

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу ЛАРЕНКОВА АНТОНА АЛЕКСЕЕВИЧА на тему «Получение препаратов ^{68}Ga высокой химической и радиохимической чистоты для позитронно-эмиссионной томографии», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.14 - Радиохимия

Диссертационная работа А.А. Ларенкова посвящена разработке методики обращения с элюатом генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$, позволяющей получить раствор короткоживущего радиоактивного изотопа ^{68}Ga с ультранизким содержанием материнского изотопа ^{68}Ge и примесных ионов металлов, пригодный для синтеза радиофармацевтических препаратов (РФП) для позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) с высокой удельной активностью. Распад изотопа ^{68}Ga на 88% происходит с испусканием позитрона (остальные 12% - электронный захват). Радиохимические характеристики этого радионуклида - $T_{1/2} = 68,1$ мин, $E_{\beta^+} = 1,9$ МэВ – делают его очень привлекательным для использования в ПЭТ, в первую очередь потому, что, в отличие от других позитрон излучающих короткоживущих радионуклидов (^{18}F , ^{15}O , ^{13}N , ^{11}C), для его получения не требуется сложного и дорогостоящего циклотронного оборудования. Значительно более доступный генератор $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ позволяет получать исходный радионуклид и проводить синтез РФП непосредственно в ПЭТ центре, причем время жизни материнского изотопа (287 суток) таково, что позволяет элюировать раствор ^{68}Ga несколько раз в день. Однако, для качества синтезируемого на основе ^{68}Ga РФП (радиохимического выхода и удельной активности) принципиальное значение имеет чистота элюата генератора. Поэтому работа, направленная на разработку технологии глубокой очистки растворов ^{68}Ga , получаемых из радионуклидного генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$, является в настоящее время важной и актуальной.

Работа изложена на 154 страницах текста (из них 9 стр. – Приложения), основной ее текст состоит из введения, пяти глав, выводов, благодарности, списка сокращений и условных обозначений и списка цитируемой литературы (118 наименований). Диссертация содержит 47 таблиц (4 из них с исходными экспериментальными данными – в Приложении) и 61 рисунок.

Научная новизна работы заключается в том, что на основе систематического изучения закономерной сорбционно-десорбционного ионообменного поведения ^{68}Ga в смешанных солянокислых водно-ацетоновых и водно-этанольных растворителях найдены условия, при которых процессы сорбции ^{68}Ga последовательно и эффективно протекают на катионо- и анионообменных смолах без изменения состава растворителя и при низкой концентрации соляной кислоты. Следствием этого является возможность получения концентрированных растворов радионуклида ^{68}Ga с высокой химической и радиохимической чистотой.

Практическая значимость работы состоит в разработке методики получения из элюата генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ препарата ^{68}Ga , позволяющего синтезировать на его основе различные РФП с высокой удельной активностью и высоким качеством. Разработанная методика внедрена в автоматизированном модуле установки синтеза РФП на основе ^{68}Ga , а полученные при этом препараты применены в доклинических исследованиях в ФБГУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна.

Достоверность и обоснованность полученных результатов обеспечены использованием традиционной для ионообменных экспериментов методики проведения экспериментов, применением современных физико-химических методов исследования (ЯМР, XANEX, EXAFS) для получения информации, необходимой для объяснения получаемых закономерностей, анализом погрешностей, возможных на всех стадиях эксперимента. Разработанная в работе методика прошла экспертизу и аттестована как «Методика измерения радиохимической чистоты радиофармацевтических препаратов на основе ^{68}Ga » (МУК 4.3 012-2012).

Диссертационная работа оформлена качественно, ее построение логично вытекает из поставленной цели работы. В автореферате диссертации, изложенном на 19 стр. текста, адекватно отражены основные результаты, полученные в работе. По результатам работы опубликовано 15 печатных работ, в числе которых 2 статьи из Перечня ВАК и 2 патента, тезисы 11-х докладов на российских и международных конференциях.

Во **Введении** обращается внимание на достоинства использования РФП на основе ^{68}Ga в ПЭТ диагностике и проблемы, связанные с синтезом таких препаратов, актуальность работ, направленных на их решение. На основе этого формулируются цель работы, задачи, которые необходимо в ней решить, научная и практическая значимость полученных результатов.

Первая глава представляет собой обширный (изложенный на 61 стр. текста) литературный обзор, посвященный рассмотрению возможностей использования ^{68}Ga в ядерной медицине. Особое внимание уделяется вопросам влияния чистоты препарата ^{68}Ga на процесс синтеза на его основе РФП. Для получения рецепторспецифичного РФП используются бифункциональные хелатирующие агенты (БХА), роль которых сводится к созданию своего рода мостика между природными или синтетическими пептидами, способными к связыванию с опухолевыми клетками-рецепторами, и радионуклидом. Наиболее известными хелатирующими агентами для ^{68}Ga являются полиазоциклические производные уксусной кислоты DOTA и NOTA. По своей химической природе эти БХА способны образовывать хелатокомплексы с иными ионами металлов (Fe^{3+} , Al^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}). Поэтому при получении РФП на основе ^{68}Ga с высокой удельной активностью содержание других ионов металлов должно быть минимизировано, причем, до тем более низкого уровня, чем выше желаемая удельная активность РФП. При этом методика очистки должна быть экспрессной, без использования агрессивных или токсических химических веществ. В обзоре рассматриваются используемые методы очистки элюата генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$, основанные на использовании анионообменников при относительно высокой концентрации соляной кислоты в растворе, или катионообменников при использовании низкой концентрации соляной кислоты, но водно-органических (вода-ацетон, вода-этанол) растворителей. На основании анализа рассмотренных литературных данных автор делает вывод о целесообразности разработки методики очистки элюата путем совместного использования очистки на катионите и анионите без концентрированных кислот.

Вторая глава работы посвящена изложению методических вопросов проводимых экспериментов. В ней уделено внимание чистоте используемых реактивов (все они либо «ОСЧ», либо фармацевтического качества); рассматривается статическая методика определения коэффициентов распределения ^{68}Ga между фазой ионита и раствором (D_g), величина которого измерялась по активности раствора до и после процесса сорбции с использованием радиометров различных производителей. Для опытов в динамических

условиях использовали хроматографические колонки диаметром 2,1 мм. Определение концентрации примесных металлов проводили на масс-спектрометре с ИСП Elan-1600 (Perkin Elmer, США). Рассмотрена методика синтеза РФП и определения его радиохимической чистоты (выхода реакции мечения) методом тонкослойной хроматографии с использованием сканера радиохроматограмм Mini Scan, методики снятия ЯМР и рентгеноабсорбционных (XANEX/EXAFS) спектров.

В третьей главе приведены основные полученные в работе экспериментальные результаты. В ней приводятся значения коэффициентов распределения ^{68}Ga D_g , полученные в статических условиях, для солянокислых растворов в смешанных растворителях вода-ацетон и вода-этанол при использовании катионообменной смолы Dowex 50Wx8 (D_g^{cat}) и анионообменной смолы Dowex 1x8 (D_g^{an}). Измерения, сделанные, очевидно, при комнатной температуре, проведены в широком диапазоне концентраций органического компонента растворителя (0-90 об. %) и соляной кислоты (0,1-3,0 М).

Для растворителя вода-ацетон в экспериментах на катионите найдено, что при увеличении концентрации HCl значения D_g^{cat} уменьшаются. При этом полученные зависимости от концентрации ацетона имеют вид кривых с максимумом, причем при увеличении концентрации HCl положение максимума смещается в сторону меньших концентраций: $D_g^{\text{cat}} \approx 40000$ при $[\text{HCl}] = 0,1$ М и $[\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}] = 60$ об. % и $D_g^{\text{cat}} \approx 6$ при $[\text{HCl}] = 3,0$ М и $[\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}] = 20$ об. %. В экспериментах с использованием анионита, наоборот, найдено, что при увеличении концентрации HCl значения D_g^{an} увеличиваются, а тенденция в положении максимума на зависимости D_g^{an} от концентрации ацетона сохраняется: $D_g^{\text{an}} \approx 14$ при $[\text{HCl}] = 0,1$ М и $[\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}] = 70$ об. % и $D_g^{\text{an}} \approx 585$ при $[\text{HCl}] = 3,0$ М и $[\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}] = 30$ об. %.

Характер указанных зависимостей при использовании катионита сохраняется и для смешанного растворителя вода-этанол: $D_g^{\text{cat}} \approx 42000$ при $[\text{HCl}] = 0,1$ М и $[\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}] = 80$ об. % и $D_g^{\text{cat}} \approx 7$ при $[\text{HCl}] = 3,0$ М и $[\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}] = 40$ об. %. Для анионита характер полученных зависимостей иной. При $[\text{HCl}] = 0,1-1,0$ М максимум на зависимости $D_g^{\text{an}} \sim f([\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}])$ не наблюдается, а D_g^{an} уменьшается от 1600 до 380. При дальнейшем увеличении $[\text{HCl}]$ на зависимостях от $[\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}]$ появляется максимум и при $[\text{HCl}] = 3,0$ М $(D_g^{\text{an}})_{\text{max}} \approx 1360$ при $[\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}] = 40$ об. %.

Автор объясняет полученные зависимости исходя из равновесия между ионными формами Ga^{3+} ($\text{Ga}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ и GaCl_4^-), протекающими в смешанных растворителях одновременно с процессами пересольватации, заключающимися в замещении молекул воды молекулами ацетона или этанола. Для водно-этанольных растворов методами XANES, EXAFS ($[\text{Ga}^{3+}] = 0,005$ М) и ЯМР ($[\text{Ga}^{3+}] = 0,02$ М) были проведены подробные исследования состава комплексов Ga^{3+} в зависимости от концентрации HCl и $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Расшифровка полученных спектров XANES/EXAFS позволила сделать вывод о том, что при $[\text{HCl}] = 0,1$ М комплекс состава $[\text{GaCl}_4]^-$ в заметной концентрации появляется в растворе при $[\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}] = 80$ об.%, при увеличении $[\text{HCl}]$ до 0,5 М - при $[\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}] = 40$ об.%, а при $[\text{HCl}] = 2,5$ М комплекс GaCl_4^- фиксируется уже в чисто водном растворе. В соответствии с данными ЯМР сигнал для комплекса GaCl_4^- в чисто водном растворе не зафиксирован даже при $[\text{HCl}] = 5$ М, в то время как в растворе с 70 об.% $[\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}]$ сигнал от GaCl_4^- преобладает.

Четвертая глава посвящена изложению результатов, посвященных исследованию ионообменного поведения Ga^{3+} в динамических условиях в обоих смешанных растворителях. При этом автор решал задачу разработки методики комплексной

переработки элюата генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ и использованием полученных в главе 3 зависимостей коэффициентов распределения D_g^{cat} и D_g^{an} от концентрации HCl и органического компонента растворителя. Задача включала в себя необходимость обеспечения высокой эффективности выделения и концентрирования ^{68}Ga при обеспечении степени очистки препарата от ионов примесных металлов и материнского радионуклида ^{68}Ge , достаточной для синтеза РФП высокого качества.

Для водно-ацетоновых растворов разработанная методика, обеспечивающая суммарный радиохимический выход больше 95%, состоит из следующих стадий: сорбция ^{68}Ga на катионите, его промывка 0,5 М раствором HCl в 50 об.% ацетона, десорбция ^{68}Ga 40 об.% раствором ацетона в воде при $[\text{HCl}] = 2,5$ М с одновременной сорбцией ^{68}Ga на анионите, промывка смолы 95% этанолом (удаление остаточной кислоты и остаточного ацетона) и сушка воздухом, десорбция ^{68}Ga 0,01-0,1 М водным раствором HCl . Количественный анализ содержания примесных ионов металлов и материнского радионуклида в полученном растворе показывает, что концентрация ^{68}Ge уменьшается более чем на 4 порядка, а концентрация ионов Zn , Al , Fe , Cu – в 100-1000 раз.

При использовании растворов вода-этанол разработанная методика отличается тем, что промывка катионообменника проводится 0,5 М раствором HCl в 70 об.% этанола, а десорбция ^{68}Ga с катионита – 2,5 М раствором HCl в 55 об.% этанола. Методика также обеспечивает более чем 95% радиохимический выход при аналогичной вышеприведенной очистке от примесных ионов и материнского радионуклида.

Заключительная **пятая глава** диссертации посвящена описанию результатов применения разработанной методики для кондиционирования элюата генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ автоматизированным методом с использованием кассетного модуля синтеза РФП ModularLab PharmTracer. Проведенные 10 синтезов РФП с использованием смешанного растворителя вода-этанол по основным фармакопейным свойствам свидетельствуют о пригодности разработанной методики получения препарата ^{68}Ga для синтеза РФП.

Таким образом, поставленная в работе задача - разработка технологии глубокой очистки растворов ^{68}Ga , получаемых из радионуклидного генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$, и получение препарата, пригодного для синтеза РФП высокого качества – в диссертационной работе А. А. Ларенкова решена.

По работе, однако, можно сделать некоторые замечания.

1. В работе не обоснован выбор ионообменников, с использованием которых получен основной объем экспериментальных данных. Табл. 14 (стр. 63), приведенная в литературном обзоре, касается сравнения только катионообменников. Единственный раздел работы, в котором используются иные, нежели смолы типа Dowex, ионообменники - раздел 5, где кратко приведены результаты применения картриджей на основе других смол. Не указана также температура, при которой определяются коэффициенты распределения. Очевидно, подразумевается, что температура- комнатная.
2. В тексте работы встречаются неудачные выражения. Например, на стр. 9 в разделе теоретической и практической значимости первоначально утверждается «разработана и испытана установка автоматизированного синтеза РФП на основе ^{68}Ga », а чуть ниже справедливо отмечается, что «имплементирование разработанных технологий в коммерчески доступный автоматизированный кассетный модуль синтеза РФП открывает возможность клинического

применения...». На стр. 8 диссертации и в автореферате (стр. 4) утверждается, что научной новизной работы является проведение систематического изучения ионнообменного поведения радионуклида ^{68}Ga ..., хотя научной новизной могут обладать только результаты такого исследования.

3. Приведенные в литературном обзоре рис. 17, 20, 25, 27-33, 35 являются не более чем картинками без пояснений и, с точки зрения оппонента, работа ничуть бы не потеряла, если бы их в работе не было. Единственный автоматизированный модуль, имеющий отношение к работе, приведен на рис. 34, и повторяется в разделе 5 на рис. 57.
4. Как и во всякой другой работе, в ней есть погрешности оформления. Так, в табл. 19 на стр. 90, судя по данным табл. 3 приложения, перепутаны строки.

Сделанные замечания, скорее, носят характер пожеланий и ни в коей мере не изменяют общей высокой оценки работы, в которой решается важная практическая задача. Диссертация А.А. Ларенкова охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, непротиворечивой методологической платформой, концептуальностью подхода и взаимосвязью выводов. По своему содержанию диссертация отвечает паспорту специальности 02.00.14 – радиохимия в части Формулы специальности «...изучающая химию радиоактивных элементов, ...законы их физико-химического поведения. Она включает синтез меченых соединений», и Области исследования: «2. Состояние и распределение радионуклидов в различных фазах; 5. Методы выделения, разделения и очистки радиоактивных элементов и изотопов; 6. Радиохимические аспекты позитронно-эмиссионной томографии».

Оппонент считает, что диссертация А.А. Ларенкова представляет собой завершенную научно-квалификационную работу, которая направлена на решение задачи, имеющей значение для развития важной для ядерной медицины технологии, обеспечивающей эффективное получение на основе генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ препарата ^{68}Ga для синтеза РФП для ПЭТ томографии. По актуальности, новизне, практической значимости диссертация соответствует требованиям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Автор этой работы – Антон Алексеевич Ларенков – заслуживает присвоения ему искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.14 – радиохимия.

Официальный оппонент,
зав. кафедрой технологии изотопов и водородной
энергетики ФГБОУ ВПО РХТУ им. Д.И. Менделеева,
д.х.н., профессор
тел. +7-495-944-3082, эл. почта – rozenkev@mail.ru

М.Б. Розенкевич

26.05.2005

Подпись профессора Розенкевича М.Б. заверяю
Ученый секретарь РХТУ им. Д.И. Менделеева



Т.В. Гусева