. **Бубенщиков**, А.А. Ларенков. Технология получения препаратов циркония-89 для ядерной медицины // Материалы IX научной конференции молодых ученых "Инновации в химии: достижения и перспективы – Москва: Издательство «Перо», 2018.
3. V.B. **Bubenschikov**, M.V. Zhukova, A.S. Krasnopyorova, A.Ya. Maruk, A.A. Larenkov. Physiological  $^{89}\text{Zr}$ -Oxalate Solution for PET Diagnosis: Purification, Formulation, Biological Evaluation // *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry* – 2018. – № 7., Т 3. <https://doi.org/10.1186/s41181-018-0041-4>
4. В.Б. **Бубенщиков**, А.Г. Макичян, А.А. Ларенков. Разработка технологии получения высокочистых растворов  $^{89}\text{Zr}$  как активной фармацевтической субстанции для ядерной

медицины // Сборник тезисов IX Российской конференции с международным участием «Радиохимия 2018». – Санкт-Петербург, 2018. – 536 с.

5. A. Larenkov, **V. Bubenschikov**, A. Makichyan, G. Kodina. Preparation of  $^{89}\text{Zr}$ -Oxalate Isotonic Solution for Nuclear Medicine // European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. – 2018. – № 45. – С.S1-S844. <https://doi.org/10.1007/s00259-018-4148-3>

6. **В.Б. Бубенщиков**, А.Г. Макичян, А.А. Ларенков Ядерная медицина: разработка технологии получения АФС для синтеза РФП  $^{89}\text{Zr}$  // Материалы I межрегиональной молодежной научной конференции «Достижения и перспективы молодых ученых». ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России – Москва, 2018. – 158 с.

7. A. Larenkov, **V. Bubenschikov**, G. Kodina. Zirconium-89 Solutions: Preparation, Formulation, Analysis and Comparison of Applicability for Radiopharmaceutical Purposes // Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals. – 2019. – № 62. – С.S123-S588. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3725>

8. А.А. Ларенков, **В.Б. Бубенщиков**, А.Г. Макичян, М.В. Жукова, Г.Е. Кодина. Приготовление растворов  $^{89}\text{Zr}$  для радиофармацевтических целей: Взаимосвязь между составом, радиохимической чистотой, Стабильностью и биораспределением. // Сборник тезисов докладов III Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы разработки, производства и применения радиофармацевтических препаратов – Радиофарма-2019» / под ред. Г.Е. Кодиной и А.Я. Марук. ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России – Москва, 2019. – 96 с.

9. **В.Б. Бубенщиков**, А.Г. Макичян, А.А. Ларенков. Разработка технологии получения растворов  $^{89}\text{Zr}$ -цитрата как активной фармацевтической субстанции // Сборник тезисов докладов III Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы разработки, производства и применения радиофармацевтических препаратов – Радиофарма-2019» / под ред. Г.Е. Кодиной и А.Я. Марук. ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России – Москва, 2019. – 96 с.

10. А.Г. Макичян, **В.Б. Бубенщиков**, А.А. Ларенков. Анализ радиохимической чистоты препаратов на основе  $^{89}\text{Zr}$  // Сборник тезисов докладов III Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы разработки, производства и применения радиофармацевтических препаратов – Радиофарма-2019» / под ред. Г.Е. Кодиной и А.Я. Марук. ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России – Москва, 2019. – 96 с.

11. **В.Б. Бубенщиков**, А.Г. Макичян, А.А. Ларенков. Разработка технологии получения АФС  $^{89}\text{Zr}$ -цитрат // Материалы II межрегиональной молодежной научной конференции «Достижения и перспективы молодых ученых». ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России – Москва, 2019. – 44 с.

12. **В.Б. Бубенщиков**, А.Г. Макичян, А.А. Ларенков. Сравнение различных методов получения комплексов  $^{89}\text{Zr}$  и анализ их радиохимической чистоты // Сборник трудов школы-конференции молодых учёных и специалистов «Ильинские чтения». ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России – Москва, 2019. – 134 с.
13. **В.Б. Бубенщиков**, А.Г. Макичян, А.А. Ларенков. Получение растворов циркония-89 для синтеза РФЛП // Сборник аннотаций докладов XVI Курчатовской междисциплинарной молодёжной научной школы. НИЦ «Курчатовский институт» – Москва, 2019.
14. **В.Б. Бубенщиков**, А.Г. Макичян, А.А. Ларенков. Получение высокочистых растворов циркония-89 для синтеза РФЛП // Сборник трудов школы-конференции молодых учёных и специалистов «Ильинские чтения». ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России – Москва, 2020. – 131 с.
15. **В.Б. Бубенщиков**, А.Г. Макичян, А.А. Ларенков. Получение растворов циркония-89 для синтеза радиофармацевтических препаратов // Сборник тезисов докладов IV Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы разработки, производства и применения радиофармацевтических препаратов – Радиофарма-2021» / под ред. Г.Е. Кодиной, А.А. Лабушкиной. ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России – Москва, 2021. – 84 с.
16. **В.Б. Бубенщиков**, А.Г. Макичян, А.А. Ларенков. Получение и сравнение предшественников циркония-89 для ядерной медицины // Сборник тезисов X Российской конференции с международным участием «Радиохимия 2022». – Санкт-Петербург, 2022. – 545 с.