

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Бубенщикова Виктора Борисовича «Получение высокочистых препаратов ^{89}Zr , пригодных для использования в радионуклидной диагностике», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.13 - Радиохимия

Представленная диссертация посвящена изучению способов получения ^{89}Zr в стабильной химической форме, непосредственно применимой в синтезе радиофармацевтических лекарственных препаратов (РФЛП) для диагностики различных заболеваний методом позитрон-эмиссионной томографии (ПЭТ). ^{89}Zr расширяет круг доступных ПЭТ-радионуклидов и, благодаря сравнительно большому периоду полураспада ($T_{1/2} = 78,42$ ч) и способности образовывать прочные комплексы с различными хелаторами, перспективен для визуализации биологических процессов с медленной фармакокинетикой и диагностики широкого спектра заболеваний, в первую очередь, онкологических. В связи с этим, **актуальность работы** и ее практическая значимость не вызывают сомнений.

Цель работы состояла в разработке метода получения растворов ^{89}Zr для синтеза меченых молекул и последующего применения в технологии РФЛП. Для достижения поставленной цели автором решены следующие научно-практические задачи:

- разработка методов получения ^{89}Zr в фармацевтически приемлемой форме, оценка стабильности растворов ^{89}Zr , полученных различными методами, и пригодности для синтеза РФЛП на примере комплексообразования с хелатором дефероксамином (ДФО);
- разработка систем подвижной и неподвижной фаз для анализа радиохимической чистоты растворов и комплексов ^{89}Zr методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) и выбор химической формы ^{89}Zr , наиболее применимой в синтезе РФЛП.

Следует отметить, что результаты работы имеют существенную **практическую ценность** для дальнейшей разработки диагностических ПЭТ-препаратов. Автором предложено и обосновано использование ^{89}Zr в форме стабильных и безопасных для внутривенного введения цитратных комплексов, упрощающее протокол мечения. Особое внимание уделено автоматизации процесса получения $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -оксалата и $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr}$ -цитрата, включая сравнение качества продукта, полученного вручную и с помощью радиофармацевтического модуля, и оптимизацию отдельных стадий для снижения технологических потерь.

Вкупе с важными практическими достижениями, в работе получены результаты, обладающие **теоретической значимостью и научной новизной**:

- изучена сорбция ультрамикрочастиц Zr(IV) на различных сорбентах, включая анионообменную, хелатную и экстракционно-хроматографические смолы. На основе полученных данных впервые предложен метод двухстадийного получения растворов ^{89}Zr с помощью экстракционно-хроматографической смолы, содержащей производные гидроксамовой кислоты в качестве экстрагента (ZR-resin), и хелатной смолы Chelex-100;
- предложены и испытаны ТСХ-системы для идентификации различных химических форм Zr(IV), комбинированное применение которых позволяет с большей точностью и воспроизводимостью определять радиохимическую чистоту как исходных растворов ^{89}Zr , так и меченых соединений.

Диссертация состоит из введения, трех глав, выводов, списка литературы, а также включает приложения и список условных обозначений и сокращений. Работа изложена на 116 страницах, содержит 45 рисунков, 36 таблиц и 233 библиографические ссылки.

Во введении обоснована актуальность работы, сформулированы цель и задачи исследования, отражена новизна работы и область практического применения, приведены положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы (глава 1) рассмотрены способы наработки ^{89}Zr , преимущества и недостатки его ядерно-физических характеристик в сравнении с ПЭТ-радионуклидами, вошедшими в медицинскую практику, а также потенциально применимыми. Особое внимание диссертант уделил анализу состояния Zr(IV) в водных растворах, способности комплексообразования с неорганическими и органическими лигандами, стабильности растворов и склонности Zr(IV) к гидролизу. В обзоре рассмотрены хроматографические и экстракционные методы выделения ^{89}Zr из облученной иттриевой мишени, показана необходимость эффективной очистки от Y, Fe и других примесных металлов, способных конкурировать с ^{89}Zr при синтезе целевых комплексов. Литературный обзор адекватно отражает современное состояние исследований в области получения и испытания препаратов на основе ^{89}Zr и обосновывает актуальность выбранной темы и задач, решению которых посвящена диссертационная работа.

Экспериментальная часть (глава 2) содержит описание методик изучения сорбционного поведения ^{89}Zr в статических и динамических условиях, получения растворов ^{89}Zr в различных химических формах. Описаны условия синтеза комплексов ^{89}Zr с производными DFO (DFOM и p-NCS-Bn-DFO), определения радиохимической чистоты (РХЧ) комплексов ^{89}Zr методом

тонкослойной хроматографии и радиохимического выхода (РХВ) продуктов синтеза.

В главе 3 изложены и проанализированы результаты исследований. Автором разработаны и испытаны хроматографические методы получения ^{89}Zr в форме оксалата, хлорида и цитрата. Формы состояния Zr(IV) в полученных растворах подробно изучены с помощью описанных в литературе и предложенных автором ТСХ-систем в зависимости от кислотности среды и концентрации лиганда. Следует отметить, что в случае Zr(IV) , проявляющего сложное химическое поведение в водных растворах, данные, полученные в разных ТСХ-системах, не всегда коррелируют. Например, при анализе образцов ^{89}Zr -оксалата с использованием в качестве неподвижной фазы пластин со стекловолокном, импрегнированным силикагелем (ITLC-SG), и в качестве элюентов в одном случае – 50 мМ раствора ДТПА (рН 7), а в другом – 4 об.% ТФУ в смеси $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ (1:1), автор столкнулся с несоответствием в количестве гидролизованного ^{89}Zr . В случае первой ТСХ-системы, известной из литературы, при определенных значениях рН и концентрации оксалат-ионов значительная часть активности оставалась на старте хроматограммы, что предполагает присутствие в растворе гидролизованного ^{89}Zr , тогда как в случае второй ТСХ-системы, предложенной автором, при тех же условиях продукты гидролиза Zr(IV) не были обнаружены. Тщательное исследование и объяснение подобных несоответствий, на мой взгляд, выходит за рамки диссертации, оставляя задел для дальнейшей работы. Тем не менее, опираясь на известный факт, что гидролизованные ионы металлов накапливаются в основном в печени, автору удалось показать посредством экспериментов с лабораторными животными, что предложенная им ТСХ-система точнее отражает содержание гидролизованных форм ^{89}Zr в препаратах ^{89}Zr -оксалата. Очевидно, с точки зрения доказательства пригодности препарата для дальнейшего применения такой подход является наиболее информативным и прямым.

Наиболее перспективным из разработанных автором методов представляется метод двухстадийного получения растворов ^{89}Zr -оксалата и ^{89}Zr -цитрата на смолах ZR-resin + Chelex-100. Конечные растворы стабильны, характеризуются значением рН, близким к нейтральному, и изотонической концентрацией, что дает возможность их использования в синтезе комплексов и препаратов ^{89}Zr без дополнительной стадии нейтрализации. Не менее важно, что разработанный метод обеспечивает эффективную очистку от стабильных (Fe, Al, Pb и др.) и радиоактивных примесей.

Далее полученные растворы были использованы для исследования комплексообразования ^{89}Zr с производными хелатора дефероксамина (ДФО) – природного сидерофора, образующего прочные комплексы с ионами Fe(III) , Zr(IV) и ряда других металлов. Автором синтезированы комплексы $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr-DFOM}$ и $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr-p-Bn-NCS-DFO}$ и изучено влияние на эффективность синтеза таких факторов, как рН среды, концентрация солигандов (оксалат- или цитрат-ионов) и содержание этилового спирта. Результаты экспериментов показывают, что растворы ^{89}Zr , полученные с помощью предложенных автором методов, могут быть непосредственно использованы в синтезе РФЛП.

Нельзя не отметить усилий диссертанта, направленных на автоматизацию разработанного метода двухстадийного ($\text{ZR-resin} + \text{Chelex-100}$) получения $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr-оксалата}$ и $[\text{}^{89}\text{Zr}]\text{Zr-цитрата}$. Процесс синтеза был автоматизирован на базе радиофармацевтического модуля Modular-Lab PharmTracer (Eckert & Ziegler Eurotop GmbH, Германия) и оптимизирован для получения продукта высокой радиохимической чистоты с приемлемым выходом. Таким образом, созданы условия для масштабирования процесса и получения растворов ^{89}Zr высокой активности, необходимой для рутинного медицинского применения препаратов, меченных этим радионуклидом.

Достоверность результатов работы определяется использованием современных методов исследования, тщательностью постановки экспериментов и критическим анализом полученных данных. Выводы и положения, выносимые на защиту, обоснованы и соответствуют поставленным задачам.

Автореферат соответствует содержанию диссертации. Основные результаты работы отражены в 20 публикациях, из них 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень ВАК и библиографические базы данных Web of Science, Scopus, RSCI, и 16 тезисов докладов на международных и российских научных конференциях.

При общей высокой оценке работы по тексту диссертации возникли следующие **вопросы и замечания**.

1. В разделе 3.1 автор отмечает, что солянокислые растворы после контакта с экстракционно-хроматографической смолой ZR-resin в процессе выделения ^{89}Zr приобретали желтую окраску, что вероятно связано с попаданием экстрагента и продуктов его деструкции в раствор. Осталось неясным, присутствуют ли эти органические примеси в конечном растворе ^{89}Zr и влияют ли они на качество продукта? Не менее важным для дальнейшего использования данного способа является вопрос о радиационной стойкости смолы ZR-resin: не приведет ли выделение ^{89}Zr высокой активности к росту деструкции смолы?
2. Данные по радионуклидному составу исходного и очищенных растворов ^{89}Zr

(таблица 31) представлены неудачно, из них следует, что активность продукта ^{89}Zr после очистки снижается в 3-4 раза, тогда как согласно таблице 22 методы очистки обеспечивают выход $^{89}\text{Zr} > 90\%$.

3. Результаты экспериментов с модельными растворами (таблицы 32 и 33) показывают, что на экстракционно-хроматографических смолах ZR-resin и ТВР достигается эффективное разделение Y(III) и Zr(IV). В то же время, соотношение $^{88}\text{Y}/^{89}\text{Zr}$, исходя из данных таблицы 31, не изменяется после очистки с применением указанных смол. С чем связано это противоречие?

4. Необходимо сравнить разработанные диссертантом методы получения растворов ^{89}Zr с методами, известными из литературы. Критерием сравнения может служить, например, эффективная молярная активность (ЭМА), показывающая отношение активности радионуклида к общему количеству веществ, взаимодействующих с хелатором. Рассчитанные автором значения ЭМА (таблица 37) в большинстве случаев гораздо меньше опубликованных данных (таблица 9). Означает ли это, что полученные в работе растворы ^{89}Zr уступают по качеству растворам, полученным в работах других авторов?

5. Для анализа ^{89}Zr в составе различных соединений автором предложена ТСХ-система "стекловолокно, импрегнированное кремниевой кислотой (ITLC-SA) / 50 мМ ЭДТА (рН 5)". Такая же ТСХ-система описана в работе [225], поэтому неясно, в чем заключается вклад автора в ее разработку или использование.

В работе встречаются неточности, орфографические ошибки и опечатки, например:

- в уравнении (1) гидролиза и полимеризации Zr(IV) заряд гидроксокомплекса циркония равен « $4n-m$ » вместо « $4m-n$ »;
- в структурных формулах ДТПА (рис. 6) и биоконъюгата (рис. 8) пропущен атом азота;
- пропущен раздел с номером 3.5.

Вместе с тем, сделанные замечания не снижают общую положительную оценку работы, выполненной на высоком научном и экспериментальном уровне.

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.4.13 – Радиохимия в области исследований «5. Методы выделения, разделения и очистки радиоактивных элементов и изотопов. Экстракционные, сорбционные, электрохимические, хроматографические процессы разделения в радиохимии. Ядерно-физические методы в радиохимии; 6. Получение и идентификация меченых соединений. Химические, физико-химические, ядерно-химические и биохимические методы синтеза. Процессы авторадиолиза. Химия ультракороткоживущих радионуклидов. Радиохимические аспекты позитронно-эмиссионной томографии; 10. Применение радионуклидов в химии и

химической технологии. Метод радиоактивных индикаторов. Химические аспекты использования радионуклидов в биологии и медицине».

Диссертация является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена задача получения растворов ^{89}Zr , удовлетворяющих требованиям, применяемым в технологии радиофармацевтических лекарственных препаратов. Решение данной задачи вносит существенный вклад в развитие диагностики онкологических и других социально важных заболеваний методом позитрон-эмиссионной томографии.

По актуальности, объему исследований, научной новизне и практической значимости диссертационная работа В.Б. Бубенщикова соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, в том числе критериям, установленным п. 9 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 (ред. от 25.01.2024) "О порядке присуждения ученых степеней" (вместе с "Положением о присуждении ученых степеней"), а ее автор, Бубенщиков Виктор Борисович, заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.13 – Радиохимия.

Официальный оппонент:

Ермолаев Станислав Викторович, доктор химических наук (специальность 1.4.13 – Радиохимия), ведущий научный сотрудник лаборатории радиоизотопного комплекса Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт ядерных исследований Российской академии наук (ИЯИ РАН).


Адрес организации:

117312, Москва, пр-т 60-летия Октября, 7а

Тел: +7 (495) 850-42-54

e-mail: ermolaev@inr.ru

Я, Ермолаев Станислав Викторович, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.



12.02.2024

Подпись Ермолаева С. В. удостоверяю:

Начальник отдела кадров ИЯИ РАН



Е.А. Горшкова

Сведения об официальном оппоненте

Я, Ермолаев Станислав Викторович, согласен быть официальным оппонентом Бубенщикова Виктора Борисовича по диссертации на тему «Получение высокочистых препаратов ^{89}Zr , пригодных для использования в радионуклидной диагностике» по специальности 1.4.13 – Радиохимия, представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук.

О себе сообщаю:

Ученая степень: доктор химических наук

Шифр и наименование специальности: 1.4.13 – Радиохимия

Должность: ведущий научный сотрудник

Место и адрес работы: ФГБУН Институт ядерных исследований Российской академии наук (ИЯИ РАН), лаборатория радиоизотопного комплекса, 117312, Москва, пр-т 60-летия Октября, 7а

Телефон: +7 (495) 850-42-54

Адрес электронной почты: ermolaev@inr.ru

Научные работы по специальности оппонируемой диссертации:

1. Bravo M.G., Egorova B.V., Vasiliev A.N., Lapshina E.V., Ermolaev S.V., Durymanov M.O. DTPA(DOTA)-Nimotuzumab radiolabeling with generator-produced thorium for radioimmunotherapy of EGFR-overexpressing carcinomas // Current Radiopharmaceuticals, 2023, V. 16(3), P. 233- 242.
2. Matazova E.V., Egorova B.V., Zubenko A.D., Pashanova A.V., Mitrofanov A.A., Fedorova O.A., Ermolaev S.V., Vasiliev A.N., Kalmykov S.N. Insights into Actinium Complexes with Tetraacetates—AcBATA versus AcDOTA: Thermodynamic, Structural, and Labeling Properties // Inorganic Chemistry, 2023, V. 62(31), P. 12223–12236.
3. Ermolaev S.V., Skasyrskaya A.K., Vasiliev A.N. Rapid Elution of ^{226}Th from a Two-Column $^{230}\text{U}/^{226}\text{Th}$ Generator with Diluted and Buffer Solutions // Molecules, 2023, V. 28(8), P. 3548.
4. Vasiliev A.N., Ermolaev S.V., Lapshina E.V., Bravo M.G., Skasyrskaya A.K. Production of ^{230}Pa as a Source for Medical Radionuclides ^{230}U and ^{226}Th Including Isolation by Liquid–liquid Extraction // Solvent Extraction and Ion Exchange, 2022, V. 40(7). P. 735-755.
5. Ermolaev S., Skasyrskaya A., Vasiliev A. A radionuclide generator of high-purity Bi-213 for instant labeling // Pharmaceutics, 2021, V. 13(6), P. 914.
6. Лапшина Е.В., Ермолаев С.В., Жуйков Б.Л. Выделение $^{117\text{m}}\text{Sn}$ из облученного протонами интерметаллида титан-сурьма // Радиохимия, 2021, Т. 63, № 6, С. 559-571.
7. Zhuikov B., Ermolaev S. Adsorption from liquid metals: an approach for recovery of radionuclides from irradiated targets // Radiochimica Acta, 2021, V. 109(2), P. 99-107.
8. Жуйков Б.Л., Ермолаев С.В. Радиоизотопные исследования и разработки на линейном ускорителе ИЯИ РАН // УФН, 2021, Т. 191, №12, С. 1387-1400.

9. Ermolaev S.V., Zhuikov B.L., Kokhanyuk V.M., Matushko V.L., Srivastava S.C. Cross sections and production yields of ^{117m}Sn and other radionuclides generated in natural and enriched antimony with protons up to 145 MeV // *Radiochimica Acta*, 2020, V. 108(5), P. 327-351.
10. Libanova O.N., Ermolaev S.V., Golubeva E.S., Matushko V.L. Experimental cross sections and mass distribution of fission products of thorium-232 irradiated with protons in energy range 20–140 MeV // *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 2020, V. 324, P. 1435–1454.
11. Бетенеков Н. Д., Ермолаев С. В., Скасырская А. К. Разработка $^{225}\text{Ac}/^{213}\text{Bi}$ генератора с использованием двух неорганических сорбентов. Процессы, происходящие с участием радионуклидов подсемейства ^{225}Ac // *Радиохимия*, 2020, Т. 62, № 4, С. 337-344.
12. Vasiliev A.N., Ermolaev S.V., Lapshina E.V., Zhuikov B.L., Betenekov N.D. $^{225}\text{Ac}/^{213}\text{Bi}$ generator based on inorganic sorbents // *Radiochimica Acta*, 2019, V. 107(12), P. 1203-1211.
13. Бетенеков Н.Д., Денисов Е.И., Васильев А.Н., Ермолаев С.В., Жуйков Б.Л. Перспективы создания генератора $^{225}\text{Ac}/^{213}\text{Bi}$ с использованием гидроксидных неорганических сорбентов // *Радиохимия*, 2019, Т. 61, № 2, С. 159-167.
14. Ермолаев С.В., Скасырская А.К. Изучение движения генетически связанных радионуклидов ^{221}Fr и ^{213}Bi в хроматографической среде // *Радиохимия*, 2019, Т. 61, № 1, С. 41-50.

Согласен на размещение сведений в сети «Интернет» на сайте ФГБУН Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН.

Ермолаев Станислав Викторович

Подпись С.В. Ермолаева удостоверяю:

Заместитель директора ИЯИ РАН
по научной работе

12.02.2024



А.В. Фещенко/