

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
Высшего образования «Национальный исследовательский  
Томский политехнический университет»

На правах рукописи



Садкин Владимир Леонидович

**ПОЛУЧЕНИЕ МЕЧЕННОГО ТЕХНЕЦИЕМ-99М НАНОКОЛЛОИДА НА  
ОСНОВЕ ГАММА-ОКСИДА АЛЮМИНИЯ ДЛЯ МЕДИЦИНСКОЙ  
ДИАГНОСТИКИ**

05.17.02 – Технология редких, рассеянных и радиоактивных элементов

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата технических наук

Научный руководитель:  
д-р техн. наук, профессор  
Скуридин В. С.

Томск – 2014

## Оглавление

Введение.....	4
Глава 1. Методы получения меченных радионуклидами наноразмерных соединений для медицины (литературный обзор).....	11
1.1. Применение и свойства нанокolloидов.....	11
1.2. Получение наноматериалов с радиоактивной меткой.....	17
1.3. Методы получения меченных $^{99m}\text{Tc}$ нанокolloидных препаратов.....	19
1.4. Ядерно-физические характеристики и химические свойства $^{99m}\text{Tc}$ .....	27
1.5. Физико-химические свойства оксида алюминия.....	31
1.6. Общая характеристика процессов адсорбции на границе раствор - твердая фаза.....	35
Глава 2. Материалы и методы исследований.....	42
2.1. Характеристика используемых материалов и оборудования.....	42
2.2. Методика приготовления суспензии из наноразмерного порошка гамма-оксида $\text{Al}_2\text{O}_3$ .....	45
2.3. Методики приготовления растворов используемых реагентов.....	46
2.4. Подготовка хроматографического оксида $\text{Al}_2\text{O}_3$ к проведению адсорбции $^{99m}\text{Tc}$ .....	47
2.5. Методика проведения радиометрических измерений.....	48
2.5.1. Методика определения объемной активности технеция-99м.....	48
2.5.2. Определение степени адсорбции $^{99m}\text{Tc}$ на оксидах алюминия с различной кислотной обработкой.....	49
2.5.3. Методика получения радиохроматограмм.....	49
2.5.4. Определения размера меченных $^{99m}\text{Tc}$ коллоидных частиц методом фильтрации.....	50
2.6. Инструментальный метод определения размеров меченых коллоидов.....	51
2.7. Методика определения химических примесей.....	52
2.8. Методы статистической обработки результатов.....	52

Глава 3. Экспериментальное изучение процесса адсорбции технеция-99м на оксиде алюминия.....	55
3.1. Исследование адсорбции на оксиде $\text{Al}_2\text{O}_3$ пертехнетат-ионов $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ .....	55
3.2. Определение коэффициента распределения $^{99\text{m}}\text{Tc}$ в системе раствор - оксид $\text{Al}_2\text{O}_3$ .....	58
3.3. Изучение влияния общей активности $^{99\text{m}}\text{Tc}$ на величину его адсорбции на оксиде алюминия.....	61
3.4. Изучение процесса восстановления технеция-99м в присутствии Sn (II).....	64
3.5. Проведение процесса адсорбции восстановленного технеция-99м на наноразмерном порошке оксида алюминия.....	68
3.6. Выводы по главе.....	71
Глава 4. Разработка методики получения нанокolloида $^{99\text{m}}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$ , изучение его свойств и функциональной пригодности.....	73
4.1. Разработка состава реагентов для получения препарата $^{99\text{m}}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$ .....	73
4.2. Проведение испытаний препарата $^{99\text{m}}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$ на экспериментальных животных.....	76
4.3. Разработка проекта спецификации на препарат «Нанокolloид $^{99\text{m}}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$ » и методов контроля его качества.....	82
4.3.1. Методика количественного определения алюминия.....	83
4.3.2. Качественное и количественное определение Sn (II).....	86
4.3.3. Качественное и количественное определение аскорбиновой кислоты.....	88
4.3.4. Качественное и количественное определение желатина.....	89
4.4. Проект спецификации.....	92
4.5 Выводы по главе.....	93
Заключение и выводы.....	95
Список литературы.....	98
Приложение А.....	109

## Введение

В последние годы во всем мире отмечается значительное усиление интереса к использованию в медицине радиоактивных коллоидных наноматериалов [1]. Они нашли применение для мечения аутолейкоцитов с целью диагностики воспалительных процессов, выявления «сторожевых» лимфатических узлов (СЛУ) у онкологических больных, лимфосцинтиграфии [2, 3]. Использование наночастиц в качестве транспортирующего агента позволяет доставлять радионуклид к месту болезни, увеличивая эффективность и минимизируя побочные эффекты. Данный метод обладает достаточно высокой чувствительностью в плане выявления различных патологий в сочетании с высоким разрешением получаемых сцинтиграфических изображений и минимальной радиационной нагрузкой на организм [4, 5].

Наиболее оптимальным радионуклидом для проведения мечения наночастиц является короткоживущий радионуклид технеций-99м ( $^{99m}\text{Tc}$ ), который на сегодняшний день используется для проведения диагностических исследований, практически, во всех областях медицины. Радиофармпрепараты (РФП) на его основе применяют более чем в 87 % всех радионуклидных исследований, проводимых с целью оценки состояния живых систем [6-9]. Это, в первую очередь, обусловлено его ядерно-физическими характеристиками: относительно коротким  $T_{1/2}$  (6,02 ч) и энергией  $\gamma$ -излучения 0,1405 МэВ, обеспечивающих малую экспозиционную дозу и, вместе с тем, достаточную проникающую способность для проведения радиометрических измерений. Кроме того, богатая координационная химия технеция позволяет получать на его основе различные простые и сложные биологически активные комплексные соединения с заданными свойствами [10-14]. На сегодняшний день технеций-99м является наиболее доступным радионуклидом для ядерной медицины, что связано с возможностью его получения непосредственно в медицинских учреждениях из  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ -генераторов [15-18].

Согласно данным [19] коллоид с размером частиц менее 50 нм может накапливаться не только в СЛУ, но и в лимфатических узлах второго и третьего уровней, что снижает точность диагностики. В тоже время, частицы, имеющие размер более 100 нм, медленно мигрируют с места инъекции.

Все известные нанокolloидные препараты изготавливаются на основе соединений, образующих устойчивые гидрозолы. Большая часть из них представляет собой простые неорганические комплексы  $^{99m}\text{Tc}$  с сульфидами рения и сурьмы, получаемые по достаточно сложным технологиям. Вместе с тем, наши предварительные исследования, показали, что устойчивые коллоидные соединения могут быть получены более простым способом - путем проведения адсорбции восстановленного  $^{99m}\text{Tc}$  на гамма-оксиде алюминия. При этом величина адсорбции радионуклида на поверхности оксида превышает 93 % [20, 21]. Основными предпосылками для использования гамма-оксидов  $\text{Al}_2\text{O}_3$  в качестве транспортирующего агента метки  $^{99m}\text{Tc}$  является его более низкая токсичность, чем у сульфидов, в сочетании с хорошими адсорбционными свойствами, доступностью и низкой стоимостью. Достаточно сказать, что на этом сорбенте основано все мировое производство генераторов технеция-99м, повсеместно используемых в медицине. Проведенный анализ литературных данных показал, что до настоящего времени исследования, по получению меченного  $^{99m}\text{Tc}$  нанокolloида гамма-оксида  $\text{Al}_2\text{O}_3$  в мире не проводились, что и определило цель настоящей работы.

**Степень разработанности темы исследования.** Исследования, посвященные синтезу нанокolloидных препаратов для медицины, и их практическому применению проводились в различных странах. В России ведущей организацией, занимающейся разработкой и синтезом радиоактивных препаратов для медицинской диагностики, является ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА. На сегодняшний день этой проблемой активно занимается также ФГАОУ ВО НИ ТПУ, где были синтезированы меченные  $^{99m}\text{Tc}$  нанокolloидные препараты на основе модифицированных производных ДТПА и железо-

углеродных частиц. Здесь же впервые была исследована возможность получения нанокolloида  $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ .

Представляемая работа выполнена по госбюджетной теме «Исследование физико-химических закономерностей введения метки технеция-99м в соединения на основе органических и неорганических матриц» (№ госрегистрации НИР 01201251361), а также при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 годы» по теме «Разработка методов получения меченых технецием-99м нанокolloидов для медицинской диагностики» (№ госрегистрации НИР 01200960413). Совместно с Томским НИИ кардиологии были проведены работы в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 годы» по теме «Разработка методов получения новых нанокolloидных РФП и изучение их влияния на функциональную морфологию жизненно важных органов» (№ госрегистрации НИР 01201275909).

**Целью работы** является разработка метода получения радиофармацевтического препарата на основе меченого технецием-99м нанокolloида гамма-оксида алюминия.

#### **Основные задачи исследований:**

1. Изучение влияния кислотной обработки гамма-оксида  $\text{Al}_2\text{O}_3$  на величину адсорбции пертехнетат-ионов –  $^{99m}\text{Tc}(\text{VII})$ .
2. Изучение закономерностей распределения  $^{99m}\text{Tc}$  в системе водная фаза - оксид  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .
3. Исследование процесса восстановления  $^{99m}\text{Tc}(\text{VII})$  в присутствии  $\text{Sn}(\text{II})$  и определение его оптимальной концентрации в реакционной смеси.
4. Изучение процесса адсорбции на оксиде алюминия восстановленного  $^{99m}\text{Tc}$  и влияния его общей активности на величину выхода меченого продукта.
5. Экспериментальное определение качественного и количественного состава реагентов для получения меченого технецием-99м нанокolloида и отработка условий проведения синтеза.

6. Оценка основных свойств полученного наноразмерного препарата и проведение его предварительных испытаний на экспериментальных животных.

7. Разработка проекта Спецификации на наработку опытных партий радиофармпрепарата.

**Научная новизна** работы состоит в том, что в ней впервые:

- Исследовано влияние кислотной обработки гамма-оксида  $Al_2O_3$  на величину адсорбции  $^{99m}Tc$  и показано, что максимум адсорбции достигается при значении рН реакционной смеси 2.
- Установлены закономерности поглощения  $^{99m}Tc$  оксидом  $Al_2O_3$  в зависимости от массы оксида и соотношения объема препарата к массе оксида. Показано, что степень поглощения не зависит от общей активности радионуклида и снижается с увеличением объема препарата.
- Получена экспериментальная зависимость изменения содержания в препарате примеси  $^{99m}Tc(VII)$  от концентрации восстанавливающего агента - олова (II) и определено его минимальное количество (0,0175 мг/мл) для достижения радиохимической чистоты препарата более 94 %.
- Разработаны состав реакционной смеси и методика получения устойчивого нанокolloида  $^{99m}Tc-Al_2O_3$  с размером частиц в пределах от 50 до 100 нм и радиохимическим выходом более 75 %.
- На экспериментальных животных доказана функциональная пригодность созданного препарата « $^{99m}Tc-Al_2O_3$ » для проведения диагностических исследований лимфосистемы.

**Теоретическая и практическая значимость.** Технология получения нанокolloидного препарата « $^{99m}Tc-Al_2O_3$ » и методики контроля его качества, созданные и апробированные в процессе выполнения диссертации, используются для наработки опытных партий препарата с целью проведения его доклинических испытаний в Томском НИИ онкологии. Результаты работы используются в учебно-педагогическом процессе по специальности «Медицинская физика» на

кафедре Прикладной физики ФТИ ТПУ. Применение на практике полученных результатов подтверждается Актами о внедрении.

**Методология и методы исследования.** Методологической основой диссертационного исследования послужили существующие в мире теоретические и экспериментальные наработки по созданию нанокolloидных препаратов для медицинской диагностики, а также методам контроля их качества и системного анализа результатов.

В работе применялись следующие экспериментальные методы исследований и методики: методики проведения радиометрических измерений, инструментальные и фильтрационные методы определения размеров меченых коллоидов, методики определения химических примесей, методы статистической обработки результатов. Экспериментальные исследования выполнены на сертифицированном научном оборудовании с использованием аттестованных методик в сертифицированных лабораториях.

**Научные положения, выносимые на защиту:**

1. Результаты экспериментального изучения влияния кислотной обработки оксида  $Al_2O_3$  на величину адсорбции  $^{99m}Tc$ .
2. Закономерности распределения  $^{99m}Tc$  в системе раствор-оксид  $Al_2O_3$  в зависимости от объема раствора препарата, массы сорбента и активности радионуклида.
3. Результаты изучения процесса восстановления  $^{99m}Tc$  в присутствии Sn (II) и адсорбции восстановленного радионуклида на наноразмерном порошке оксида алюминия.
4. Экспериментальные исследования по разработке состава реагентов и методики получения препарата « $^{99m}Tc-Al_2O_3$ ».
5. Результаты испытаний препарата на экспериментальных животных.
6. Проект Спецификации на наработку опытных партий и аналитический контроль качества нового радиофармацевтического препарата « $^{99m}Tc-Al_2O_3$ ».



**Личный вклад автора** в работы, выполненные в соавторстве и включенные в диссертацию, состоит в общей постановке задач, активном участии в проведении исследований, анализе и математической обработке полученных результатов, написании статей и докладов, а также внедрении результатов исследований в разработку нового отечественного радиофармпрепарата.

**Степень достоверности результатов.** Работа построена на известных и проверяемых закономерностях, согласуется с опубликованными экспериментальными данными, не противоречит современным научным представлениям о закономерностях физико-химических процессов. Все оценки и исследования проведены на современном сертифицированном аналитическом оборудовании с привлечением аттестованных методик.

**Апробация работы.** Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 5-й междунар. научно-практич. конф. «Физико-технические проблемы атомной энергетики и промышленности». - Томск, 2010; Росс. научно-технич. конф. с междунар. участием «Актуальные проблемы радиохимии и радиоэкологии». - Екатеринбург, 2011; XII междунар. симп. «Technetium and Rhenium – Science and Utilization». - Москва, 2011; Междунар. конф. «Nuclear science and its application». - Самарканд, Узбекистан, 2012; 14-й междунар. науч. конф. «High-tech in chemical engineering-2012». - Тула, 2012; Междунар. конф. мол. учен. и спец. «Current issues on the peaceful use of atomic energy». - Алматы, Казахстан, 2012; I росс. конф. по мед. химии. - Москва, 2013; IX междунар. конф. «Nuclear and radiation physics». - Алматы, Казахстан, 2013; XI междунар. научно-практич. конф. «Медицинские и экологические эффекты ионизирующего излучения». - Северск – Томск, 2013.

***Участие в выставках и конкурсах:*** Всеросс. конкурс «Инженер года 2012» // Победитель; Конкурс науч. достижений мол. уч. Том. Обл., 2013 // Свид.; Всеросс. конкурс «Сибирские Афины» 2013 // Свид., медаль; Конкурс на получение стипендии Президента РФ молодым ученым и аспирантам, осуществляющим перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики 2012-2015 //

Победитель; Всеросс. конкурс «Лучший молодой ученый 2013 года» // Победитель.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 25 работ, из них 1 патент на изобретение, 7 статей в журналах, включенных в перечень ВАК, тезисы 17 докладов и материалов международных и всероссийских научных конференций, имеется два акта о внедрении.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения и списка литературы; содержит 110 страниц, включая 27 рисунков, 13 таблиц, 110 библиографических ссылки и одно приложение.

## **Глава 1. Методы получения меченных радионуклидами наноразмерных соединений для медицины (литературный обзор)**

В существующей мировой практике нанокolloидные препараты, меченные различными радионуклидами, достаточно широко используются для проведения диагностических исследований в онкологии, кардиологии, для обнаружения воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата, нарушений анатомо-морфологической структуры при опухолях, циррозах, гепатитах и других заболеваний. Согласно De Schrijver (1987), эти методы исследований обладают высокой чувствительностью и специфичностью в сочетании с высоким разрешением получаемых сцинтиграфических изображений и минимальной радиационной нагрузкой на организм [2].

### **1.1. Применение и свойства нанокolloидов**

Использование нанотехнологий для синтеза медицинских препаратов в XXI столетии приобретает высшую степень актуальности из-за возросшего уровня заболеваемости, инвалидности и смертности от сердечно-сосудистой патологии, онкологических заболеваний, болезней органов дыхания и многих других. Предполагается, что развитие такого рода технологий позволит устранить или предотвратить повреждения на уровне макромолекул клетки, включая генетические, блокировать механизмы старения клеток, способствовать восстановлению тканей человеческого организма, излечению безнадежно больных людей [22-28].

По определению ведущего учёного в данной области Р. Фрейтаса, наномедицина – это: «слежение, исправление, конструирование и контроль над биологическими системами человека на молекулярном уровне с помощью разработанных наноустройств и наноструктур» [3]. Наночастицы дают возможность врачам доставлять лекарство точно к месту болезни, увеличивая эффективность и минимизируя побочные эффекты. Облегчают осуществлять

контролируемый вывод из организма терапевтических веществ, а также стимулирование врожденных механизмов регенерации. Основное внимание здесь сосредоточено на искусственной активации и управлении взрослыми стволовыми клетками [4]. Их применение в перспективе позволит вывести на качественно новый уровень диагностику и лечение таких заболеваний, как рак, инсульт, атеросклероз и др. за счет локализации таких соединений в нужной области. Например, установлено, что покрытие поверхности медицинских имплантантов новым наноматериалом – тетракарбоном позволяет улучшить их биосовместимость, уменьшает риск образования тромбов, препятствует развитию воспалений [29].

Один из наиболее простых и эффективных способов доставки молекул лекарства в организм человека, является трансдермальный (через кожу). Именно из-за своей простоты, пока не существует теоретических запретов на доставку таким образом большинства из известных биологически активных соединений, вне зависимости от его молекулярной массы (размеров) или физико-химических свойств. Некоторые из таких соединений, для которых возможно использование трансдермального метода введения представлены на рисунке. 1.1.

Большой интерес для практических целей представляют липосомы (однокомпонентные и многокомпонентные), образующиеся в растворах липидов, с размерами не более 20–50 нм, которые и используются как средства доставки лекарственного средства к биологической мишени.

На основе липосомной формы уже разработаны нанопрепараты:

- для онкологии – в Харькове производят липосомный доксорубицин "Липодокс" - препарат для химиотерапии рака;
- для неврологии – разработана липосомная форма против болезни Паркинсона на основе субстанции ДОФА; а также нанопрепарат - липосомный баларпан, который восстанавливает роговицу при кератинопатии;

- для иммунологии – липосомный препарат из тритерпеноидов бересты. Три препарата производятся промышленно: Липин (противогипоксический препарат), Лиолив (гепатопротекторный препарат). Клинические испытания проходят два противоопухолевых препарата: Цисплатин и Фторурацил.

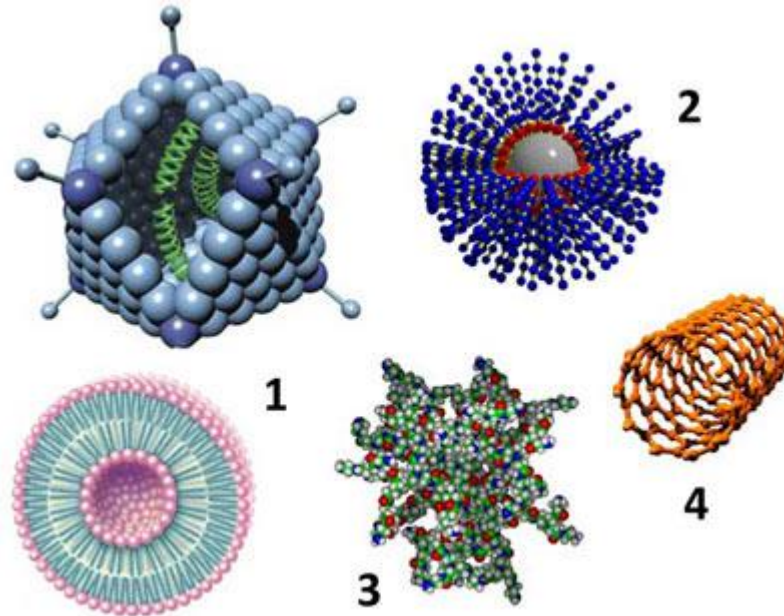


Рисунок 1.1 – Наночастицы, используемые для доставки терапевтических молекул: 1 – липосома и аденовирус; 2 – полимерная наноструктура; 3 – дендример; 4 – углеродная нанотрубка.

Как известно, в живых организмах коллоидные частицы являются активными переносчиками кислорода (гемоглобин). Такие же транспортные функции выполняют различные белки. В силу своих особенностей они не растворимы в биологических жидкостях, т.е. не образуют истинные растворы в силу своих размеров и строения, однако это не препятствует их достаточной биологической подвижности. Существенно то, что они метаболизируются и, следовательно, не накапливаются и не несут нежелательных побочных эффектов. Поэтому разработка максимально приближенных к природным коллоидам соединений позволит наиболее эффективно использовать весь их потенциал.

Интересно отметить, что в природе имеется достаточно большой набор нанопереносчиков, например, вирусов. В частности, обработанные определенным

образом аденовирусы, могут быть эффективно использованы для вакцинации через кожу. К искусственным биогенным наночастицам, способным к направленной доставке, помимо липосом относят также липидные нанотрубки, наночастицы и наноэмульсии липидного происхождения, некоторые циклические пептиды, хитозаны, наночастицы из нуклеиновых кислот.

К неорганическим наночастицам – одному из важнейших классов нанопереносчиков, относятся соединения оксида кремния, а также различных металлов (золото, серебро, платина). Часто такие наночастицы имеют кремниевое ядро и внешнюю оболочку, сформированную атомами металла. Использование металлов позволяет создавать переносчики, обладающие рядом уникальных свойств. Их активность и, в частности, высвобождение терапевтического агента, может быть инициирована термическим воздействием (инфракрасное излучение), а также изменением магнитного поля. В случае гетерогенных твёрдофазных композитов, например, наночастиц металла на поверхности пористого транспортирующего агента, возможно появление новых свойств за счет их взаимодействия

На сегодняшний день в России разработан способ получения нанокolloидного серебра [13], стабилизированного синтетическими фульвокислотами. Нанокolloидное серебро обладает сильными бактерицидными и бактериостатическими свойствами, а фульвокислоты характеризуются иммуномодулирующими, регенерирующими, противовоспалительными и антиоксидантными свойствами. Начальным соединением синтеза является оксид серебра, что исключает проблему загрязнения конечного раствора анионами исходных солей (чаще всего нитратами или перхлоратами), а синтетические фульваты используются одновременно как восстановители серебра до нульвалентного, так и стабилизаторы наночастиц серебра в растворе. Применение синтетических фульвокислот позволяет точно дозировать эту составляющую синтеза, что практически невозможно при работе с природными фульвокислотами. Стоимость получаемого нанокolloида серебра в 6 - 8 раз ниже аналогов.

Препараты на основе наносеребра уже приобрели международную известность и вошли в международные программы исследований по лечению онкологических заболеваний и травм центральной нервной системы (ЦНС) в Испании. Причем в упомянутых программах наносеребро используется как транспортирующий агент для новых лекарственных препаратов для точечной доставки их в органы-мишени. За счет этого достигается ощутимое снижение дозировок и токсического воздействия на организм цитостатиков, т.к. они доставляются только в опухоль и не затрагивают здоровые ткани. При лечении травм ЦНС, например разрывов спинного мозга, максимальное восстановление функций, достигаемое современными методами, обычно не превышает 20%, а при введении новых молекул, посаженных на наночастицы серебра, размером 1-3 нм, удается достигать 80-процентного восстановления функций. Большой эффект дает чистое серебро в форме нанокolloидов, полученное физическими способами без использования примесей и стабилизаторов.

Не меньшим интересом пользуются и препараты коллоидного золота, однако до последнего времени получение сверхчистого золотого коллоида было недоступной технологией. Эта задача была решена коллективом «Лаборатории физики нанокolloидов НПО «Звезда» под руководством ученика Ж.Алферова Сергея Нестерова. Здесь удалось получить нанозолото с высокими характеристиками, не содержащих посторонних примесей и стабилизаторов и имеющие частицы с размером 1-3 нм [11, 12].

Наряду с серебром и золотом разработан новый метод получения химически чистых (> 99.7 %), хорошо дезагрегированных нанопорошков оксидов алюминия, циркония, титана, цинка, железа и др. со средним размером частиц в диапазоне 20 - 100 нм [13]. Применяемый газодисперсный синтез основан на сжигании в специально организованных двухфазных пламенах газовзвесей частиц чистых металлов, механических смесей или сплавов разных металлов, что обеспечивает высокую чистоту получаемых нанопорошков. Такой метод синтеза нанопорошков имеет целый ряд существенных преимуществ по сравнению с мировыми аналогами - одностадийность, высокую продуктивность, непрерывность,

экономичность по отношению к энергозатратам. Чистота нанопорошков, как правило, выше чистоты исходного сырья. Расчетная цена получаемых нанопорошков в зависимости от металла в 2 - 15 раз ниже мировых цен.

Среди углеродных наночастиц, образованных только атомами углерода, наиболее широко распространены фуллерены и нанотрубки, которые можно получить с помощью разнообразных химических или физико-химических методов. Например, в промышленных масштабах фуллерены получают термическим распылением углеродсодержащей сажи в атмосфере инертного газа, при пониженном давлении, в присутствии катализатора. Фуллерены, по мнению экспертов, могут стать основой не только для систем доставки, но и для нового класса лекарственных средств. Главная особенность – их каркасная форма: молекулы выглядят как замкнутые, полые внутри «оболочки». Самая знаменитая из углеродных каркасных структур – это фуллерен  $C_{60}$ , неожиданное открытие которого в 1985 году вызвало целый бум исследований в этой области (Нобелевская премия по химии за 1996 год). После разработки методики получения фуллеренов в макроколичествах, было обнаружено множество других, более легких либо более тяжелых фуллеренов: начиная от  $C_{20}$  и до  $C_{70}$ ,  $C_{82}$ ,  $C_{96}$  и выше. На основе фуллеренов разрабатываются средства доставки препаратов для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов и онкологических больных.

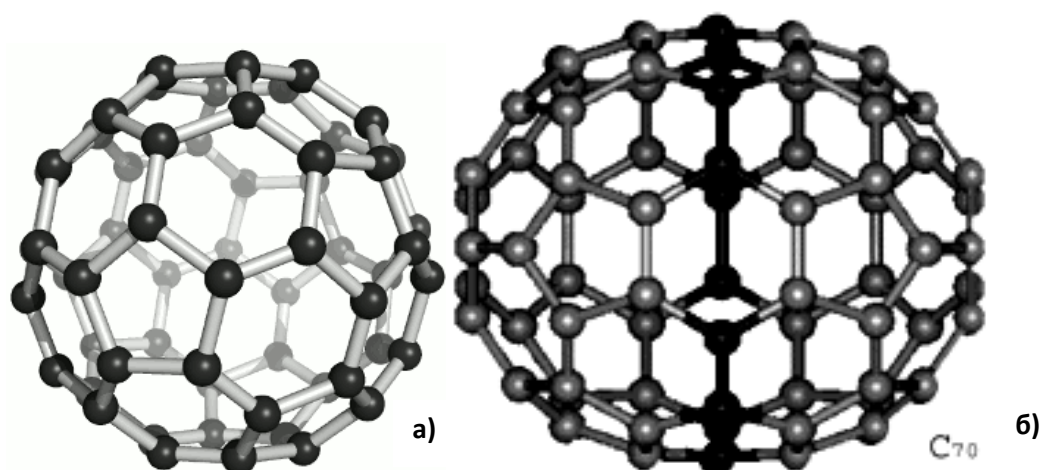


Рисунок 1.2 – Фуллерены, состоящие из атомов углерода: а)  $C_{60}$  (диаметр около 1 нм); б) фуллерен  $C_{70}$



## 1.2. Получение наноматериалов с радиоактивной меткой

Современная концепция производства меченных радионуклидами нанокolloидов базируется на том, что бы применяемые методы синтеза обеспечивали получение конечного продукта со следующими характеристиками:

- коллоидные наноразмерные соединения должны обладать регулируемыми свойствами и возможностью введения в их структуру радиоактивной метки;
- синтезированные меченые продукты должны обладать высокой радиохимической чистотой и иметь строго определенные размеры;
- методики синтеза должны быть простыми и эффективными, а исходные компоненты синтеза – доступными.

Поскольку фармакокинетика наночастиц в организме в основном зависит от их размера, модификация их органическими, биологически тропными соединениями, поможет сделать распределение диагностических препаратов более селективным. В этой связи, просматривается два принципиальных подхода к формированию наночастиц на основе органической и неорганической матрицы. Первый подразумевает получение уже готовых частиц с заданными (определенными) размерами и последующей их модификацией радионуклидами. Вторым подходом является образование коллоидных нанодисперсных систем уже предварительно модифицированных радиоактивной меткой.

С учетом отмеченных высоких «транспортных» возможностей фуллеренов, в настоящее время достаточно широко проводится мечение фуллеренов  $C_{60}(OH)_x$  такими важными для медицины радиоизотопами, как  $^{125}I$ ,  $^{111}In$ ,  $^{67}Ga$ ,  $^{64}Cu$ ,  $^{99m}Tc$  и другими, с целью получения наноразмерных коллоидов, обладающих хорошей устойчивостью и радиохимической чистотой  $> 90\%$ . В основном эти радиоизотопы прикрепляются к поверхности углеродных наноматериалов посредством физической абсорбции. Некоторые способы получения меченых фуллеренов рассмотрены ниже [14].

Так в случае нанесения радиоактивной метки йода-125, процедура мечения успешно выполняется при предварительном окислении йода с помощью

хлорамина-Т (молекулярная формула  $C_7H_7ClNO_2S \cdot Na (3H_2O)$ , структурная формула приведена ниже на рисунке 1.3). При этом  $^{125}I$  присутствующий в реакционной смеси в виде йодида ( $Na^{125}I$ ), окисляется до  $^{125}I_2$  и после легко взаимодействует с материалом мишени  $C_{60}$  или другим фуллереном, образуя на поверхности комплекс с переносом заряда [19].

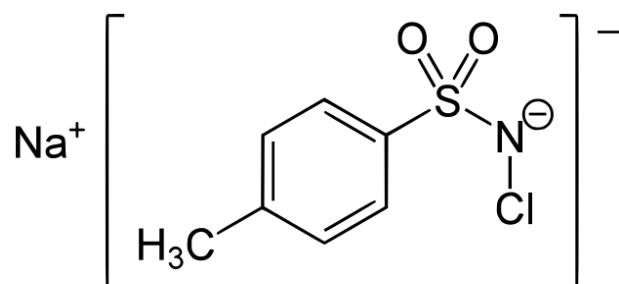


Рисунок 1.3 – Структурная формула хлорамина-Т

На рисунке 1.4 показана схема получения однорядной углеродной нанотрубки  $^{125}I$ -SWNTols, разработанная Ran [30]. Синтез проводится при дополнительном нагревании ( $130^\circ C$ ) в течении двух часов. Выход продукта, меченного радиоактивным изотопом составляет более 94%.

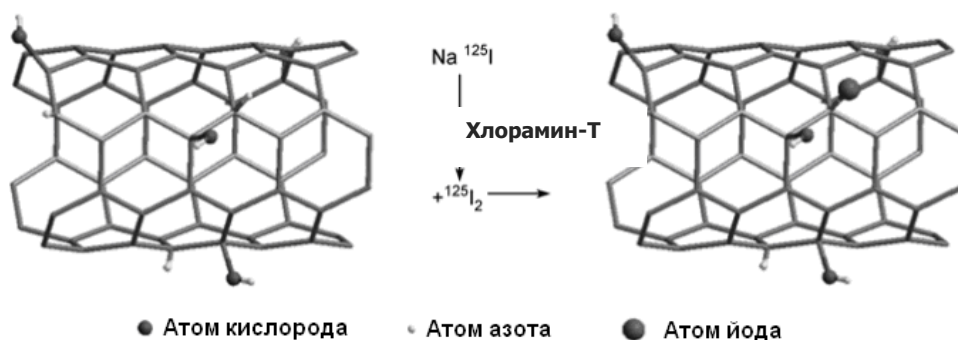


Рисунок 1.4 – Получение препарата  $^{125}I$ -SWNTols в присутствии хлорамина-Т

В отличие от рассмотренного случая, К. Kikuchi [31] разработал углеродные наноматериалы с радиоизотопами  $^{161}Tb$  и  $^{159}Gd$ . Он в своей статье демонстрирует создание нового семейства фуллеренов с радиоактивным металлическим атомом, закапсулированным внутри клетки  $C_{82}$  -  $^{159}Gd@C_{82}$  и  $C_{82}$  -  $^{161}Tb@C_{82}$  посредством нейтронного облучения в реакторе.

В последнее время стали доступны коммерческие генераторы  $^{99m}\text{Tc}$ -Технегаз (Vita Medical Ltd., Sydney, Australia) [32] для получения взвеси меченных  $^{99m}\text{Tc}$  ультрамелких углеродных частиц при атмосферном давлении в среде высокочистого аргона [33]. Основные частицы технегаза имеют размеры от 5-20 нм, что обеспечивает их хорошее периферийное проникновение в легкие при вдыхании. По этой причине технегаз был признан как главный агент при скинтиграфических исследованиях легких.

В работе Q.N. Li [34] сообщается о синтезе соединения  $^{99m}\text{Tc}-\text{C}_{60}(\text{OH})_x\text{O}_y$ . В основе метода лежит восстановление  $\text{Tc(VII)}$  до  $\text{Tc(V)}$  в присутствии  $\text{SnCl}_2$  при последующем мечении  $\text{C}_{60}(\text{OH})_x\text{O}_y$  восстановленными ионами  $^{99m}\text{Tc(V)}$ . Получаемое соединение  $^{99m}\text{Tc}-\text{C}_{60}(\text{OH})_x\text{O}_y$  сохраняет устойчивость в течение 25 ч и радиохимическую чистоту более  $> 90\%$ . Аналогичные исследования по получению  $^{99m}\text{Tc}-\text{C}_{60}(\text{OH})_x$  были проведены в 2002 году [35]. Суть синтеза  $^{99m}\text{Tc}-\text{C}_{60}(\text{OH})_x$  состояла в следующем: технеций-99м в виде раствора натрия пертехнетата ( $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ ) был выделен из  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ -генератора и восстановлен  $\text{Sn}_2\text{Cl}$  до  $\text{Tc(V)}$ . В предварительно подготовленный водный раствор  $\text{C}_{60}(\text{OH})_x$  (концентрация 5 мг/мл) были введены водный раствор аскорбиновой кислоты, раствор двухвалентного олова хлорида и раствор натрия пертехнетата. Смешивание растворов проводили при температуре кипения. Как показали исследования, выход  $^{99m}\text{Tc}-\text{C}_{60}(\text{OH})_x$  быстро увеличивался и достигал значения порядка 92% спустя 40 мин при pH среды  $\sim 5$ .

Приведенные примеры лишь раз подчеркивают возможность получения нанокolloидных препаратов меченных радиоактивными изотопами для последующего использования в медицинских исследованиях.

### 1.3. Методы получения меченных $^{99m}\text{Tc}$ нанокolloидных препаратов

Интерес ученых к меченым технецием-99м нанокolloидным препаратам обусловлен тем, что сам по себе  $^{99m}\text{Tc}$  является идеальным радионуклидом для

диагностики благодаря своим ядерно-физическим характеристикам и химическим свойствам [36-38]. Кроме того, на сегодняшний день он является самым доступным радионуклидом для медицины, вследствие возможности получения его  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ -генераторов непосредственно в медицинских лабораториях.

В настоящее время метод радионуклидной индикации с  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  широко используется для определения метастатически измененных лимфатических узлов «сторожевых узлов» (Вельшер Л.З., Габуня З.Р., Niram S., Schrenk P. и др.). В маммосцинтиграфии этот метод наряду с изучением состояния молочных желез, грудной клетки, позволяет визуализировать распределение РФП во всех структурах исследуемого региона и, в частности, в аксиллярных областях и других областях расположения лимфоузлов [39, 40].

Концепция «сторожевых» лимфатических узлов впервые была выдвинута в 1977 г. R. Cabanas [41], в связи с появлением тенденции к снижению объема операций на молочной железе и сокращению лимфодиссекции при ранних стадиях РМЖ. Автор показал, что существует лимфатический центр (так называемый сторожевой лимфатический узел (СЛУ)), в который в первую очередь, осуществляется отток лимфы из участка ткани, пораженной метастазами. Данный узел, по мнению автора, является фильтром для контрастных препаратов и поэтому может быть выявлен при лимфографии. В случаях, когда в СЛУ метастазы не обнаруживаются, дальнейшую лимфодиссекцию выполнять не рекомендуется [42].

Следующий шаг в развитии концепции удаления сторожевых лимфатических узлов был сделан в 1993 г. J.Alex и D.Krag [43]. Авторы использовали меченный  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  нанокolloид для определения путей оттока лимфы от опухоли. Поиск сторожевых лимфоузлов производился с помощью ручного гамма-счетчика. Точность и чувствительность метода по данным Давыдова М.И. и Летягина В.П. составляет 96,8% [44].

Группа ученых изучили результаты лимфосцинтиграфии у 600 больных [45] злокачественной меланомой. Лимфосцинтиграфию выполняли до операции путем

внутрикожного введения 74–11 МБк  $^{99m}\text{Tc}$ -нанокolloида в четырех точках вокруг первичной опухоли. В результате СЛУ были обнаружены у 599 пациентов из 600.

Актуальность применения нанокolloидов  $^{99m}\text{Tc}$  не ограничивается диагностикой СЛУ. Как было отмечено выше, в существующей мировой практике они достаточно широко используются для индикации различных заболеваний. При этом определяющим фактором являются размеры коллоидных частиц. Согласно данным [46] коллоид с размером частиц менее 50 нм может накапливаться не только в СЛУ, но и в лимфатических узлах второго и третьего уровней, что снижает точность диагностики. В тоже время, частицы, имеющие размер более 100 нм, медленно мигрируют с места инъекции. Исходя из сказанного, можно сделать вывод, что наиболее «универсальным» размером нанокolloидных частиц для проведения исследований в онкологии является размер менее 100 нм. Вместе с тем, нанокolloидных препаратов технеция-99м с такими подходящими характеристиками не так много. Достаточно сложно судить и о способе их получения, поскольку источников с подобной информацией практически нет.

Следует отметить, что в России на сегодняшний день собственные нанокolloидные препараты не производятся. На стадии разработки находится способ получения нанокolloида для приготовления радиофармпрепаратов на основе сульфида рения [47]. Подобный препарат на основе сульфида рения «Наноцис» ранее закупался за рубежом. Однако он не является оптимальным для проведения широкого круга медико-биологических исследований, в частности, поиска сторожевых лимфатических узлов (СЛУ) из-за слишком малых размеров частиц (10-15 нм).

Данные о нанокolloидных препаратах с  $^{99m}\text{Tc}$ , производимых в Европе представлены в таблице. 1.1 [48-50].

Таблица 1.1 – Радиофармпрепараты иностранного производства

Радиофармпрепарат	Производитель	Размеры частиц
Nanocoll	GE Amersham	<80 нм
<sup>99m</sup> Tc-nanocolloid	GE,Uppsala,Sweden	<80 нм
Nanocis	CIS bio International	3-15 нм
Microlite	Du Pont	Около 10 нм
Sulfur colloid	CIS bio International	40-10000 нм

Все эти препараты в России не зарегистрированы и потому закупка их не осуществляется. Методики приготовления некоторых из известных препаратов приведены ниже.

**Наноцис (Nanocis)** – представляет собой стандартный набор для приготовления коллоидной инъекции [<sup>99m</sup>Tc]-рения сульфид. Набор содержит нерадиоактивные реагенты в двух флаконах *A* и *B*.

Флакон *A* содержит в атмосфере азота 1 мл стерильного апиrogenного раствора следующего состава:

- сульфид рения (Re<sub>2</sub>S<sub>7</sub>) – 0,48 мг;
- желатин – 9,6 мг;
- аскорбиновая кислота – 7 мг;
- вода для инъекций – 1 мл;
- соляная кислота концентрированная – 37,4 мкл

Во втором флаконе *B* содержится в атмосфере азота 1 мл стерильного апиrogenного раствора, имеющего состав:

- пирофосфат натрия десятиводный – 3 мг;
- хлорид олова дигидрат – 0,5 мг

Способ приготовления нанокolloида включает следующие операции. Во флакон *B* с помощью иглы через резиновую пробку вносят 2 мл воды для инъекций. После чего содержимое флакона *B* встряхивается до полного растворения вещества. Затем 0,5 мл полученного раствора вводят той же иглой во флакон *A* и встряхивают. Флакон *A* помещают в свинцовый контейнер и вносят в

него, не используя воздушной иглы, 1-2 мл элюата  $^{99m}\text{Tc}$  из  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ -генератора с активностью 370-5550 МБк. После флакон переносят в кипящую водяную баню (без свинцового контейнера) на 15-30 минут с последующим его охлаждением под проточной водой.

Полученный нанокolloид [ $^{99m}\text{Tc}$ ]-рения сульфид используется для лимфосцинтиграфии и исследования пищеварительного тракта (гастро-эзофагальная сцинтиграфия).

Обязательной процедурой на финальном этапе приготовления меченного нанокolloида является контроль его радиохимической чистоты, который, как правило, проводится методом тонкослойной хроматографии на бумаге.

При этом процентное содержание комплекса технеций [ $^{99m}\text{Tc}$ ] должно быть не менее 95%, а процентное содержание примесей не должно превышать 5%.

**Гепатоцис (Hepatocis)** – представляет собой стандартный набор для приготовления коллоидной инъекций [ $^{99m}\text{Tc}$ ]-рения сульфид (макроколлоид со средним диаметром частиц 500 нм). В состав набора входят нерадиоактивные реагенты, содержащиеся в одном флаконе и двух заполненных шприцах.

Флакон содержит 6 мл стерильного апиrogenного раствора, в состав которого входят:

- перренат калия – 4,17 мг;
- тиосульфат натрия пятиводный – 10,0 мг;
- желатин – 166,0 мг;
- вода для инъекций – 6 мл

В одном из шприцов содержится 1 мл стерильного апиrogenного раствора 4,6 М HCl, а в другом - 2 мл стерильного апиrogenного 0,65 М цитратного буфера, имеющего состав:

- трехнатриевой соли лимонной кислоты дигидрат – 386 мг;
- гидроокиси натрия – 113 мг;
- воды для инъекций – 2 мл

Способ приготовления препарата состоит в следующем. Флакон помешают в свинцовый контейнер и в него, используя воздушную иглу, вводят раствор пертехнетата,  $^{99m}\text{Tc}$ , общая активность которого должна составлять 370-3700 МБк (10-100 мКи). После во флакон добавляют содержимое из шприца с соляной кислотой, тщательно перемешивают и кипятят в течение 5 минут при температуре  $100^{\circ}\text{C}$ . Затем флакон охлаждают в кристаллизаторе с ледяной водой в течение нескольких минут и вносят содержимое шприца с цитратным буфером и перемешивают. Объем полученного радиоактивного раствора доводят до 5 мл стерильным 0,9% раствором хлорида натрия.

Приготовленный коллоидный раствор используется для диагностики состояния пищеварения, сцинтиграфии печени, селезенки и костного мозга (метод второй очереди, когда нет других подходящих).

Наряду с достоинствами препаратов на основе сульфида рения (стабильности выхода, высокой радиохимической чистотой) следует отметить и их недостаток - наличие в составе желатина, который может вызвать появление нежелательных эффектов аллергического типа. Потому при их использовании рекомендуется в течение всего периода исследования держать под рукой средства и материалы реанимационного применения.

**$^{99m}\text{Tc}$ - коллоид фторида олова (Австралия) [51]** – представляет собой набор из двух частей для приготовления коллоидной инъекции. Основой комплекта является фторид олова, содержащийся во флаконе в замороженном состоянии в атмосфере азоте.

Методика подготовки коллоида  $^{99m}\text{Tc}$ -фторид олова включает смешивание фторида олова с водным раствором фторида натрия с последующей фильтрацией продукта через фильтр с диаметром пор 0,2 мкм, после чего часть фильтрата добавляют к раствору натрия пертехнетата,  $^{99m}\text{Tc}$ . Полученную смесь отбирают в шприц и инкубируют в этом состоянии в течение 1 ч. В результате начальная добавленная активность  $^{99m}\text{Tc}$  полностью поглощается коллоидом фторида олова, что установлено с помощью тонкослойной хроматографии. Получаемый радиоактивный продукт представляет собой бесцветный гидрофильный коллоид,



невидимый в водной дисперсии. Радиохимическая чистота коллоида  $^{99m}\text{Tc}$ -фторид олова превышает 98 %. При этом более 96 % меченных  $^{99m}\text{Tc}$  частиц имеют диаметр 1-3 мкм, что определено с помощью мембранной фильтрации.

На втором этапе проводят инкубацию РФП с образцом крови пациента с целью проведения мечения лейкоцитов. После взбалтывания (размешивания) смеси в течение 1 ч, образец помещают в центрифугу для отделения клеток крови от плазмы. Обычно над осадком присутствует менее 5 % начальной радиоактивности. Распределение меченой цельной крови изучают методом автордиографии, по результатам которой определяют количество меченых эритроцитов. Обычно оно составляет 75 % по отношению к белым клеткам и лейкоцитам.

Коллоид  $^{99m}\text{Tc}$ -фторида олова – является радиотрейсером, который используется для маркировки белых клеток крови при диагностике инфекции и воспалений. Сцинтиграфия с этим препаратом проводилась в обычной клинической практике Австралии около 20 лет.

**$^{99m}\text{Tc}$  - нанокolloид сульфида сурьмы [52].** Для его получения используется следующая методика. На первой стадии газообразный сероводород барботируют через 100 мл дистиллированной воды, охлажденной до 0 °С, с последующим введением в этот раствор 5 мл 3,5 % раствора поливинилпирролидона и перемешиванием в течение 5 мин. Затем добавляют 10 мл 1 % - ного раствора антимолил-тартрата калия и вновь перемешивают 10 мин. Для удаления избытка сероводорода через образованный гидрозоль пропускают азот. После 10 мл полученного нанокolloида сульфида сурьмы смешивают с предварительно подготовленной смесью, состоящей из 60 мл 0,1 М раствора тиацетонида с 10 мл 1 %-ного раствора антимолил-тартрата калия. Далее смесь нейтрализуют до pH 5-6 раствором 0,1 М HCl, нагревают на водяной бане в течение 6 ч и охлаждают до комнатной температуры.

На второй стадии проводят мечение полученного коллоида технецием-99м. С этой целью во флакон с 1,5 мл нанокolloида сурьмы вводят 0,5 мл раствора натрия пертехнетата,  $^{99m}\text{Tc}$ , добавляют 0,1 мл 0,1 М раствора HCl и кипятят на

водяной бане 30 мин с последующим добавлением в охлажденную смесь 0,5 мл ацетатного буфера до нейтральной реакции.

Как уже было отмечено, наиболее «универсальным» размером нанокolloидных частиц для проведения исследований в онкологии является размер менее 100 нм. Вместе с тем, на сегодняшний день препаратов с такими подходящими характеристиками очень мало, а в России они вообще отсутствуют.

В этой связи в настоящей работе была исследована возможность получения меченных  $^{99m}\text{Tc}$  нанокolloидов на основе активированного гамма-оксида алюминия. Предпосылкой для использования оксида  $\text{Al}_2\text{O}_3$  в качестве транспортирующего агента метки  $^{99m}\text{Tc}$ , помимо его достаточно низкой токсичности, явились следующие экспериментальные факты.

Как следует из ряда публикаций [53, 54], при элюировании хроматографических генераторов достаточно часто возникают проблемы с выделением дочернего  $^{99m}\text{Tc}$  с поверхности оксида  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , связанные с его восстановлением до  $^{99m}\text{Tc}(\text{IV})$  или других валентных состояний, что приводит к снижению его выхода из генератора вплоть до полного удерживания на сорбенте. Объясняют это тем, что под воздействием ионизирующего излучения на оксиде алюминия могут появляться сольватированные электроны и положительные дырки. В том случае, если они формируются внутри оксида и если диффузия положительных дырок на поверхности медленная, то восстановительная среда будет формироваться в непосредственной близости от поверхности и может произойти частичное восстановление пертехнетата. Такие эффекты, весьма нежелательные с точки зрения генераторной технологии, в рассматриваемом случае создают предпосылки для поиска условий, обеспечивающих надежное связывание  $^{99m}\text{Tc}$  на оксиде алюминия, что и является целью настоящих исследований.

Исходя из этого, ниже будут рассмотрены ядерно-физические и химические свойства технеция-99м, а также свойства оксида  $\text{Al}_2\text{O}_3$  и особенности процессов, происходящих на его поверхности.

#### 1.4. Ядерно-физические характеристики и химические свойства $^{99m}\text{Tc}$

Технеций-99м ( $T_{1/2} = 6,012$  ч) образуется (генерируется) в результате  $\beta^-$ -распада материнского изотопа молибдена-99 ( $T_{1/2} = 66,02$  ч), а сам при распаде переходит в стабильный рутений. Схема распада  $^{99}\text{Mo}$  представлена на рисунке 1.5.

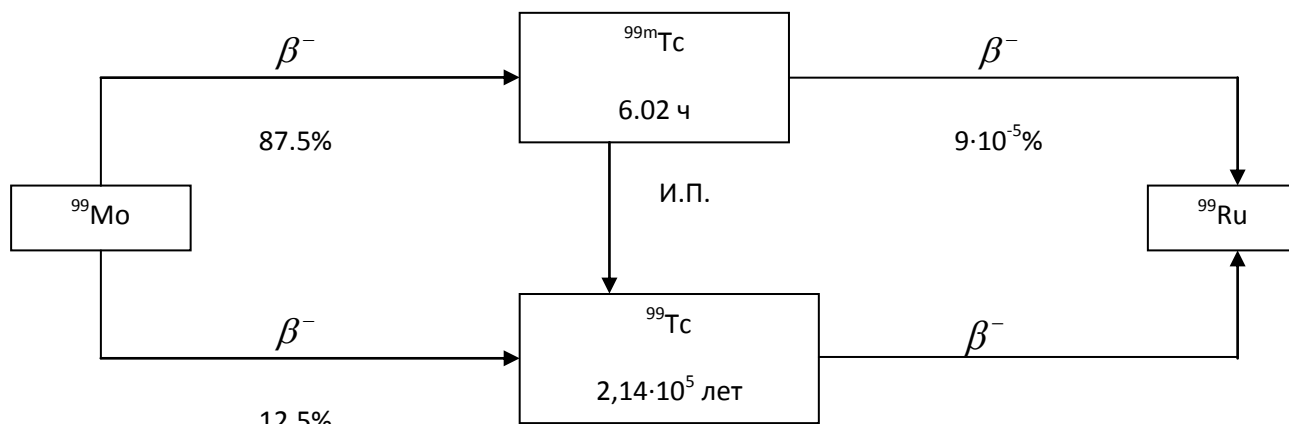


Рисунок 1.5 – Схема распада молибдена-99

Согласно приведенной схеме [55], 87,5% ядер  $^{99}\text{Mo}$  превращается в  $^{99m}\text{Tc}$ , а 12,5% - в долгоживущий радиоизотоп  $^{99}\text{Tc}$  с последующим их переходом в стабильный рутений.

Для рассмотренной генераторной пары выполняются следующие соотношения [56, 57]:

$$(N_1)_t = (N_1)_0 e^{-\lambda_1 t} \quad (1.1)$$

$$(A_1)_t = (A_1)_0 e^{-\lambda_1 t} \quad (1.2)$$

$$(N_2)_t = \frac{0,875\lambda_2}{\lambda_2 - \lambda_1} (N_1)_0 (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}) + (N_2)_0 e^{-\lambda_2 t} \quad (1.3)$$

$$(A_2)_t = \frac{0,875\lambda_2}{\lambda_2 - \lambda_1} (A_1)_0 (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}) + (A_2)_0 e^{-\lambda_2 t}, \quad (1.4)$$

где  $N_1$ ,  $N_2$  и  $A_1$ ,  $A_2$  – количества ядер и активности  $^{99}\text{Mo}$  и  $^{99m}\text{Tc}$  соответственно;  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$  – постоянные распада  $^{99}\text{Mo}$  и  $^{99m}\text{Tc}$ ;  $t$  – время распада [58, 59].

Зависимость накопления  $^{99m}\text{Tc}$  в генераторной системе показана на рисунке 1.6 [60]. Время полного накопления составляет 22,89 ч.

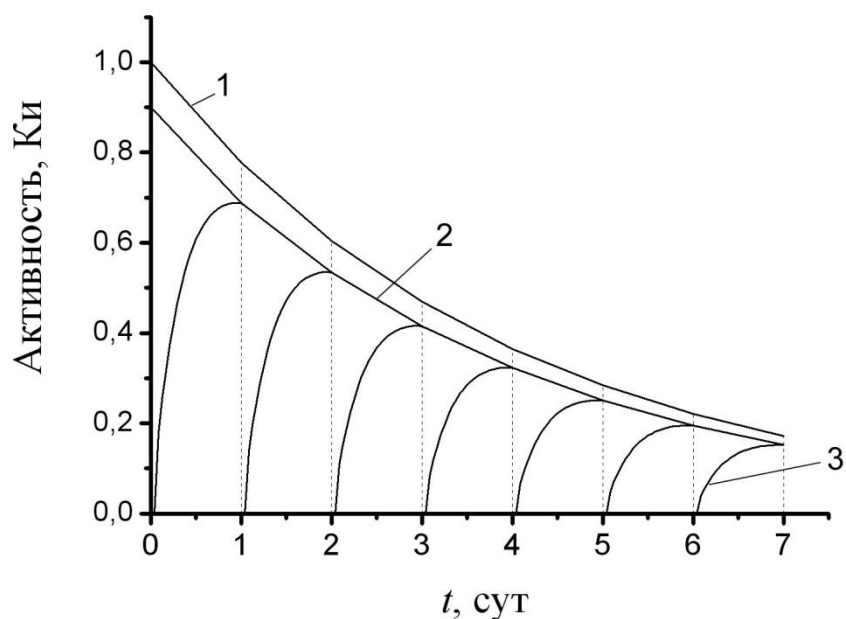
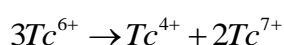


Рисунок 1.6 – Накопление  $^{99m}\text{Tc}$  в генераторной системе: 1 – активность  $^{99}\text{Mo}$  в генераторе; 2 – равновесная активность  $^{99m}\text{Tc}$ ; 3 – накопление  $^{99m}\text{Tc}$  после его полного выделения

В условиях медицинских лабораторий препарат технеция-99м получают непосредственно из  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ -генераторов в виде раствора натрия пертехнетата  $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$  в 0,9% растворе натрия хлорида, где более 99% атомов  $^{99m}\text{Tc}$  имеют высшую степень окисления (VII).

Для химического элемента технеция установлено наличие валентных состояний от +7 до -1. Из них наиболее устойчивыми являются состояния +7 и в меньшей степени +4. Другие валентности технеция проявляются главным образом в его комплексных соединениях. При этом соединения с валентностью менее четырех легко окисляются с переходом в четырех- и семивалентное состояние, а соединения пяти- и шестивалентного Tc проявляют склонность к диспропорционированию по схемам [61, 62]:



Наличие в растворах сравнительно слабых восстановителей, таких как аскорбиновая и соляная кислоты, роданид-ионы, гидразин, гидроксилламин и

другие, способствует переводению Tc(VII) в более низкие валентные состояния [63 - 68].

Следует отметить, что технеций в низких степенях окисления существует в растворах в основном в виде комплексных ионов. Так, в растворах  $> 6$  М HCl ион  $TcO_4^-$  восстанавливается до Tc(V) или Tc(VI), а затем до Tc(IV) с образованием комплексного иона гексахлортехнетата  $TcCl_6^{2-}$ . Растворы этого соединения окрашены в желтый цвет. Четырехвалентное состояние технеция, особенно в хлорокомплексах, достаточно устойчиво. Ионы  $TcCl_6^{2-}$  получают также при обработке солянокислых растворов технеция металлическим цинком [64, 67] или  $SnCl_2$ . Они устойчивы в соляной кислоте с концентрацией вплоть до 1 М, но при ее снижении постепенно гидролизуются. В нейтральных растворах гидролиз протекает значительно быстрее. В щелочных и нейтральных средах существуют, по-видимому, комплексные анионы четырехвалентного технеция типа  $[Tc(OH)_6]^{2-}$ . По мнению Бойля [66], в растворах вообще отсутствуют положительно заряженные ионы четырехвалентного технеция, такие как  $Tc(OH)^{3+}$ ,  $TcO^{2+}$ ,  $TcO_2(OH)^+$ , а существуют лишь комплексные анионы.

В солянокислых растворах в присутствии аскорбиновой кислоты Tc(VII) восстанавливается до четырехвалентного состояния с образованием, по-видимому, комплекса Tc(IV) с аскорбиновой кислотой. Tc(IV) окисляется до Tc(VII) при помощи  $HNO_3$ ,  $H_2O_2$ ,  $Cl_2$ , Ce(IV) и  $MnO_4^-$ , а в слабокислых, нейтральных и щелочных растворах также и кислородом воздуха, причем гексахлортехнетаты более устойчивы к действию кислорода воздуха, чем кислородные соединения четырехвалентного технеция. Несмотря на то, что четырехвалентное состояние менее характерно для технеция, чем семивалентное, однако оно устойчивее других валентных состояний [66, 69].

В слабокислых растворах пертехнетата в присутствии гидразина или гидроксиламина при нагревании раствора до  $90^\circ C$  образуется, по-видимому, ион  $TcO_4^{2-}$  [65], где технеций находится в шестивалентном состоянии. При продолжительном нагревании происходит дальнейшее восстановление Tc(VI) до Tc(IV). Шестивалентное состояние технеция образуется и в щелочной среде при

действии на раствор пертехнетата гидразина. В солянокислых растворах в присутствии роданид-иона  $Tc(VII)$  восстанавливается до  $Tc(V)$  с образованием роданидного комплекса технеция. Для ускорения реакции целесообразно применять восстановители, такие, как гидразин и аскорбиновая кислота.

Следует отметить поведение  $Tc(IV)$  в слабокислых и щелочных растворах, облученных  $\gamma$ -лучами высокой интенсивности. Здесь под действием  $\gamma$ -излучения происходит его окисление до семивалентного состояния с образованием иона  $TcO_4^-$ .

Как уже отмечалось выше, восстановление технеция приводит к существенной стабилизации его низших состояний. Это очень важно, поскольку  $Tc(VII)$  химически малоактивен и не пригоден для синтеза сложных комплексных соединений. Поэтому для введения радиоактивной метки  $^{99m}Tc$  в структуру нанопрепаратов необходимо предварительно перевести его в более низкую степень окисления. Задача осложняется тем, что далеко не все восстановители пригодны для этих целей. Например, гидразин, хоть и является сильным восстановителем, но для медицинских препаратов он не подходит, поскольку является достаточно ядовитым – раздражает слизистые оболочки глаз, дыхательных путей, поражает центральную нервную систему и печень. В значительной степени токсичен и гидроксилламин – при попадании в кровь уничтожает гемоглобин и действует на нервные центры [70]. Аналогичное воздействие оказывает роданид-ион (молекулярная формула  $-SCN$ ), который при попадании на кожу вызывает раздражение, а при введении в организм угнетает щитовидную железу и поражает почки [71]. Поэтому из рассмотренных восстановителей для приготовления медицинских препаратов может быть использовано двухвалентное олово  $Sn(II)$  в соединениях с хлором ( $SnCl_2$ ) или фтором ( $SnF_2$ ), а также аскорбиновая кислота или водород.

## 1.5. Физико-химические свойства оксида алюминия

Изучению свойств оксида алюминия посвящено много работ, поскольку он широко применяется в медицине в качестве катализатора и адсорбента для производства различных генераторных систем:  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ ;  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ ;  $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$  и др. [72]. Оксид, предназначенный для производства адсорбентов и катализаторов, обычно называются «активной окисью алюминия».

Активная окись алюминия получается преимущественно методом термической дегидратации гидроокиси алюминия [73, 74]. Несмотря на то, что  $\text{Al}_2\text{O}_3$  представляет собой стехиометрическое соединение алюминия с кислородом, эта простота сочетается с существованием разных полиморфных гидратированных форм, образование которых зависит от условий получения. Известны две формы безводной  $\text{Al}_2\text{O}_3$ :  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  ( $T_{\text{пл}}=2053^\circ\text{C}$  и  $T_{\text{к}}>3000^\circ\text{C}$  [75]) и  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ . В  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  ионы кислорода образуют плотную гексагональную упаковку, а ионы алюминия распределяются симметрично в октаэдрических пустотах. Структуру  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$  иногда считают дефектной структурой шпинели с дефицитом катиона.

Процессы получения различных форм окиси алюминия, образующихся при разложении кристаллических модификаций  $\text{Al}(\text{OH})_3$ : гиббсита, байерита и бёмита, можно представить схемой, изображенной на рисунке 1.7.

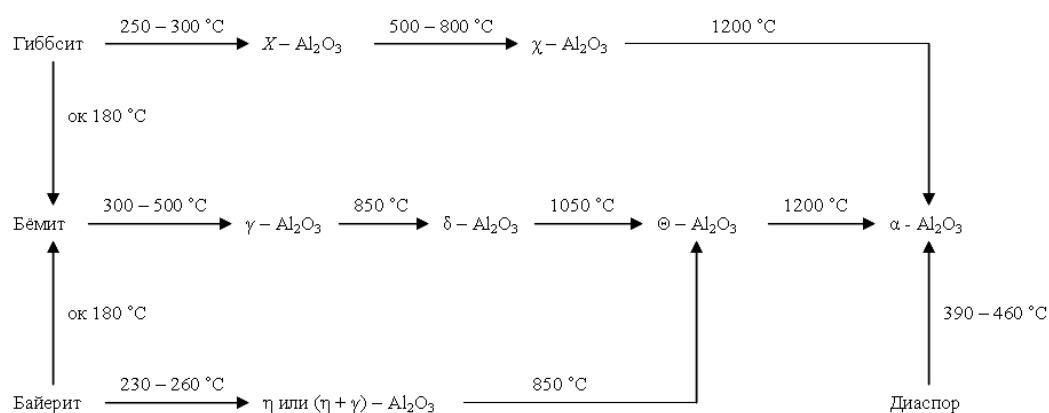


Рисунок 1.7 – Схема получения различных модификаций окиси

Здесь следует отметить, что наиболее высокотемпературная форма  $\alpha$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$  является очень твердым и прочным соединением, устойчивым к действию воды и кислот, тогда как  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$  легко поглощает воду и частично растворяется в кислотах.

В результате изучения свойств окиси алюминия было установлено, что такие важные для адсорбционной активности характеристики, как кристаллическая структура, строение пор и химическая природа определяется различными факторами в процессе получения окиси алюминия [73].

Активацию оксида алюминия обычно проводят циклическим нагревом от  $300^\circ\text{C}$  до  $850^\circ\text{C}$  для образования кристаллического бемита, состав которого близок к  $\text{AlOON Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . В результате цикла нагрева формируются структуры с порами до 5-10 нм в диаметре с удельной поверхностью от нескольких  $\text{м}^2/\text{г}$  до  $100 \text{ м}^2/\text{г}$  и более. При этом, как показано на схеме рис. 1.7, могут быть получены различные изомеры оксида алюминия, в частности, гамма-оксид, который образуется при нагревании бёмита от  $300^\circ$  до  $850^\circ\text{C}$ .

Используемый в хроматографии оксид алюминия в основном содержит  $\gamma$ -форму и небольшие количества других кристаллических форм, например  $\eta$ ,  $\rho$ , имеющих близкие хроматографические свойства. При нагревании до  $900$ - $1000^\circ\text{C}$  они переходят в другие кристаллические модификации ( $\theta$ ,  $\delta$ ,  $\text{K}$ ) [76], а при  $1100^\circ\text{C}$  наблюдается переход в  $\alpha$ -форму, которая хроматографически инертна, вероятно, из-за ее малой удельной поверхности и иной структуры решетки.

Идеальный кристалл  $\gamma$ -окиси алюминия состоит из рядов больших окисных ионов ( $\text{O}^{2-}$ ) и маленьких ионов алюминия ( $\text{Al}^{3+}$ ), занимающих три из каждых четырех полостей между окисными ионами. При комнатной температуре вода легко адсорбируется на поверхности окиси алюминия вплоть до образования монослоя. При этом каждая молекула воды связывается с двумя поверхностными окисными ионами. При нагревании гидратированной окиси алюминия до  $300$ - $400^\circ\text{C}$  большая часть адсорбированной воды удаляется.

Химическая природа поверхности оксида алюминия имеет решающее значение для ее каталитических и адсорбционных свойств. Активная окись



алюминия не представляет собой чистый оксид  $Al_2O_3$ , а содержит в зависимости от температуры и давления водяного пара от нескольких десятых до 5 % воды. В зависимости от условий приготовления в образцах могут присутствовать также и другие компоненты, например окислы щелочных металлов, окись железа и сульфат-ионы. Активная окись алюминия поглощает воду либо в виде гидроксильных ионов, либо в виде молекул воды – в зависимости от температуры. При контакте с водяным паром при комнатной температуре адсорбирует воду в виде недиссоциированных молекул, связывающихся с поверхностью прочными водородными связями. При более высоких давлениях водяного пара наблюдается полимолекулярная физическая адсорбция, с поглощением большого количества воды, однако эту воду можно легко удалить высушиванием образца при температуре около  $120^\circ C$  [77].

Пери и Хэннаи [78] получили ИК–спектроскопическое доказательство того, что при низких температурах на поверхности присутствуют недиссоциированные молекулы воды. При температурах более высоких чем  $300^\circ C$ , ионы  $OH^-$  постепенно удаляется из системы в виде воды. Но и при  $1000^\circ C$  и вакууме в окиси алюминия все еще остается несколько десятых процента воды [77]. Из данных, отражающих зависимость количества остаточной воды от температуры, можно сделать вывод, что свободная энергия активации процесса десорбции продолжает увеличиваться с возрастанием степени дегидратации по крайней мере вплоть до  $800^\circ C$  [79].

Ионы  $OH^-$  на поверхности окиси алюминия ведут себя как брэнстедовские кислотные центры. Когда же в процессе дегидратации два соседних иона  $OH^-$  объединяются с образованием молекулы воды, на поверхности остается ион кислорода. По мере более глубокого изучения строения поверхности стали переходить к представлениям о том, что два реагирующих соседних иона  $OH^-$  оставляют после себя непокрытый один из атомов  $Al$ , который из-за дефицита электронов ведет себя как льюисовский кислотный центр. Такие брэнстедовские и льюисовские кислотные центры всегда рассматривались как активные центры на поверхности окиси алюминия.

Авторы работы [77] показали, что, кроме обычных макропор внутри частиц, образующих гранулы, и пор между этими частицами, имеется система цилиндрических пор правильной формы диаметром  $27 \text{ \AA}$ , расположенных гексагонально. Удельная поверхность типичной хроматографической окиси алюминия обычно составляет  $100\text{-}200 \text{ м}^2\text{г}^{-1}$ .

На обезвоженной окиси алюминия, поверхность которой составляет плоскость (100), верхний слой состоит из ионов кислорода. При низких температурах может сформироваться целиком заполненный монослой ионов  $\text{OH}^-$ . Поскольку в плоскости (100) один ион кислорода занимает площадь  $7,9 \text{ \AA}^2$ , одна молекула воды ( в виде двух ионов  $\text{OH}^-$ ) в целиком заполненном монослое адсорбируется на  $16 \text{ \AA}^2$  поверхности. Предполагается, что при дегидратации соседние ионы  $\text{OH}^-$  соединяются по закону случая, но при этом только две трети ионов  $\text{OH}^-$  могут удаляться без нарушения локальной упорядоченности. При степенях покрытия ионами  $\text{OH}^-$  примерно менее 10%, когда уже больше нет соседних пар ионов  $\text{OH}^-$ , дальнейшая дегидратация становится возможной только при условии миграции ионов по поверхности. ИК - спектроскопические данные, полученные при температурах вплоть до  $800^\circ\text{C}$ , показывают, что даже при этой температуре ионы  $\text{OH}^-$  находятся на определенных поверхностных центрах, а не обладают подвижностью двумерного газа. Но при такой высокой температуре протоны легко мигрируют по поверхности, а постепенное уменьшение удельной поверхности медленное образование высокотемпературных форм окиси алюминия указывают на то, что миграция ионов кислорода и алюминия также происходит [73, 74].

В процессе дегидратации, протекающей с ростом температуры, брэнстедовские кислотные центры, число которых при повышенных концентрациях воды достаточно велико, постепенно превращаются в льюисовские кислотные центры. В окиси алюминия, прокаленной при температуре около  $600^\circ\text{C}$  или более высоких температурах, возникают тройные кислородные вакансии, которые следует рассматривать как легко доступные сильнокислотные льюисовские центры. Присутствие различных кислотных

центров легко обнаруживается по ИК-спектрам адсорбированного  $\text{NH}^3$  [80]. Эти ИК – спектры свидетельствуют о наличии частиц  $\text{NH}^{4+}$ ,  $\text{NH}^3$ ,  $\text{NH}^{3+}$  и  $\text{NH}^{2-}$ , которые соответственно связаны с бренstedовскими, очень сильно кислотными льюисовскими центрами (тройные вакансии) и диссоциативно адсорбированы в виде  $\text{NH}^{2-}$  и  $\text{OH}^-$  на рядом расположенных кислотном и основном центрах [73, 74].

До сих пор основное внимание уделялось бренstedовским и льюисовским кислотным центрам на поверхности окиси алюминия, обычно рассматриваемым как активные центры для большого числа каталитических реакций. Однако из модели Пери [78] следует вывод, что на поверхности могут находиться также двойные и тройные кислородные дефекты (два или три кислородных иона на непосредственно соприкасающихся центрах), которые, как можно ожидать, будут вести себя подобно основным электроно-донорным центрам [73, 74].

Как следует из приведенного материала, химия процессов, протекающих на оксиде алюминия, чрезвычайно сложна. В зависимости от условий его предсорбционной подготовки на поверхности оксида могут образовываться различные активные центры, способные оказывать воздействие на кинетику адсорбции – десорбции технеция-99м.

### **1.6. Общая характеристика процессов адсорбции на границе раствор - твердая фаза**

Молекулы адсорбата могут адсорбироваться на поверхности двумя способами. При физической адсорбции взаимодействие между поверхностью и адсорбированной молекулой обусловлено силами Ван-дер-Ваальса. Это дальнодействующее, но слабое взаимодействие с изменением энтальпии около 20 кДж/моль [81]. Вследствие этого, молекула в любой момент может покинуть поверхность, то есть физическая адсорбция всегда обратима. Являясь самопроизвольным процессом, она тем больше, чем выше концентрация адсорбируемого вещества. При этом ее скорость достаточно велика за исключением случаев адсорбции на пористых поверхностях.

Напротив, при химической адсорбции молекулы удерживаются на поверхности за счет образования химических связей ковалентного характера. В данном случае энергия связи значительно выше - около 200 кДж/моль. Поэтому, если энергия активации мала или равна нулю, то хемосорбция может протекать быстро, и наоборот, если энергия активации больше нуля, то может быть медленной. Хемосорбция, как правило, необратимый процесс, так как вместо адсорбата могут одновременно десорбироваться другие соединения. Следует отметить, что на границе твердое тело-раствор адсорбция сильно усложняется наличием растворителя, молекулы которого могут также адсорбироваться на поверхности адсорбента и конкурировать с молекулами адсорбата. Осложнение может вызывать также взаимодействие молекул адсорбата с молекулами среды.

#### ***Молекулярная адсорбция из растворов.***

Различается два случая адсорбции из раствора на твердой поверхности: адсорбция электролитов, когда избирательно адсорбируется один из ионов электролита, и адсорбция не электролитов, когда адсорбируются молекулы адсорбата.

Если известна удельная поверхность адсорбента, величину адсорбции относят к единице поверхности. Зависимость концентрации от изменения молекулярной равновесной адсорбции из раствора на твердом теле адсорбируемого вещества характеризуется обычной изотермой адсорбции и может быть описана с помощью уравнения Ленгмюра.

Для процесса адсорбции из раствора на твердом теле применимо и уравнение Гиббса. Экспериментальное определение величины гиббсовской адсорбции проводят путем регистрации изменения мольной концентрации адсорбата, произошедшее в растворе в результате адсорбции.

#### ***Влияние различных факторов на молекулярную адсорбцию.***

***Влияние природы среды.*** Поскольку при адсорбции из раствора молекулы адсорбата и растворителя конкурируют друг с другом, то, очевидно, что чем хуже будет адсорбироваться среда, тем лучше будет происходить адсорбция растворенного вещества. Из термодинамических соображений также следует, что

чем выше поверхностное натяжение чистой среды, тем меньше ее молекулы будут способны к адсорбции на твердом теле и, соответственно, тем лучше на нем будет адсорбироваться растворенное вещество. Поэтому адсорбция на твердом теле обычно хорошо идет из водных растворов и гораздо хуже из растворов углеводов, спиртов и других жидкостей со сравнительно малым поверхностным натяжением. В первом приближении можно считать, что чем лучше среда растворяет адсорбат, тем хуже в этой среде идет адсорбция [82].

**Влияние свойств адсорбента.** На адсорбцию из растворов сильно влияет природа и пористость адсорбента. Неполлярные адсорбенты лучше адсорбируют неполярные адсорбаты, а полярные адсорбенты – полярные адсорбаты. Влияние на адсорбцию размера пор адсорбента связано с размерами молекул адсорбата. При увеличении пористости адсорбента адсорбция малых молекул из растворов обычно возрастает, поскольку мелкопористые сорбенты обладают большим избирательным действием. Однако крупные молекулы адсорбата не могут попасть в узкие поры адсорбента, и в этом случае адсорбция сильно замедляется.

**Влияние свойств адсорбата.** О влиянии химической природы адсорбата на его способность адсорбироваться на твердом теле трудно сделать какой-либо однозначный вывод, так как адсорбируемость в этом случае сильно зависит от природы адсорбента и среды. Все же, наиболее важным правилом в этом случае является правило уравнения полярности, сформулированное П.А. Ребиндером. Согласно этому правилу, вещество  $C$  может адсорбироваться на поверхности раздела фаз  $A$  и  $B$ , если оно в результате своего присутствия в поверхностном слое будет уравнивать разность полярностей этих фаз. То есть, адсорбция будет идти, если полярность вещества  $C$ , характеризуемая диэлектрической проницаемостью, будет находиться между полярностью веществ  $A$  и  $B$ . Из сказанного можно сделать вывод, что все полярные гидрофильные вещества должны хорошо адсорбировать поверхностно-активные вещества из неполярных и слабополярных жидкостей, и наоборот, все неполярные гидрофильные вещества будут хорошо адсорбировать поверхностно-активные вещества из полярных жидкостей. Также

известно, что с увеличением молекулярного веса способность вещества адсорбироваться возрастает.

**Влияние времени и температуры.** Адсорбция вещества из раствора идет медленнее адсорбции газа, так как уменьшение концентрации в граничном слое может восполняться только путем диффузии, происходящей в жидкости довольно медленно. Для ускорения процесса часто применяют перемешивание или встряхивание системы. Особенно медленно может происходить адсорбция больших молекул на адсорбенте с достаточно узкими капиллярами. При повышении температуры адсорбция из раствора, как это следует из термодинамики, уменьшается. Однако когда растворимость адсорбата с увеличением температуры повышается, это может привести к повышению адсорбции за счет увеличения равновесной концентрации раствора [82].

**Ионная адсорбция.** Адсорбция электролитов не укладывается в рамки учения о молекулярной адсорбции, так как адсорбент может по-разному адсорбировать ионы, на которые распадается молекула электролита в растворе. На адсорбцию ионов существенно влияет природа адсорбента. Ионы, способные поляризоваться, адсорбируются на поверхностях, состоящих из полярных молекул или ионов. Поэтому ионную адсорбцию еще называют полярной адсорбцией. Микроучастки поверхности, несущие определенный заряд, адсорбируют противоположно заряженные ионы. При этом противоположно заряженные ионы электролита непосредственно не сорбируются, но под действием электростатических сил остаются вблизи адсорбированных ионов, образуя на поверхности адсорбента двойной электрический слой.

На адсорбционную способность ионов сильно влияет их радиус. Так из ионов с одинаковой валентностью максимальной адсорбционной способностью обладают ионы наибольшего радиуса. Первой причиной такого эффекта является большая поляризуемость таких ионов, что увеличивает их способность притягиваться к поверхности, состоящей из ионов или полярных молекул. Вторая причина заключается в меньшей гидратации больших ионов, которая обычно препятствует адсорбции, так как наличие гидратной оболочки уменьшает

электролитическое взаимодействие. С другой стороны, адсорбционная способность ионов также сильно зависит и от их валентности. Чем больше валентность иона, тем сильнее он притягивается противоположно заряженными участками поверхности. Также нужно отметить, что на поверхности адсорбента могут адсорбироваться, как ионы, так и молекулы из которых они образовались, причем между ними существует адсорбционное равновесие.

**Обменная адсорбция.** Когда на поверхности адсорбента уже адсорбирован электролит, то при контакте сорбента с другим электролитом почти всегда наблюдается обменная адсорбция – обмен ионов между двойным электрическим слоем и средой. При обменной адсорбции адсорбент, поглощая определенное количество каких-либо ионов, одновременно выделяет в раствор эквивалентное количество других ионов того же знака, вытесненных с поверхности. К обменной адсорбции способны также ионы, образующиеся из самого адсорбента в результате диссоциации его молекул.

Обменная адсорбция имеет ряд особенностей. Во-первых, ионная адсорбция специфична, то есть на обмен способны только определенные ионы. При этом на ионную адсорбцию сильно влияет как природа имеющегося на ней двойного электрического слоя, так и природа адсорбированного иона. Специфичность обменной адсорбции указывает на то, что по своей природе этот процесс приближается к химическим явлениям. Во-вторых, обменная адсорбция не всегда обратима. В-третьих, обменная адсорбция протекает более медленно, чем молекулярная адсорбция. И, наконец, при обменной адсорбции может изменяться рН среды. Это наблюдается в тех случаях, когда обмениваемым ионом является водородный или гидроксильный ион. Если на адсорбенте происходит замещение каким-либо катионом водородного иона, то последний, поступая в раствор, снижает рН среды. При этом адсорбент ведет себя подобно кислоте. Точно также, в случае замены анионом гидроксильного иона, происходит повышение рН раствора, и адсорбент ведет себя как основание. Подобными свойствами обладает, например, оксид алюминия, который в воде ведет себя подобно основному буферному раствору, чья изоэлектрическая точка находится в области

pH=9-10. В работе [83] показано, что при прохождении через колонку с оксидом алюминия раствора парамолибдата аммония с начальным значением pH=2, на выходе обнаруживается увеличение pH до 8.

С точки зрения рассмотренных закономерностей можно предполагать, что для получения устойчивых соединений при процессах адсорбции необходимо, чтобы взаимодействие радиоактивной метки с адсорбентом происходило путем образования химических связей ковалентного характера, то есть за счет хемосорбции.

Из анализа представленных литературных данных следует, что применяемые для медицинской диагностики меченные радионуклидами нанокolloидные препараты, изготавливаются на основе соединений, образующих устойчивые гидрозоли. При этом для их изготовления чаще всего выбирается путь, включающий предварительное получение уже готовых частиц с заданными (определенными) размерами с последующей их модификацией радионуклидами. Большая часть препаратов, используемых в практической медицине, представляет собой простые неорганические комплексы  $^{99m}\text{Tc}$  с сульфидами рения и сурьмы, синтезируемых по достаточно сложным технологиям. В этой связи в диссертации изучается возможность получения устойчивого нанокolloидного соединения более простым способом - путем проведения адсорбции на поверхности гамма-оксида алюминия восстановленного  $^{99m}\text{Tc}$ . Основными предпосылками для использования оксида  $\text{Al}_2\text{O}_3$  в качестве транспортирующего агента метки  $^{99m}\text{Tc}$  является его более низкая токсичность, чем у сульфидов, в сочетании с его доступностью и низкой стоимостью. До настоящего времени исследования по получению меченного  $^{99m}\text{Tc}$  нанокolloида гамма-оксида  $\text{Al}_2\text{O}_3$  в мире не проводились.

Для создания методики его изготовления в виде готового радиофармпрепарата необходимо определить условия проведения устойчивой адсорбции  $^{99m}\text{Tc}$  на гамма-оксиде  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Исследовать влияние на величину адсорбции общей активности  $^{99m}\text{Tc}$  и его валентного состояния. Подобрать качественный и количественный состав реагентов, необходимых для



получения меченого коллоида с размерами в пределах 20-100 нм. Сделать оценку основных свойств и радиохимической чистоты полученного препарата и провести его испытания на экспериментальных животных. Все сказанное и определило цели и задачи настоящей работы.

## Глава 2. Материалы и методы исследований

### 2.1. Характеристика используемых материалов и оборудования

Для проведения исследований использовали вещества и материалы, приведенные в таблице 2.1. В таблице 2.2 представлено оборудование, применяемое для проведения радиометрических измерений и аналитического контроля состава наноразмерных соединений оксида  $\text{Al}_2\text{O}_3$  с  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ .

Таблица 2.1 - Характеристики используемых веществ и реактивов

№ п/п	Наименование	ГОСТ, ТУ, страна, фирма	Квалификация или сортность	Примечание
1	2	3	4	5
1	Нанопорошок гидроксида алюминия	НИИ ВН ТПУ	Размер частиц 50-80 нм	
2	Алюминия оксид для колоночной хроматографии 0,063-0,200 мм	«Merck», Германия	Ч	
3	Кислота соляная	ГОСТ 3118-77	ХЧ	
4	Раствор натрия хлорида 0,9 % для инъекций	ФС 42-2572-95	Фарм.	
5	Ацетон	ТУ 2633-039-44493179-00	ОСЧ	

6	Раствор натрия пертехнетата	Генератор технеция « <sup>99m</sup> Tc-ГТ-ТОМ», ТУ 9452-001-02070200		РХЧ > 99%;
7	Натрий фосфорнокислый пиро 10-водный	ГОСТ 342-77	ХЧ	
8	Олово(II) хлорид дигидрат	«Merck», Германия	ХЧ	
9	Аскорбиновая кислота	ГОСТ 4815-76		
10	Желатин	ГОСТ 11293-89	пищевой	
11	Спирт этиловый	ГОСТ Р-51-652-2000	«Экстра», 96 %	

Таблица 2.2 - Радиометрическое и аналитическое оборудование

№ п/п	Наименование	ГОСТ, ТУ, страна, фирма	Примечание
1	2	3	4
1	Гамма-сканер для планарной хроматографии «ГаммаСкан-01А»	Россия	
2	Специализированная радиометрическая установка УРС-06/07	«Канберра», США	
3	Фотонный кросскорреляционный спектрометр Nanophox	Германия	
4	Милливольтметр рН-150М	Россия	
5	Радиометр жидкостный гамма РЖГ-07-ц	Россия	

6	Стерилизатор паровой ГК-10-1	Россия	
7	Ультразвуковой диспергатор		мощность 800 Вт
8	Мембранные фильтры «МФАС-Б-2»	ТУ 6-55-221-879- 88	Диаметр пор 220; 100 и 50 нм
9	Шприцевые насадки для мембранной фильтрации, «Minisart»	Германия	
10	Дуговой генератор ДГ-2 со штативом для крепления электродов	Россия	
12	Угольные электроды марки В-3	(ТУ-48-0123-71)	диаметр 6 мм, длиной 50 мм
13	Анализатор многоканальный атомно- эмиссионных спектров «МАЭС»	Россия, ПО «АТОМ»	
14	Камера хроматографическая прессованная (стекло) 19x24,6x11 см	Россия	
15	Столик для нанесения и просушки проб на пластины с подогревом	Россия	
16	Полуавтомат закаточный ПЗФ - «Изотерм»	Россия	
17	Радиометр РИС-А1 «Дозкалибратор»	Россия	
18	Спектрофотометр ЮНИКО с наличием сменных спектральных щелей	Россия	
19	Шкаф сушильно-стерилизационный ШСС-80	Россия	
20	Одноканальный амплитудный анализатор Strahlungsmessgerät 20 046	Германия	

## 2.2. Методика приготовления суспензии из наноразмерного порошка гамма-оксида $Al_2O_3$

В качестве объекта исследования использовался нанопорошок гамма-оксида  $Al_2O_3$ , приготовленный из нанопорошка гидроксида алюминия ( $Al(OH)_3$ ) путем его прокаливания в муфельной печи при температуре  $400\text{ }^\circ\text{C}$  в течение 2 ч. Нарботка опытных партий исходного гидроксида алюминия была проведена в НИИ высоких напряжений Томского политехнического университета. Размер частиц определяли при помощи электронного микроскопа Philips SEM 515 на базе СФТИ ТГУ. Изображения нанопорошков гидроксида алюминия и полученного гамма-оксида алюминия показано на рисунке 2.1. Средний размер частиц в обоих случаях находится в пределах 50-80 нм.

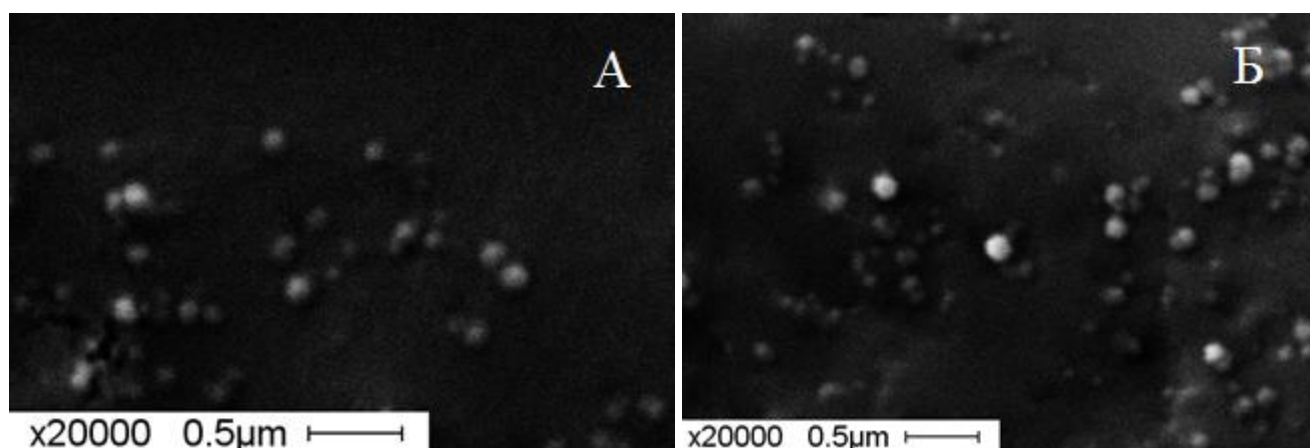


Рисунок 2.1 – Фотография наночастиц оксида алюминия: А – исходный нанопорошок гидроксида алюминия, Б - гамма-оксид алюминия

Для приготовления суспензии во флакон с навеской полученного гамма-оксида (~ 0,010 г) вводили 10 мл дистиллированной воды, после чего суспензию обрабатывали в ультразвуковую ванне в течение одного часа. В последующем проводили ее кислотную обработку 0,055 М раствором соляной кислоты до значения  $pH=2$ . С этой целью в стакан с суспензией порциями по 10 мкл вводили раствор кислоты с интервалом в 30 с. Одновременно проводили измерение  $pH$  среды. Затем суспензию вновь обрабатывали в ультразвуковой ванне в течение 15

мин и в последующем хранили в темном месте в закрытом промаркированном флаконе.

### **2.3. Методики приготовления растворов используемых реагентов**

#### ***Приготовление раствора олова дихлорида дигидрата.***

В колбу вместимостью 100 мл вносят навеску олова хлорида дигидрата ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) массой 0,7 г (точная навеска) и растворяют в 2 мл 1М HCl. По окончании растворения объем доводят до метки кипяченой дистиллированной водой. Растворение проводят в атмосфере инертного газа (аргона). В полученном растворе концентрация олова составляет 7 мг/мл.

#### ***Приготовление раствора желатина.***

В колбу вместимостью 100 мл вносят навеску желатина медицинского массой 10 г и проводят растворение в кипяченой дистиллированной воде на водяной бане при температуре 70°C в течение 10 мин. После полного растворения доводят водой объем до метки. Полученный раствор имеет концентрацию желатина 10%.

#### ***Приготовление раствора аскорбиновой кислоты.***

В колбу вместимостью 100 мл вносят навеску аскорбиновой кислоты массой 1 г (точная навеска) и проводят растворение в кипяченой дистиллированной воде. После объем раствора доводят до метки той же водой. Полученный раствор имеет концентрацию аскорбиновой кислоты 10 мг/мл.

#### ***Приготовление раствора пирофосфата натрия десятиводного.***

Навеску пирофосфата натрия десятиводного массой 44 мг растворяют в 10 мл кипяченой дистиллированной воды. Концентрация пирофосфата натрия десятиводного составляет 4,4 мг/мл.

## 2.4. Подготовка хроматографического оксида $\text{Al}_2\text{O}_3$ к проведению адсорбции $^{99\text{m}}\text{Tc}$

Процесс приготовления активированного оксида  $\text{Al}_2\text{O}_3$  для колоночной хроматографии к проведению адсорбции технеция-99м включает несколько этапов [84-87]. На первом этапе проводят операцию «отмучивания», которая состоит в отделении мелкой фракции оксида. Для этого в цилиндр ёмкостью 0,5л (с притертой пробкой) помещают примерно 60 мл порошка оксида и добавляют дистиллированную воду 450 мл. Закрыв пробкой, несколько раз переворачивают цилиндр для перемешивания смеси, затем дают ей отстояться 30-40 с и сливают воду над оксидом. Операцию повторяют до тех пор, пока оксид  $\text{Al}_2\text{O}_3$  будет полностью оседать плотной массой в течение 40-60 с. При этом столб воды над оксидом должен оставаться прозрачным. После отделения воды оксид сушат при температуре  $120^\circ\text{C}$  до полного высыхания (не менее 4-х часов). Подготовленный оксид хранят в темном месте в промаркированной стеклянной посуде с притертой крышкой.

На втором этапе проводят кислотную обработку оксида алюминия 0,055 М раствором соляной кислоты. С этой целью навеску оксида  $\text{Al}_2\text{O}_3$  помещают в стакан и наливают расчётное количество  $\text{HCl}$ , туда же помещают электрод рН-метра. Объем кислоты, требуемый для достижения разных значений кислотной обработки оксида, рассчитывают по формуле:

$$V_{\text{HCl}} = \left( \frac{m_{\text{оксида}} \cdot v_{\text{HCl}}}{C_{\text{HCl}}} \right) \cdot 1000 \quad (2.1)$$

где  $m_{\text{оксида}}$  – масса оксида алюминия,  $v_{\text{HCl}}$  – количество кислоты на 1грамм оксида алюминия,  $C_{\text{HCl}}$  – концентрация кислоты.

Смесь равномерно перемешивают с одновременным контролем рН раствора. После достижения значения рН = 3,3, что свидетельствует о практически полном прекращении реакции, раствор над осадком сливают, а обработанный оксид сушат при температуре  $120^\circ\text{C}$  до полного высыхания (не менее 4 часов).

Подготовленный оксид хранят в темном месте в промаркированной стеклянной посуде с притертой крышкой.

## 2.5. Методика проведения радиометрических измерений

### 2.5.1. Методика определения объемной активности технеция-99м

Для определения объемной активности  $^{99m}\text{Tc}$  в элюатах, выделяемых из генератора технеция « $^{99m}\text{Tc}$ -ГТ-ТОМ», из них отбирали пробы объемом 5 мкл в количестве не менее 5, которые в последующем наносили на «пяточки» из фильтровальной бумаги диаметром 15 мм и упаковывали в полиэтиленовую пленку с липким слоем. Измерение полученных проб проводили на гамма-спектрометре с Ge(Li) детектором. Для снижения загрузки детектора от интенсивного излучения  $^{99m}\text{Tc}$  измерения проводили через фильтр из оргстекла от 2 до 5 мм. В этих же условиях измеряли образцовый источник  $^{152}\text{Eu}$  из набора ОСГИ. Последующий расчет объемной активности  $^{99m}\text{Tc}$  ( $A_{\text{Tc}}$ ) проводили с использованием соотношения:

$$A_{\text{Tc}} = A_o \cdot \frac{l_o P_o}{l P} \cdot \frac{S}{S_o} \cdot \frac{1}{V} \quad (2.2)$$

где  $A_o$  - активность образцового источника, Бк;  $S$  и  $S_o$  – площади измеряемых пиков в спектрах препарата и образцового источника с энергиями  $E=0,142$  МэВ и  $E_o=0,122$  МэВ;  $l_o=3,2 \cdot 10^{-2}$  и  $l=3,4 \cdot 10^{-2}$  эффективности регистрации гамма-квантов с энергиями  $E$  и  $E_o$ , соответственно;  $P=88,8$  % и  $P_o=28,3$  % – выходы гамма-квантов  $^{99m}\text{Tc}$  и  $^{152}\text{Eu}$ ;  $V$  – объем пробы препарата, взятой для измерения, мл. По результатам измерения 5 проб рассчитывали среднее значение активности  $^{99m}\text{Tc}$  в растворе, Бк/мл при доверительной вероятности 0,95 и доверительном интервале  $\pm 1$ . Аналогичным образом измеряли активности суспензий, приготовленных путем смешивания наноразмерного порошка гамма-оксида  $\text{Al}_2\text{O}_3$  с элюатом  $^{99m}\text{Tc}$ .



### 2.5.2. Определение степени адсорбции $^{99m}\text{Tc}$ на оксидах алюминия с различной кислотной обработкой

Исследования проводили на оксиде алюминия для колоночной хроматографии 0,063-0,200 мм. При этом использовали следующую методику. В стаканы с навесками подготовленных оксидов алюминия массой  $\sim 1$  г вводили по 3 мл исходного элюата  $^{99m}\text{Tc}$ , предварительно отобрав из него 3 пробы объемом 5 мкл для проведения радиометрических измерений (эталон). После интенсивного перемешивания смеси проводили осаждение оксида методом центрифугирования. Затем из верхнего слоя водной фазы из каждого стакана также отбирали по 3 пробы 5 мкл для измерений. Последующие расчеты адсорбированного оксидами  $^{99m}\text{Tc}$  -  $W$  (%) проводили с использованием уравнения:

$$W = \frac{A_{\text{уcx}} - A_i}{A_{\text{уcx}}} \cdot 100 \quad (2.3)$$

где  $A_{\text{э}}$  – средняя активность эталона в 5 мкл,  $A_i$  – средняя активность пробы образца в 5 мкл. Значения измеренных активностей приводили к одному времени. По полученным результатам строили зависимость изменения величины адсорбции  $^{99m}\text{Tc}$  от массы поглощенной оксидом кислоты.

### 2.5.3. Методика получения радиохроматограмм

Распределение  $^{99m}\text{Tc}$  по длине хроматограмм изучалось с помощью установки «ГаммаСкан-01А». Методика получения хроматограмм состояла в следующем. Испытуемый образец с  $^{99m}\text{Tc}$  в объеме 5 мкл наносили на предварительно подготовленную пластину с тонким слоем силикагеля типа "Sorbfil" размером 20×150 мм, отступив от одного из краев на 15 мм (линия старта). После высушивания пятна, пластину помещали в предварительно подготовленную хроматографическую камеру, в которой содержится подвижная

фаза – ацетон с высотой слоя на дне камеры 1 см. Хроматографирование проводили в течение 10 мин - промежутка времени достаточного для полного распределения подвижных пертехнетат-ионов  $^{99m}\text{Tc}(\text{VII})$  по длине хроматограммы. Полученную хроматограмму после высушивания при комнатной температуре обклеивали с двух сторон «липкой» лентой, и проводили ее сканирование на установке «Гамма-Скан-01А» по всей длине. При этом на монитор компьютера выдается информация о том, на каком сантиметре от края пластины достигается максимум гамма-излучения  $^{99m}\text{Tc}$  и о процентном соотношении площади пика активности к общей активности хроматограммы. Перед проведением измерений проводили калибровку прибора.

#### 2.5.4. Определения размера меченных $^{99m}\text{Tc}$ коллоидных частиц методом фильтрации

Определение размера меченных технецием-99м нанокolloидных частиц проводили по методике, основанной на измерении активности суспензии до и после ее фильтрации через фильтры с заданными размерами пор: 220, 100 и 50 нм. С этой целью отбирали по 3 пробы объемом 5 мкл из исходных растворов и фильтратов для последующего измерения их активности. Расчеты выхода продуктов с различными размерами частиц определяли по приведенным ниже формулам:

$$C_{220} = \frac{A_{uc} - A_1}{A_{uc}}; \quad C_{100} = \frac{A_1 - A_2}{A_1}; \quad C_{50} = \frac{A_2 - A_3}{A_2} \quad (2.4)$$

где  $A_{uc}$  – активность исходной суспензии до фильтрации;  $A_1$  – активность, измеренная после фильтрации через фильтр 220 нм;  $A_2$  – активность после фильтрации через 100 нм;  $A_3$  – активность, измеренная после фильтрации через 50 нм.

## 2.6. Инструментальный метод определения размеров меченых коллоидов

Определение размеров частиц проводили методом спектроскопии кросс-корреляции фотонов (PCCS) на анализаторе размеров частиц Nanophox фирмы Sympatec GmbH (рисунок 2.2). К числу основных достоинств метода PCCS относится то, что результаты измерения не зависят от концентрации исследуемого образца. Метод позволяет проводить измерения размеров частиц и стабильности образца даже в полностью непрозрачных суспензиях и эмульсиях в диапазоне от 1 нм до нескольких микрон [88]. Внешний вид анализатора Nanophox показан на рисунке 2.2.

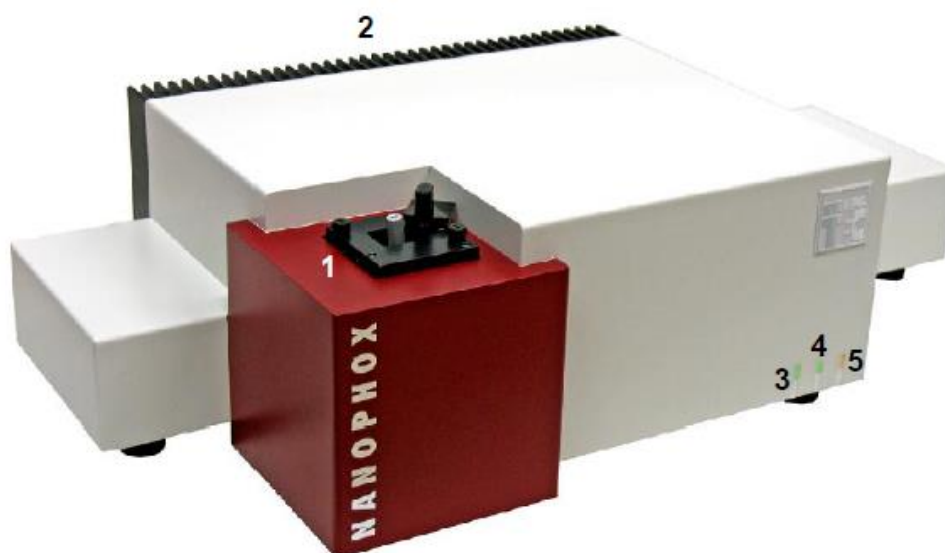


Рисунок 2.2 – Анализатор Nanophox: 1- измерительная зона, 2 - радиатор, 3 - LED-индикатор, 4 - LED-индикатор, 5 - LED-индикатор

Для определения размера частиц в пластиковую кювету анализатора 10×10 мм отбирают пробу препарата объемом 3 мл и помещают в зону измерения. Далее при помощи программного обеспечения задают координаты пересечения лучей в центре кюветы и время экспозиции, в течение которого измеряется интенсивность рассеянного света. После программной обработки полученных данных на мониторе компьютера выдается отчет с графиком распределения частиц по размерам, а также информация о среднем размере частиц.

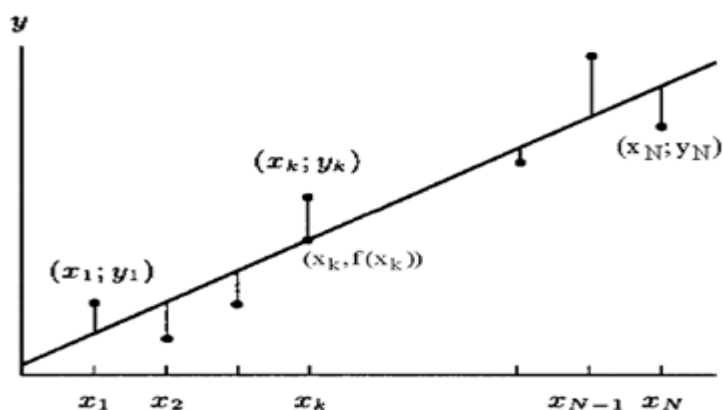
## 2.7. Методика определения химических примесей

Для определения примесей посторонних химических элементов, а так же количественного определения алюминия в получаемом нанокolloидном препарате использовали метод эмиссионного спектрального анализа, основанный на сжигании пробы анализируемого вещества в электрической дуге с последующей регистрацией спектральных линий определяемых элементов и их интенсивностей. Методики проведения качественного и количественного анализа с использованием спектрографа ИСП-30 и анализатора МАЭС подробно рассмотрены в 4 главе диссертации.

## 2.8. Методы статистической обработки результатов

Статистическую обработку экспериментальных результатов радиометрических измерений активностей  $^{99m}\text{Tc}$  в пробах проводили с использованием критерия Стьюдента, при доверительной вероятности 0,95 и доверительном интервале  $\pm 1\%$  от среднего значения. Измерения проводили не менее 5 раз с последующим внесением поправки на время распада радионуклида [89, 90].

Обработку экспериментальных данных, полученных при проведении исследований, осуществляли с помощью пакета программ Microsoft office Excel, а также методом наименьших квадратов. В соответствии с этим строили зависимость функции  $y = f(x, a_0, a_1, \dots, a_k)$  таким образом, чтобы сумма квадратов отклонений измеренных значений  $y_i$  от расчетных  $f(x_i, a_0, a_1, \dots, a_k)$  была наименьшей (рисунок 2.3)

Рисунок 2.3 – График зависимости  $y = f(x)$ 

Математически эта задача сводилась к определению параметров  $a_0, a_1, a_2, \dots, a_k$ , при которых функция принимала бы минимальное значение.

Для построения линейной функции (линии регрессии) определяли параметры функции  $y = ax + b$ . Для этого составляли уравнение функции  $S$ :

$$S = \sum_{i=1}^n [y_i - ax_i - b]^2 \quad (2.5)$$

дифференцируя которую по  $a$  и  $b$ , формировали систему линейных уравнений для их последующего решения.

Линейную связь между  $x$  и  $y$  оценивали с помощью коэффициента корреляции. Его рассчитывали по формуле:

$$r = \frac{\frac{1}{n} \sum x_i \cdot y_i - \bar{x} \cdot \bar{y}}{\sigma_x \cdot \sigma_y}$$

Чем меньше отличалась абсолютная величина  $r$  от единицы, тем ближе к линии регрессии располагались экспериментальные точки. При равенстве коэффициента корреляции нулю, переменные  $x, y$  являлись некоррелированными.

Для проверки, значимости отличая от нуля коэффициент корреляции, использовался критерий Стьюдента. Вычисление критерия проводилось по формуле:

$$t = \frac{\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

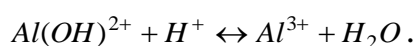
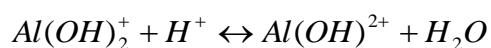
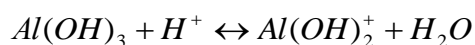
Значение  $t$  сравнивалось со значением, взятым из таблицы распределения Стьюдента для доверительной вероятности 0,95 и соответствующего числа степеней свободы. Если вычисленное значение  $t$  оказывалось больше табличного - это означало, что коэффициент корреляции значимо отличен от нуля.

### Глава 3. Экспериментальное изучение процесса адсорбции технеция-99м на оксиде алюминия

#### 3.1. Исследование адсорбции на оксиде $\text{Al}_2\text{O}_3$ пертехнетат-ионов $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$

При выделении (элюировании)  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  из  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ -генератора 0,9 % раствором  $\text{NaCl}$  более 99 % его атомов присутствует в растворе в виде пертехнетат-ионов -  $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$  и имеют высшую степень окисления (+VII) [91]. Поэтому на первом этапе исследований по получению меченых нанокolloидов  $^{99\text{m}}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$ , прежде всего, было проведено изучение и сделана оценка адсорбционных свойств  $^{99\text{m}}\text{Tc(VII)}$ , поскольку его использование для этих целей является наиболее удобным вариантом с технологической точки зрения.

Как правило, перед проведением адсорбции тех или иных анионов на оксиде  $\text{Al}_2\text{O}_3$  предварительно проводят его кислотную активацию для создания на его поверхности устойчивых центров адсорбции. Это связано с тем, что  $\gamma$ -оксиды алюминия имеют неоднородную структуру и могут частично содержать гидроксильные ионы, вплоть до образования ими целиком заполненных монослоев. Исходя из этого, можно предполагать присутствие в оксиде, как гидроокиси алюминия  $\text{Al(OH)}_3$ , так и бёмита  $\text{AlO(OH)}$ . В случае гидроокиси, процесс ее взаимодействия с соляной кислотой можно представить последовательностью реакций:



Конечным итогом такого взаимодействия может явиться образование активных ионов алюминия с зарядом +3. Напротив, в результате реакции бёмита с  $\text{HCl}$  возможно, кроме того, образование ионов  $\text{AlO}^+$  с зарядом +1.

Например, в работе [92] при изучении адсорбции молибдена на оксиде алюминия показано, что его максимальная адсорбция достигается в области, практически, полного насыщения оксида кислотой, т.е. в области прекращения

кислотно-щелочного взаимодействия. При этом адсорбция дочернего  $^{99m}\text{Tc}$  в этих условиях минимальна и он легко смывается с поверхности оксида физиологическим раствором. В этой связи, нам необходимо было подобрать оптимальные условия кислотной обработки оксида, которые бы обеспечивали устойчивую адсорбции радионуклида с высоким радиохимическим выходом.

Исследования были проведены на нейтральном оксиде алюминия (активированный для колоночной хроматографии 0,063-0,200 мм, «Merck»). Для изучения влияния поглощенного оксидом количества кислоты на его адсорбционные свойства по  $^{99m}\text{Tc}$  были подготовлены оксиды, обработанные следующим количеством  $\text{HCl}$ ,  $10^{-4}$ : моль/г: 0; 1,0; 2,0; 3,0, а также оксиды, прошедшие обработку в области их предельного закисления : 4,0; 4,6 и  $4,9 \cdot 10^{-4}$  моль/г [93-96].

Определение сорбционных емкостей оксидов с различной кислотной обработкой проводили по методике, представленной в разделе 2.4.2 второй главы диссертации. Расчеты адсорбированного оксидами  $^{99m}\text{Tc}$  -  $W$  (%) проводили с использованием уравнения:

$$W = \frac{A_{\text{исх}} - A_i}{A_{\text{исх}}} \cdot 100 \quad (3.1)$$

где  $A_0$  – активность исходного раствора  $^{99m}\text{Tc}$  (эталона),  $A_i$  – средняя активность водной фазы над оксидом после проведения адсорбции  $^{99m}\text{Tc}$ .

Результаты измерений приведены в табл. 3.1. Полученная по этим данным зависимость изменения степени адсорбции  $^{99m}\text{Tc}$  на оксиде алюминия от массы прореагировавшей с оксидом кислоты показана на рисунке 3.1.



Таблица 3.1 - Адсорбция  $^{99m}\text{Tc}$  на оксидах алюминия, обработанных различным количеством  $\text{HCl}$

Номер пробы	Приведенная активность $^{99m}\text{Tc}$ , МБк/мл	Адсорбция W, %	Масса кислоты $m_{\text{HCl}}$ , моль/г
Эталон	0,602	-----	-----
1	0,557	7,48	0
2	0,492	18,27	$1,0 \cdot 10^{-4}$
3	0,419	30,40	$2,0 \cdot 10^{-4}$
4	0,435	27,74	$3,0 \cdot 10^{-4}$
Эталон	0,656	-----	-----
4	0,545	16,92	$4,0 \cdot 10^{-4}$
5	0,591	9,91	$4,6 \cdot 10^{-4}$
6	0,614	6,40	$4,9 \cdot 10^{-4}$

Из представленных в таблице 3.1 данных следует, что максимум адсорбции  $^{99m}\text{Tc}$  – более 30 % от введенного количества радионуклида, наблюдается при поглощении оксидом кислоты в количестве  $2 \cdot 10^{-4}$  моль/г, что соответствует значению pH раствора над осадком 2.

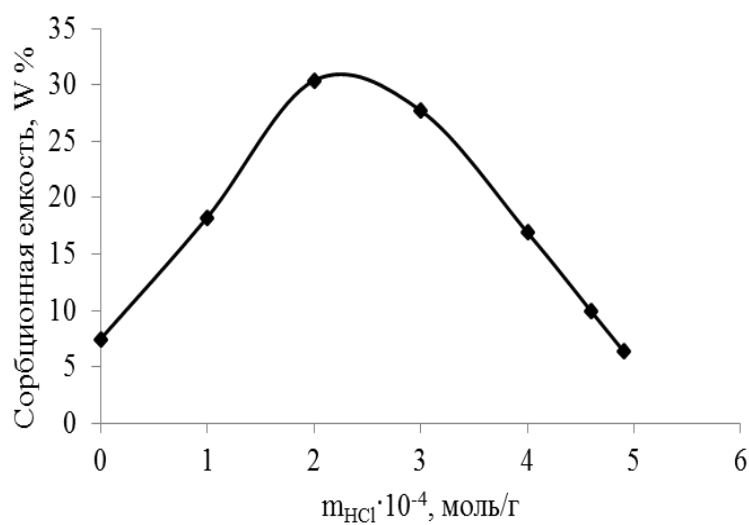


Рисунок 3.1 – Зависимость изменения степени адсорбции  $^{99m}\text{Tc}$  на оксиде алюминия от массы поглощенной оксидом кислоты

### 3.2. Определение коэффициента распределения $^{99m}\text{Tc}$ в системе раствор - оксид $\text{Al}_2\text{O}_3$

Полученные экспериментальные результаты по изучению адсорбции  $^{99m}\text{Tc}$  на хроматографическом оксиде можно, в первом приближении, рассматривать в качестве модельных данных для последующего нанесения радиоактивной метки  $^{99m}\text{Tc}$  на наноразмерные порошки оксида алюминия с целью изготовления препарата в виде нанокolloидной суспензии.

С учетом того, что содержание нанопорошка гамма-оксида алюминия в препарате должно быть по возможности минимальным, необходимо было провести исследования, в задачу которых входило определение коэффициентов распределения  $^{99m}\text{Tc}$  между водной фазой и оксидом алюминия с целью нахождения оптимального соотношения массы оксида к объему элюата технеция-99м при проведении адсорбции. Необходимо было также изучить влияние исходной активности  $^{99m}\text{Tc}$  на степень его поглощения оксидом.

Так же, как и в разделе 3.1, первоначальные исследования были проведены на оксиде для колоночной хроматографии 0,063-0,200 мм, обработанном кислотой из расчета  $2 \cdot 10^{-4}$  моль/г, т.е. тем количеством, при котором наблюдается максимальная адсорбция технеция-99м [97, 98].

Методика определения оптимального соотношения между массой оксида алюминия и объемом используемого элюата  $^{99m}\text{Tc}$  состояла в следующем. В подготовленные стаканы были внесены навески оксида с массами ( $m_{ox}$ ) ~ 1, 2, 3, 4 и 5 г (точные навески). Затем в каждый из стаканов был введен элюат  $^{99m}\text{Tc}$  объемом  $V = 5$  мл. После интенсивного перемешивания и отстаивания смесей из верхних слоев раствора над осадками были отобраны пробы для последующего измерения их активности ( $A_i$ ). Такие же пробы были предварительно отобраны из исходного элюата  $^{99m}\text{Tc}$  ( $A_{исх}$ ).

Результаты измерений активностей проб и величин адсорбции радионуклида  $W = (A_{ucx} - A_i) / A_{ucx}$  с учетом поправки на время распада  $^{99m}\text{Tc}$  представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2 - Экспериментальные значения активностей проб и коэффициента  $K_p$ .

п/п	$m_{ox}$ , Г	$A_i$ , МБк/мл	$(A_{ucx} - A_i) / A_{ucx}$	$V / m_{ox}$ , мл/г	$K_p$
1	1,01	1,60	0,091	4,94	0,494
2	2,03	1,55	0,119	2,47	0,335
3	3,01	1,50	0,148	1,66	0,288
4	4,01	1,42	0,193	1,25	0,299
5	5,02	1,33	0,244	1,00	0,323
Исх	-	1,76			

Исходя из этих данных, были построены зависимости изменения степени поглощения  $^{99m}\text{Tc}$  оксидом алюминия  $W$  от массы оксида  $m_{ox}$  (рисунок 3.2) и величины отношения  $V / m_{ox}$  (рисунок 3.3), а также зависимость изменения поглощенной оксидом алюминия активности  $^{99m}\text{Tc}$  от массы оксида (рисунок 3.4). Для расчета величины коэффициента  $K_p$ , характеризующего распределение радионуклида (микрокомпонента) между твердой и жидкой фазами, использовали известное соотношение [99]:

$$K_p = \frac{A_{uc} - A_i}{A_i} \cdot \frac{V}{m_{ox}} \quad (3.2)$$

Из результатов таблице 3.4 можно сделать вывод, что величина физической адсорбции радионуклида  $W$  в рассмотренных условиях не превышает 25 % даже при соотношении  $V / m_{ox} = 1$ . При этом коэффициент распределения находится в пределах 0,3 – 0,5, что очень мало. Для примера скажем, что при проведении адсорбции  $^{99m}\text{Tc(VII)}$  на том же оксиде  $\text{Al}_2\text{O}_3$  из среды метилэтилкетона, величина коэффициента составляет более 4, что позволяет проводить выделение более 70 % радионуклида.

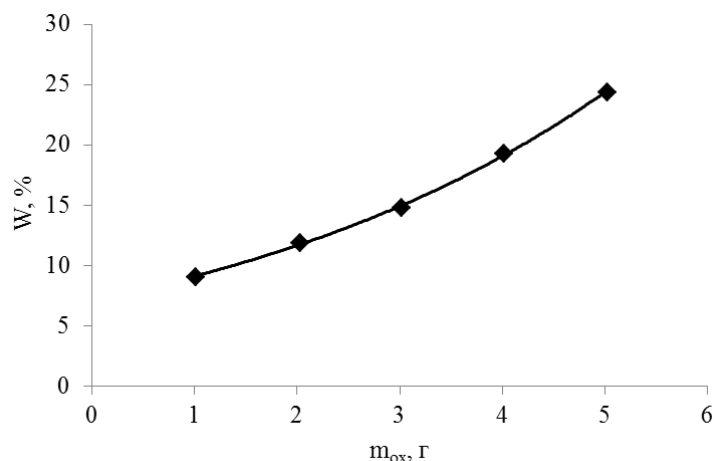


Рисунок 3.2 – Изменение степени поглощения  $^{99m}\text{Tc}$  оксидом алюминия в зависимости от массы оксида (объем раствора пертехнетата,  $^{99m}\text{Tc}$  – 5 мл)

Кроме того, из представленной зависимости рисунок. 3.2 следует, что степень поглощения  $^{99m}\text{Tc}$  при проведении его адсорбции из одного и того же объема раствора возрастает непропорционально увеличению массы оксида и описывается уравнением:

$$W = 0,0713 \cdot e^{0,247 \cdot m_{ox}} \quad (3.3)$$

Проведенные по нему расчеты показывают, что максимальная степень поглощения  $W=1$  будет достигаться при массе оксида 10,69 г, т.е. при соотношении  $V/m_{ox} = 0,47$ . Или другими словами, в том случае, если масса оксида будет превышать объем препарата  $^{99m}\text{Tc}$  в 2,13 раза, что экспериментально трудно реализовать (рисунок 3.3).

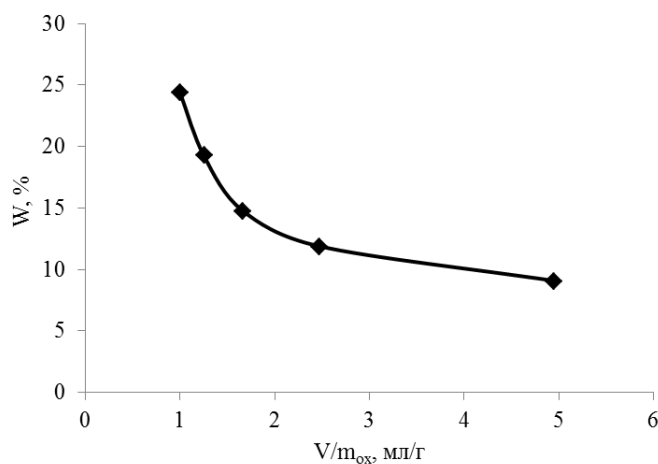


Рисунок 3.3 – Изменение степени поглощения  $^{99m}\text{Tc}$  оксидом алюминия в зависимости от соотношения объема раствора пертехнетата,  $^{99m}\text{Tc}$  к массе оксида

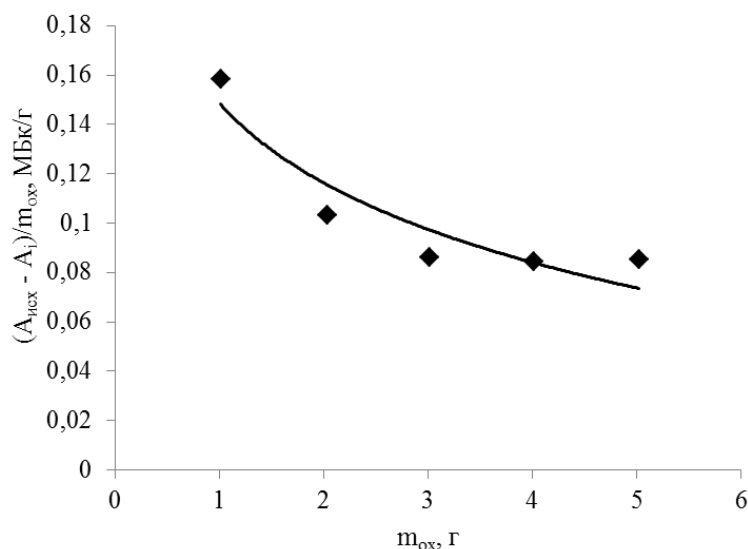


Рисунок 3.4 – Изменение удельной поглощенной оксидом алюминия активности  $^{99m}\text{Tc}$  в зависимости от массы оксида

Из зависимости рисунка 3.4 следует, что удельная активность адсорбата с увеличением массы оксида уменьшается и, наоборот, возрастает в случае снижения массы. Этот вывод представляет большой практический интерес, поскольку масса коллоидной формы в меченном препарате должна быть по возможности минимальной. В этой связи возникает вопрос, будет ли влиять на величину (полноту) адсорбции  $^{99m}\text{Tc}$  его исходная активность в элюате из генератора.

### 3.3. Изучение влияния общей активности $^{99m}\text{Tc}$ на величину его адсорбции на оксиде алюминия

С этой целью в 5 подготовленных стаканов были внесены точные навески ( $\sim 1$  г) оксида алюминия, а затем элюат  $^{99m}\text{Tc}$  объемом 5 мл с различной активностью радионуклида. Предварительно из этих элюатов были отобраны пробы для измерения их исходных активностей ( $A_{исх}$ ). После проведения адсорбции (интенсивного перемешивания смесей и осаждения оксидов) из каждого стакана были вновь отобраны пробы над осадками ( $A_i$ ). Результаты измерений всех проб, взятых до и после адсорбции, приведенные к одному времени, представлены в

таблице 3.3. По этим данным для всех 5 случаев были проведены расчеты степени поглощения  $^{99m}\text{Tc}$  оксидом  $(A_{\text{исх}}-A_i)/A_{\text{исх}}m_{\text{ох}}$  и его удельной адсорбции  $(A_{\text{исх}}-A_i)/m_{\text{ох}}$  с последующим построением зависимостей этих параметров от  $A_{\text{исх}}$ . Соответствующие зависимости показаны на рисунках 3.5 и 3.6.

Из представленных результатов следует, что величина удельной адсорбции технеция-99м  $(A_{\text{исх}}-A_i)/m_{\text{ох}}$  возрастает (рисунок 3.5) пропорционально увеличению его активности в растворе без насыщения в пределах изменения объемной активности от 0,04 до 0,112 МБк/мл. При этом степень поглощения  $^{99m}\text{Tc}$  оксидом  $(A_{\text{исх}}-A_i)/A_{\text{исх}}m_{\text{ох}}$  не зависит от его исходной активности (рисунок 3.6) и составляет в среднем 8,65 % для соотношения  $V/m_{\text{ох}}=5$  при среднем значении коэффициента распределения  $K_p=0,471$ .

Таблица 3.3 - Степень поглощения технеция-99м оксидом алюминия

№п/п	$m_{\text{ох}}$ , г	$A_{\text{исх}}$ , МБк/мл	$A_i$ , МБк/мл	$(A_{\text{исх}}-A_i)/m_{\text{ох}}$ , МБк/г	$(A_{\text{исх}}-A_i)/A_{\text{исх}}m_{\text{ох}}$ , г <sup>-1</sup>	$K_p$
1	1,0189	0,387	0,354	0,033	0,0852	0,466
2	1,0025	0,581	0,530	0,050	0,0866	0,474
3	1,0088	0,774	0,707	0,067	0,0860	0,471
4	1,0021	0,968	0,883	0,085	0,0880	0,483
5	1,0009	1,162	1,061	0,101	0,0867	0,475

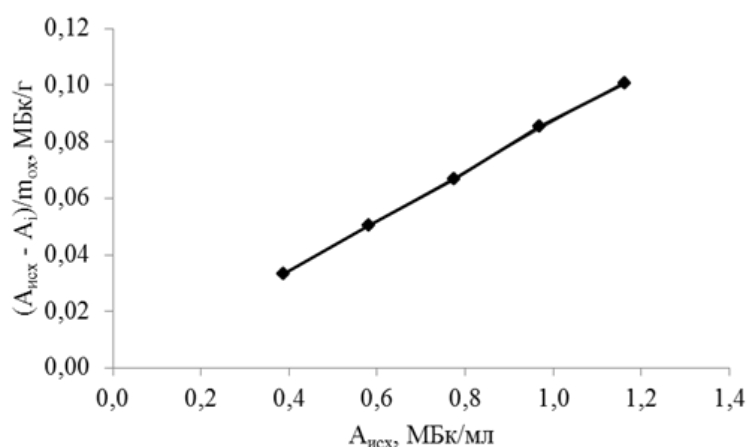


Рисунок 3.5 – Изменение удельной активности адсорбированного на оксиде алюминия  $^{99m}\text{Tc}$  в зависимости от исходной активности препарата

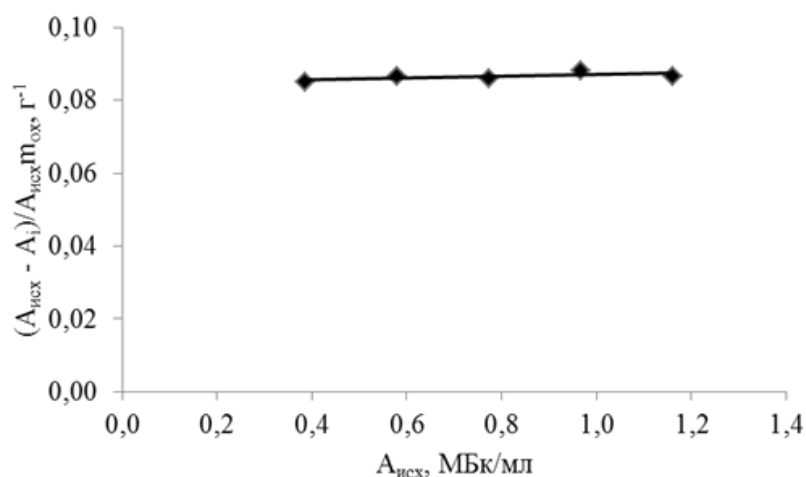


Рисунок 3.6 – Изменение степени поглощения оксидом алюминия  $^{99m}Tc$  в зависимости от общей активности радионуклида в растворе

Вывод об отсутствии влияния активности  $^{99m}Tc$  на величину его адсорбции является достаточно важным, поскольку это обеспечивает возможность получения высокоактивного коллоида независимо от общего выхода реакции мечения, а также целевого продукта с заданной активностью, путем повышения активности радионуклида в исходном препарате с последующим его выделением из смеси.

Вместе с тем, из полученных результатов следует, что  $^{99m}Tc$ , присутствующий в исходном элюате в высшей степени окисления (VII), не обладает высокой сорбционной способностью. Прямым следствием этого будет являться присутствие в целевом продукте до 70 % «несвязанного» радионуклида, который будет оказывать дополнительную радиационную нагрузку на организм и ухудшать качество скинтиграфического изображения. Поэтому нами были проведены исследования по изучению адсорбции восстановленного технеция-99м, который, как известно, в низких степенях окисления является химически более активным и проявляет комплексообразующие свойства.

Дополнительным аргументом для исследования адсорбции восстановленной формы являются практические наблюдения, сделанные в работе [100], которые свидетельствуют, что при хроматографической очистке  $^{99m}Tc$  от следовых

количеств  $^{99}\text{Mo}$  на колонке с оксидом алюминия иногда наблюдается его практически полное (более 95 %) поглощение оксидом.

### 3.4. Изучение процесса восстановления технеция- $^{99\text{m}}$ в присутствии Sn (II)

Чаще всего в качестве восстанавливающего агента для приготовления радиофармпрепаратов на основе  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , а также лиофилизатов (наборов реагентов) для получения таких препаратов, в мировой практике используется хлорид двухвалентного олова [101]. В настоящей работе был использован реагент дихлорид олова дигидрат  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – далее по тексту Sn(II). На первом этапе нужно было определить необходимое и достаточное количество Sn (II), требуемое для полного восстановления радионуклида в растворе, используемом для проведения мечення оксида. С этой целью был приготовлен солянокислый раствор  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  с концентрацией олова дихлорида дигидрата 7 мг/мл (методика приготовления приведена в разделе 2.3). Затем пробы этого раствора объемом от 40 до 5 мкл были введены в подготовленные флаконы с элюатом  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (РФП). Объемы РФП и полученные значения концентраций Sn (II) приведены в таблице 3.4.

Таблица 3.4 - Экспериментальные значения концентраций олова

№ флакона	V(РФП), мл	V(Sn (II)), мкл	C(Sn (II)), мг/мл
1	2	40	0,14000
2	2	30	0,10500
3	2	20	0,07000
4	2	10	0,03500
5	2	5	0,01750
6	4	5	0,00875

Степень восстановления  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  оценивали путем снятия радиохроматограмм приготовленных смесей с последующим измерением активностей пиков,



соответствующих невосстановленным и восстановленным формам радионуклида. Для этого из каждого флакона после перемешивания растворов были отобраны пробы объемом 5 мкл и нанесены на пластинки для хроматофирования. Процесс проводили в среде ацетона в течение 10 мин. Радиохроматограммы элюата, а также препаратов, содержащих 0,14 и 0,0175 мг/мл Sn (II), приведены на рисунках 3.7, 3.8 и 3.9.

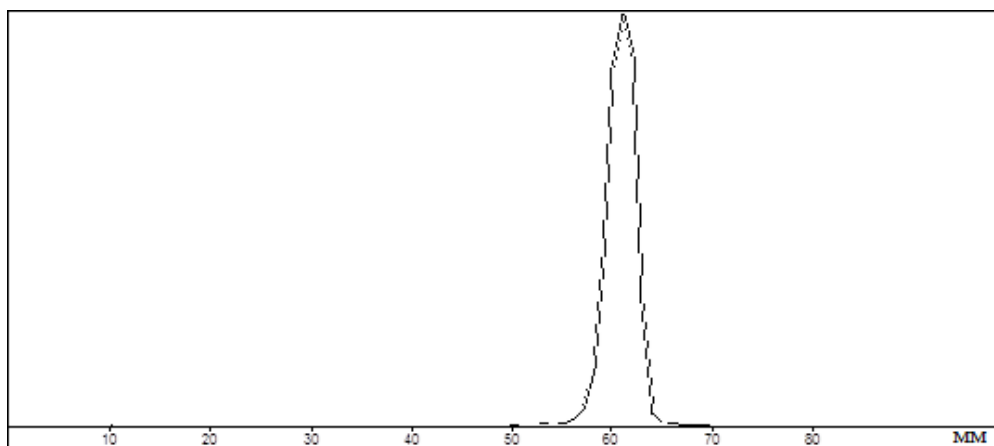


Рисунок 3.7 – Хроматограмма элюата

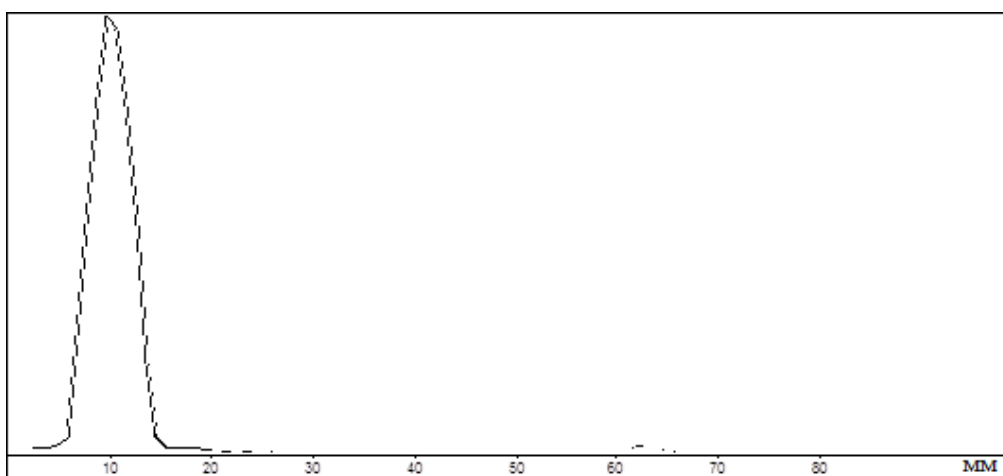


Рисунок 3.8 – Хроматограмма смеси [РФП + 0,14 мг/мл Sn (II)]

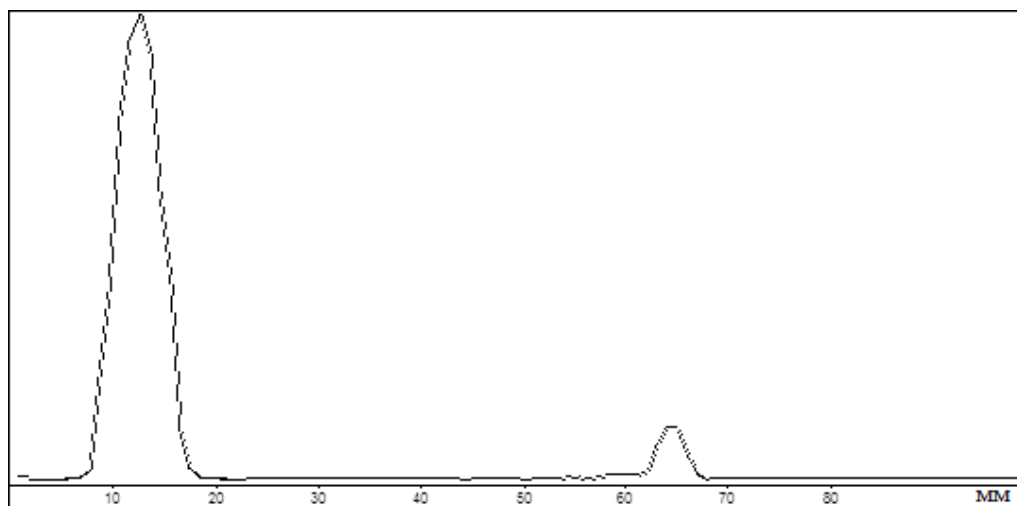


Рисунок 3.9 – Хроматограмма смеси [РФП +0,0175 мг/мл Sn (II)]

Из представленных хроматограмм видно, что единственный пик невосстановленного  $^{99m}\text{Tc(VII)}$  в исходном РФП (рисунок 3.7) располагается на 6 см. В отличие от нее, на хроматограмме рисунок 3.8, где введена наибольшая концентрация Sn (II), пик восстановленного  $^{99m}\text{Tc(IV)}$  находится в начале хроматограммы. Такая же картина наблюдается и на хроматограммах смесей № 2, 3 и 4. Начиная с хроматограммы смеси № 5 (рисунок 3.9), отмечается наличие двух пиков, меньший из которых принадлежит  $^{99m}\text{Tc(VII)}$ . Результаты исследований приведены в таблице 3.5. Соответствующая зависимость изменения содержания  $^{99m}\text{Tc(VII)}$  в препарате от количества Sn (II) показана на рисунке 3.10.

Таблица 3.5 - Изменение содержания  $^{99m}\text{Tc(VII)}$  от концентрации олова

№ смеси	Концентрация (Sn(II)), мг/мл	Tc(восст.),%	Tc(VII),%
1	0,14	99,4	0,6
2	0,105	98,7	1,3
3	0,07	97,3	2,7
4	0,035	96,9	3,1
5	0,0175	94,8	5,2
6	0,00875	89,9	10,1

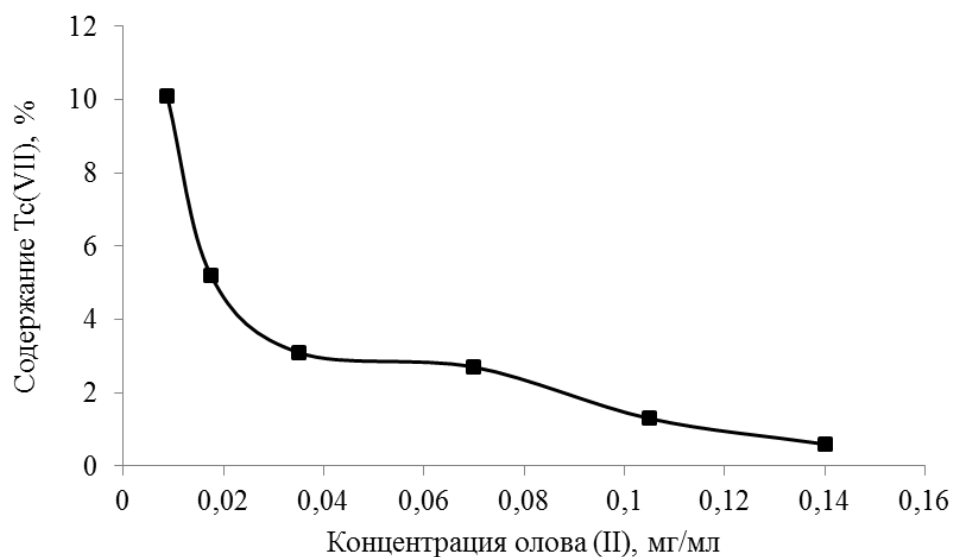


Рисунок 3.10 – Изменение содержания  $^{99m}\text{Tc(VII)}$  в зависимости от введенной концентрации олова (II)

Из зависимости рисунка 3.10 следует, что для практически полного восстановления  $^{99m}\text{Tc}$  в заданном объеме РФП концентрация Sn (II) должна быть не менее 0,0175 мг/мл. Введение в РФП более высокого количества Sn (II) не целесообразно, так как это может привести к параллельному образованию крупноразмерного коллоида (более 220 нм) типа  $(-\text{O}-\text{TcO}-\text{O}-\text{SnCl}_2-\text{O}-\text{TcO}-)_n$ , где  $n = 2, 3 \dots$  – число, зависящее от pH раствора [102]. Возможно также появление нецелевого коллоида за счет гидролиза избытка  $\text{SnCl}_2$ , протекающего по уравнению:



Исходя из установленного предельного значения концентрации Sn(II), во всех последующих экспериментах содержание олова в реакционной смеси находилось в пределах от 0,0175 до 0,020 мг/мл.

### 3.5. Проведение процесса адсорбции восстановленного технеция-99м на наноразмерном порошке оксида алюминия

Для изучения процесса адсорбции восстановленного  $^{99m}\text{Tc}$  (предположительно  $^{99m}\text{Tc(IV)}$ ) на нанопорошке гамма-оксида алюминия исходную суспензию готовили путем разведения навески  $\sim 5$  мг оксида нанопорошка  $\text{Al}_2\text{O}_3$  в 10 мл воды. Для предотвращения выпадения части оксида в осадок проводили обработку смеси в ультразвуковой ванне с последующей кислотной активацией поверхности гамма-оксида  $0,05 \text{ M HCl}$  и доведением pH среды до значения 2.

Как показали предварительные исследования, на процесс получения меченного  $^{99m}\text{Tc}$  продукта с заданными характеристиками большое влияние оказывает последовательность введения и условия смешивания реагентов, особенно это касается введения в реакционную смесь раствора  $\text{Sn(II)}$ . Для выяснения этих вопросов были проведены следующие эксперименты. К приготовленному раствору нанокolloида оксида алюминия объемом 2 мл было добавлено 2 мл элюата технеция-99м с предварительно восстановленным  $^{99m}\text{Tc}$  путем введения в элюат  $\text{Sn(II)}$  в количестве  $0,0175 \text{ мг/мл}$ . После перемешивания, полученную смесь обработали в ультразвуковой ванне в течение 10 мин, затем отфильтровали через фильтр 220 нм и провели радиометрические измерения фильтрата. Они показали, что весь меченый коллоид  $^{99m}\text{Tc(IV)-Al}_2\text{O}_3$  имеет размеры более 220 нм, т.е. практически весь  $^{99m}\text{Tc}$  вошел в состав крупноразмерного комплекса с оловом еще до момента его смешивания с суспензией нанокolloида. В этой связи во всех дальнейших экспериментах схема синтеза была изменена в пользу «конкурентного» взаимодействия  $\text{Sn(II)}$  со всеми компонентами реакционной смеси за счет его добавления к смеси в последнюю очередь.

С целью оценки величины адсорбции восстановленного  $^{99m}\text{Tc}$  были проведены исследования по следующей программе. В отдельные флаконы вносили по 2 мл подготовленной суспензии, а затем по 2 мл элюата  $^{99m}\text{Tc}$ . После перемешивания во флаконы добавляли 10 мкл раствора  $\text{Sn(II)}$  с концентрацией 7

мг/мл из расчета 0,0175 мг на 1 мл приготовленной смеси. В последующем смеси инкубировали в течение различных промежутков времени при комнатной температуре и при нагревании на водяной бане при разных температурах в течение 30 минут. После охлаждения суспензий в ультразвуковой ванне до комнатной температуры их последовательно отфильтровали на фильтрах с диаметром пор 220, 100 и 50 нм. Параллельно отбирались пробы для измерения активности исходных и отфильтрованных фракций, а также пробы для снятия хроматограмм. Последующие расчеты величин радиохимических выходов продуктов с различными размерами частиц и их радиохимической чистоты проводили по методикам, приведенным в разделах 2.4.4 и 2.4.5 второй главы диссертации.

Исследования по изучению влияния времени и температуры инкубации на величину нанокolloида и РХЧ препаратов показали следующее:

1. Инкубация исходной смеси  $[Al_2O_3 + {}^{99m}Tc + Sn(II)]$  при комнатной температуре в ультразвуковой ванне в течение времени от 0 до 60 мин приводит к увеличению содержания примеси  ${}^{99m}Tc(VII)$  до 21- 28 %, что не желательно;
2. При нагревании смеси до 70-80 °С в течение 30 мин радиохимическая примесь  ${}^{99m}Tc(VII)$  снижается до 5 % с одновременным повышением выхода частиц с размером менее 100 нм до 62 %;
3. При дальнейшем увеличении температуры от 70 до 100 °С происходит укрупнение нанокolloида до размеров более 220 нм (в фильтрах 220 и 100 нм коллоид  ${}^{99m}Tc(IV)-Al_2O_3$  практически отсутствует). При этом РХЧ исходных смесей после нагревания остается на уровне 85 %.

На основании полученных данных режим нагревания смесей в пределах от 70 до 80 °С в течение 30 мин был признан наиболее оптимальным. Результаты этих исследований приведены в таблице. 3.6.

Таблица 3.6 Результаты определения РХЧ и выхода фракций нанокolloидов с различными размерами

Образец	Общая активность, МБк/мл	Активность $^{99m}\text{Tc(IV)}$ , МБк/мл	Активность $^{99m}\text{Tc(VII)}$ , МБк/мл	Выход фракции, %
$\text{Al}_2\text{O}_3 + ^{99m}\text{Tc} + \text{Sn}$ до фильтрации	109,99	96,79	10,99 (10 %)	-
Фильтрат 220	96,98	79,52	14,55 (15 %)	82
Фильтрат 100	71,11	60,45	5,69 (8 %)	62
Фильтрат 50	12,58	5,79	6,80 (54 %)	5,9

Из результатов таблицы 3.6 следует, что в целом, содержание в исходной смеси непрореагировавшего  $^{99m}\text{Tc(VII)}$  составляет 10 % и, соответственно, радиохимическая чистота продукта после проведения синтеза равна 90 %. Во фракции, полученной после фильтрации через фильтр 220 нм, она снижается до 85 % и затем вновь возрастает в фильтрате 100 нм до 92 %, что близко соответствует характеристикам зарубежных аналогов. При этом выход этого целевого продукта достигает 62 % от введенной активности  $^{99m}\text{Tc}$ . Хроматограмма фильтрата 100 нм показана на рисунке 3.11.

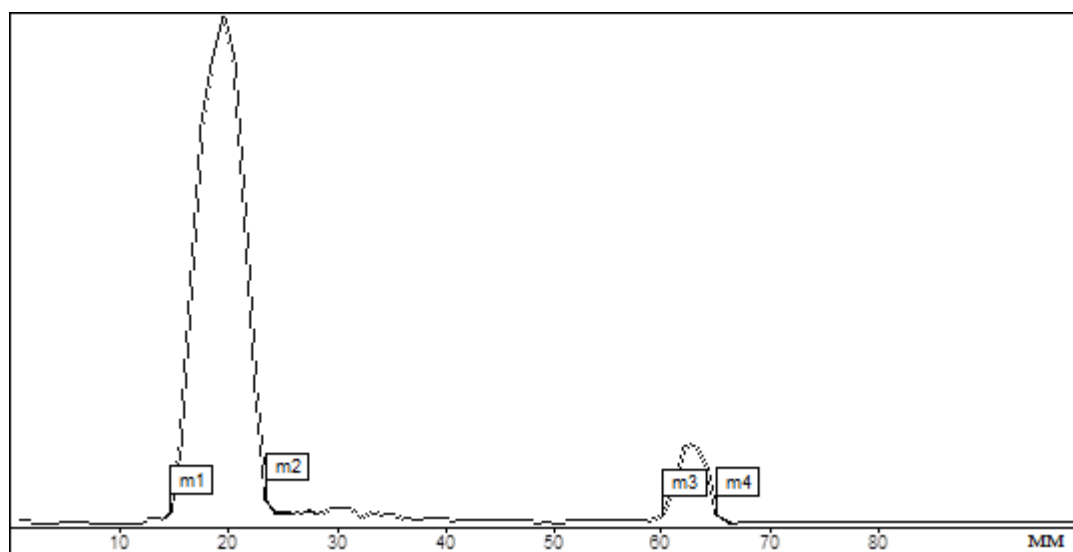


Рисунок 3.11 – Хроматограмма смеси  $[\text{Al}_2\text{O}_3 + ^{99m}\text{Tc} + \text{Sn(II)}]$  после фильтрации через фильтр 100 нм

Особое внимание следует обратить на то, что содержание меченого нанокolloида прошедшего через фильтр 50 нм составляет всего 5,9 %. Это доказывает, что при выбранных условиях синтеза образуется в основном нанокolloид  $^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$  с требуемым размером частиц в пределах от 50 до 100 нм, что и являлось целью проводимых исследований. Вместе с тем, полученную величину выхода целевого продукта с указанным размером частиц – 62 % нельзя признать достаточной, поскольку почти 40 % активности  $^{99m}\text{Tc}$  при его изготовлении теряется не рационально. Исследования по повышению выхода целевой фракции и разработке технологии получения радиофармпрепарата приведены в следующей главе диссертации.

### 3.6. Выводы по главе

1. Проведены исследования по определению величины адсорбции на оксиде  $\text{Al}_2\text{O}_3$  пертехнетат-ионов  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ . Изучено влияние на процесс адсорбции кислотной обработки оксида. На основе расчетов величины адсорбированного оксидами  $^{99m}\text{Tc}$  показано, что максимум адсорбции наблюдается при поглощении оксидом количестве кислоты  $2 \cdot 10^{-4}$  моль/г, что соответствует значению pH раствора над осадком 2.

2. Исследованы коэффициенты распределения  $^{99m}\text{Tc}$  между водной фазой и оксидом алюминия. Установлено, что величина удельной адсорбции технеция-99м возрастает пропорционально увеличению его активности в растворе без насыщения в пределах изменения объемной активности от 0,04 до 0,112 МБк/мл. При этом степень поглощения  $^{99m}\text{Tc}$  оксидом не зависит от его исходной активности и составляет в среднем 8,65 % для соотношения  $V/m_{ox}=5$  при среднем значении коэффициента распределения  $K_p = 0,471$ . Также показано отсутствие влияния активности  $^{99m}\text{Tc}$  на величину его адсорбции.

3. Изучен процесс восстановления технеция-99м в присутствии олова (II). Получена экспериментальная зависимость изменения содержания невосстановленного  $^{99m}\text{Tc(VII)}$  от концентрации олова (II) в реакционной смеси.

Показано, что для практически полного восстановления  $^{99m}\text{Tc}$  в заданном объеме РФП концентрация Sn (II) должна быть не менее 0,0175 мг/мл. Введение в РФП более высокого количества Sn (II) не целесообразно, так как это может привести к параллельному образованию крупноразмерного коллоида.

4. Проведено изучение процесса адсорбции восстановленного  $^{99m}\text{Tc}$  на нанопорошке гамма-оксида алюминия. Исследовано влияние на размер частиц нанокolloида и радиохимическую чистоту препарата температурного режима и продолжительности инкубации реакционной смеси. Определены условия, при которых образуется нанокolloид  $^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$  с требуемым размером частиц в пределах от 50 до 100 нм и сделана оценка его радиохимического выхода.



## Глава 4. Разработка методики получения нанокolloида $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ , изучение его свойств и функциональной пригодности

### 4.1. Разработка состава реагентов для получения препарата $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$

Одним из важнейших требований к качеству разрабатываемого нанокolloидного препарата является его стабильность, которая определяется, главным образом, устойчивостью связи радиоактивной метки технеция-99м с поверхностью гамма-оксида алюминия. Как было показано выше, при иммобилизации  $^{99m}\text{Tc}$  на оксиде в виде его пертехнетат-ионов, величина достигаемой равновесной адсорбции находится в пределах 30 %. Это позволяет предположить, что здесь, скорее всего, происходит физическая адсорбция, обусловленная силами Ван Дер Ваальса. В случае осаждения на оксиде восстановленного  $^{99m}\text{Tc}(\text{IV})$ , обладающего комплексообразующими свойствами, создаются предпосылки для процесса более устойчивой хемосорбции радионуклида. Для инициирования этой реакции в реакционную смесь вводили добавки аскорбиновой кислоты (АК) и пирофосфата натрия (ПФ). Введение в состав смеси аскорбиновой кислоты было предпринято с целью стабилизации восстановленного  $^{99m}\text{Tc}(\text{IV})$ , а также с целью снижения размеров первичного комплекса  $^{99m}\text{Tc}$  с оловом за счет возможности дополнительного (параллельного) образования комплекса  $^{99m}\text{Tc}$  с аскорбиновой кислотой, не дающего коллоида в растворе. Стабилизирующими свойствами по отношению  $\text{Sn}(\text{II})$  обладает и пирофосфат, входящий, например, в состав лиофилизата для приготовления отечественного препарата «Нанотех,  $^{99m}\text{Tc}$ » (пирофосфат натрия – 3 мг).

Для получения опытных образцов меченных  $^{99m}\text{Tc}$  нанокolloидов с заданными размерами была выбрана следующая общая схема:

- 1 Подготовка раствора (суспензии) нанокolloида, включая, при необходимости, ее предварительную фильтрацию через фильтр 220 нм;
- 2 Введение в раствор элюата  $^{99m}\text{Tc}$ ;

- 3 Добавление к полученной смеси стабилизирующих и других добавок (аскорбиновая кислота, пирофосфат натрия, желатин);
- 4 Введение в смесь Sn (II) в количестве не менее 0,0175 мг/мл;
- 5 Проведение синтеза при нагревании смеси в пределах 70-80 °С;
- 6 Выделение фильтрацией фракции нанокolloида с размером частиц менее 100 нм;
- 7 Определение радиохимического выхода и РХЧ полученного целевого продукта.

В соответствии с этой схемой во флакон с 2 мл коллоида оксида алюминия вводили 2 мл элюата  $^{99m}\text{Tc}$ , затем из расчета на 1 мл смеси 0,25 мг аскорбиновой кислоты (100 мкл раствора с концентрацией 10 мг/мл) и после перемешивания 0,0175 мг Sn(II) (10 мкл раствора с концентрацией 7 мг /мл). Затем закупоренный флакон инкубировали на водяной бане при 70-80 °С в течении 30 мин. После остывания до комнатной температуры в ультразвуковой ванне раствор последовательно фильтровали через фильтры с диаметром пор 220, 100 нм. Параллельно отбирали пробы для измерения активностей и хроматографирования исходных и отфильтрованных фракций [103, 104].

В результате экспериментальных исследований было установлено, что при введении в реакцию смесь аскорбиновой кислоты радиохимическая чистота фильтрата 100 нм составляет более 95 % (рисунок 4.1).

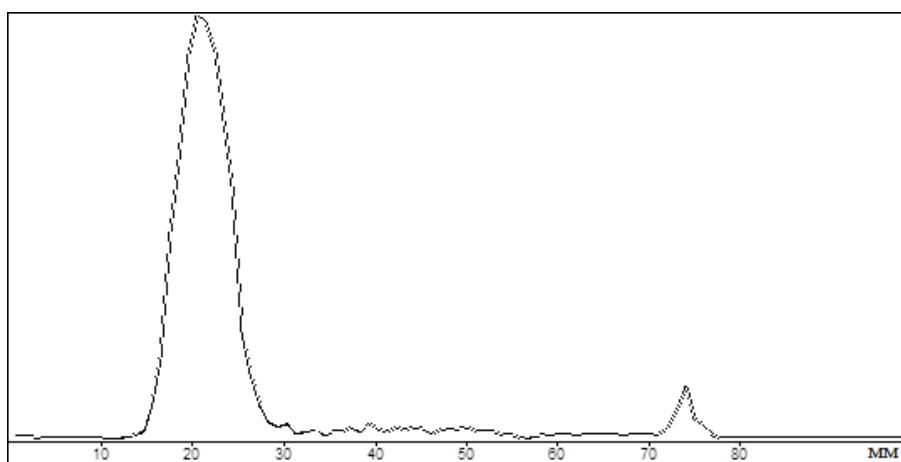


Рисунок 4.1 – Хроматограмма смеси: [суспензия  $\text{Al}_2\text{O}_3$  + РФП + АК + Sn (II)] после фильтрации через фильтр 100 нм.

Это достаточно высокий показатель, сопоставимый с РХЧ аналогичных коммерческих препаратов  $^{99m}\text{Tc}$ , изготавливаемых на основе лиофилизатов путем их прямого смешивания с элюатом из генератора технеция-99м. В рассматриваемом случае, величина РХЧ характеризует наличие в препарате свободного (несвязанного с исходной субстанцией)  $^{99m}\text{Tc(VII)}$ , который, в силу своей фармакокинетики, вместо исследуемого органа может накапливаться, например, в щитовидной железе, что нежелательно.

Введение в состав смеси, содержащей аскорбиновую кислоту, кроме того добавки пирофосфата натрия с целью дополнительной стабилизации Sn(II) не привело к улучшению качества меченного  $^{99m}\text{Tc}$  нанокolloида, как с точки зрения снижения размеров его частиц, так и повышения РХЧ продукта. Радиохроматограмма препарата с пирофосфатом натрия представлена на рисунке 4.2.

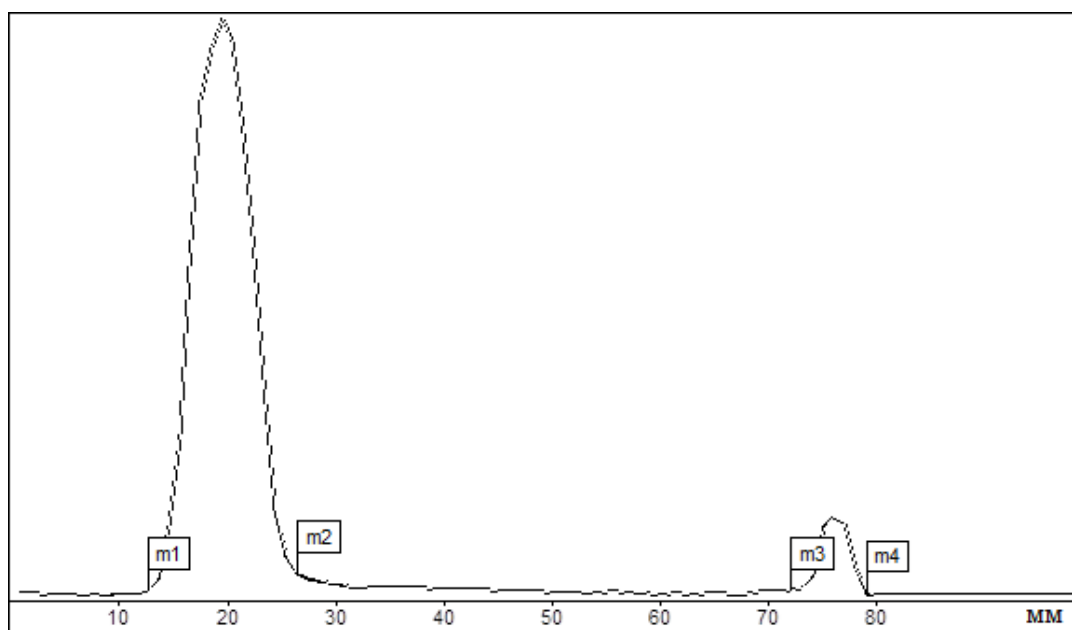


Рисунок 4.2 – Хроматограмма смеси: [суспензия  $\text{Al}_2\text{O}_3$  + РФП + АК + ПФ + Sn (II)] после фильтрации через фильтр 100 нм

Из хроматограммы следует, что радиохимическая чистота полученного препарата по-прежнему остается высокой. Однако, как было установлено методом фильтрации, радиохимический выход фракции с размером частиц менее 100 нм снизился почти на 10 %.

#### 4.2. Проведение испытаний препарата $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ на экспериментальных животных

Первоначальные испытания препарата, содержащего аскорбиновую кислоту, были проведены в НИИ онкологии СО РАМН на экспериментальных животных (крысах линии Вистар). Распределение препарата в организме изучали с помощью гамма-камеры «E.CAM Signature 180» (фирмы Semiens) сразу после его введения, а также спустя 30 и 60 мин. Гамма-сцинтиграммы крысы, полученные после подкожного введения нанокolloида в нижнюю конечность животного, приведены на рисунке 4.3.

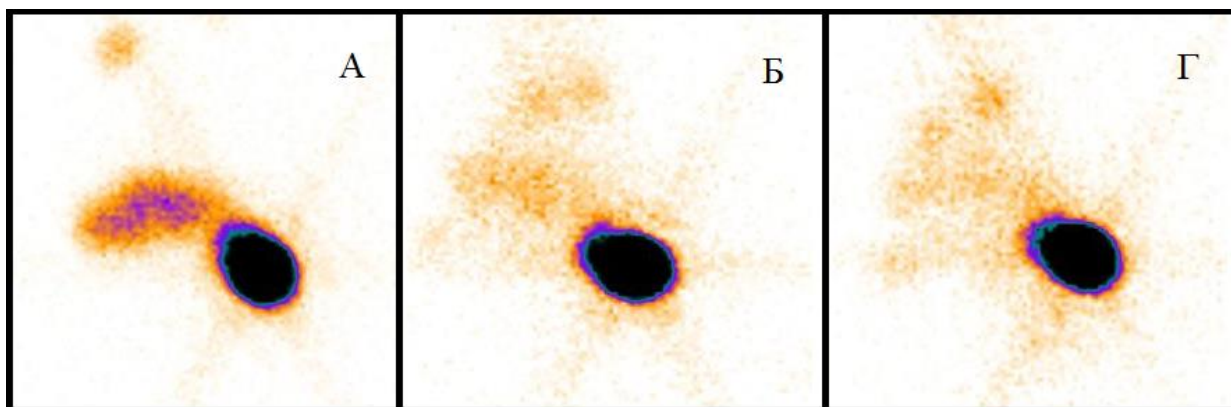


Рисунок 4.3 – Распределение препарата в организме крысы при введении препарата:  $[\text{Al}_2\text{O}_3+^{99m}\text{Tc}+\text{AK}+\text{Sn}(\text{II})]$ : А) Сразу после введения препарата; Б) Через 30 минут после введения препарата; В) Через 60 минут после введения

В результате проведенных исследований было установлено, что препарат остается в точке инъекции в течение 1 ч без заметного накопления  $^{99m}\text{Tc}$  в крови животных, что свидетельствует о прочной фиксации радионуклида на поверхности нанокolloида. Наряду с этим положительным моментом, следует констатировать, что накопление препарата в лимфатических узлах не наблюдается. В этой связи было высказано предположение, что возможной причиной такого эффекта является укрупнение размеров нанокolloида за счет его коагуляции при взаимодействии с кровью. Для экспериментальной проверки этого предположения в подготовленный препарат была введена плазма крови человека и исследовано ее влияние на размеры частиц и радиохимическую

чистоту отдельных наноразмерных фракций. Результаты этих исследований представлены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 - Величины выхода наноразмерных фракций и РХЧ в присутствии плазмы крови

Состав смеси	Активность, МБк/мл	Содерж. $^{99m}\text{Tc(VII)}$ , %	РХЧ, %	Выход %
$\text{Al}_2\text{O}_3 + ^{99m}\text{Tc} + \text{AK} + \text{Sn(II)}$ + плазма крови	48,05	2,1	98	
Фильтрат 200	33,16	0,8	99	69
Фильтрат 100	20,17	2,0	98	42

Из результатов таблицы следует, что вопреки ожиданиям, «связывания» нанокolloида плазмой не происходит и даже наоборот, выход фракции с размером частиц 100 нм увеличился почти в 2 раза по сравнению с экспериментом без добавления плазмы. Отсюда был сделан вывод, что нанокolloид, несмотря на то, что имеет требуемые размеры частиц (менее 100 нм), по лимфатической системе не перемещается. Поэтому была исследована возможность его стабилизации за счет введения в состав препарата желатина (Ж).

Ведение в состав реакционной смеси желатина обусловлено следующим. По химической природе желатин представляет собой биополимер – полидисперсную смесь низкомолекулярных пептидов. Длина молекул желатина составляет в среднем 2850 Å, при диаметре 14 Å. Средний размер межмолекулярных пустот составляет порядка 80-90 Å. Поэтому матричные системы на основе желатина характеризуются наноструктурной организацией, обеспечивающей довольно однородное распределение иммобилизованного вещества и хорошей стерической доступностью молекул для осуществления различных химических процессов, препятствующих в данном случае образованию крупного коллоида олова с  $^{99m}\text{Tc}$  [105]. Содержание желатина в составе известных нанокolloидных

препаратов, например, «Наноцис» с размером частиц  $\sim 100$  нм находится в пределах 2,5 - 4 мг/мл.

Как показал эксперимент, для получения препарата с нужными характеристиками не мало важное значение имеет последовательность введения реагентов в состав смеси. При изготовлении всех предыдущих смесей (без желатина) введение в их состав восстановителя Sn(II) проводилось в последнюю очередь с целью обеспечения «конкурентного» взаимодействия основных компонентов:  $Al_2O_3$ , аскорбиновой кислоты и  $^{99m}Tc$ . Как показали исследования, в присутствии желатина введение Sn(II) последним приводит к снижению выхода меченного коллоида с размерами менее 100 нм.

С учетом сказанного, для проведения экспериментов во флакон с 2 мл коллоида оксида алюминия ( $pH=1,98$ ) последовательно вводили 100 мкл аскорбиновой кислоты, 10 мкл раствора Sn(II) с концентрацией  $C_{Sn}=7$  мг/мл, а затем 100 мкл желатина, предварительно приготовленного путем растворения навески желатина массой 10 г в 100 мл воды.

После флакон герметично закупоривали резиновой пробкой с алюминиевым колпачком и нагревали на водяной бане ( $70-80^\circ C$ ) в течение 30 мин. Затем охлаждали до комнатной температуры в ультразвуковой ванне. В последующем проводили фильтрацию полученного продукта через фильтры с диаметром пор 220, 100 и 50 нм. Предварительно из флакона отбирались пробы объемом 5 мкл для хроматографических исследований и измерения активности смесей до и после нагревания, а также после фильтрации.

Результаты исследования меченного технецием- $^{99m}$  гамма-оксида алюминия в присутствии желатина приведены в таблице 4.2.

Таблица 4.2 - Влияние желатина на выход фракций нанокolloида и РХЧ

Состав смеси	Активность, МБк/мл	Содерж. $^{99m}\text{Tc(VII)}$ , %	РХЧ, %	Выход, %
$\text{Al}_2\text{O}_3 + ^{99m}\text{Tc} + \text{AK} + \text{Sn(II)} + \text{желатин}$	76,71	22	78	
После нагревания	76,71	7	93	
Фильтрат 200	61,95	9	91	77
Фильтрат 100	57,61	7	93	76

Из представленных результатов видно, что в присутствии желатина количество частиц с размером менее 100 нм возрастает по сравнению с другими исследованными составами и достигает 76 %.

Дополнительно было проведено определение размеров этих частиц на анализаторе частиц Nanorhox. Полученная зависимость изменения плотности распределения количества частиц от их размера, построенная по результатам трехкратного измерения препарата после его стерилизующей фильтрации через фильтр с диаметром пор 220 нм, показана на рисунке 4.4. По результатам этих измерений средний размер (диаметр) частиц составляет 84 нм.

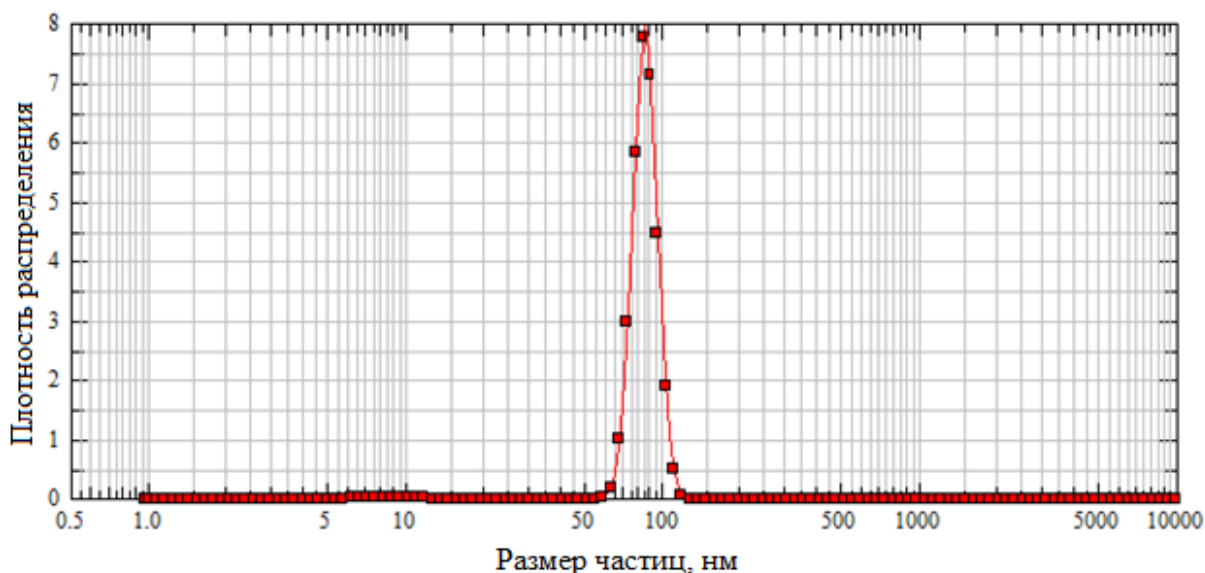


Рисунок 4.4 – Изменение плотности распределения количества частиц от их размера

Для предварительной оценки поведения препарата, содержащего желатин, в биологической среде 2 мл приготовленного препарата смешали с 2 мл плазмы крови человека и так же, как и в предыдущем эксперименте, провели измерения активностей, радиохимической чистоты и радиохимического выхода фракций с различными размерами частиц в фильтрах 200 и 100 нм. Полученные результаты представлены в табл. 4.3.

Таблица 4.3 - Влияние плазмы крови на выход фракций нанокolloида и РХЧ препарата с желатином

Состав смеси	Активность, МБк/мл	Содерж. $^{99m}\text{Tc(VII)}$ , %	РХЧ , %	Выход, %
$\text{Al}_2\text{O}_3 + ^{99m}\text{Tc} + \text{AK} + \text{Sn(II)} +$ желатин + плазма	60,53	1	99	
Фильтрат 200	59,31	1	99	98
Фильтрат 100	56,81	2	98	94

Из результатов табл. 4.3 следует, что в присутствии плазмы крови РХЧ препарата возросла до 99 %, а величина выхода фракции 100 нм увеличилась до 94 % против 76 % в исходном препарате. Хроматограмма фильтрата 100 нм показана на рисунке 4.5.

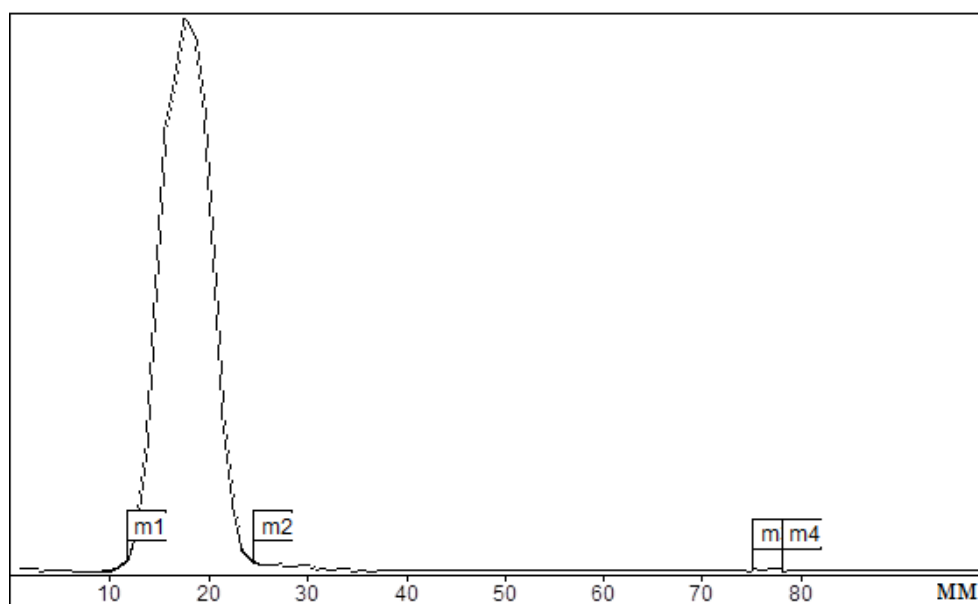


Рисунок 4.5 – Хроматограмма смеси: [суспензия  $\text{Al}_2\text{O}_3 + ^{99m}\text{Tc} + \text{AK} + \text{Sn(II)} +$  желатин + плазма] после фильтрации через фильтр 100 нм



Представленные результаты дают основание для получения положительного результата, что и подтвердили последующие испытания на экспериментальных животных. Испытания были проведены по методике, описанной выше, путем подкожной инъекции препарата крысе в ее нижнюю конечность.

Сцинтиграммы тела животного, полученные в различные промежутки времени, показаны на рисунке 4.6. Здесь цифрами обозначено: 1 – лимфатический узел; 2 – место введения препарата.

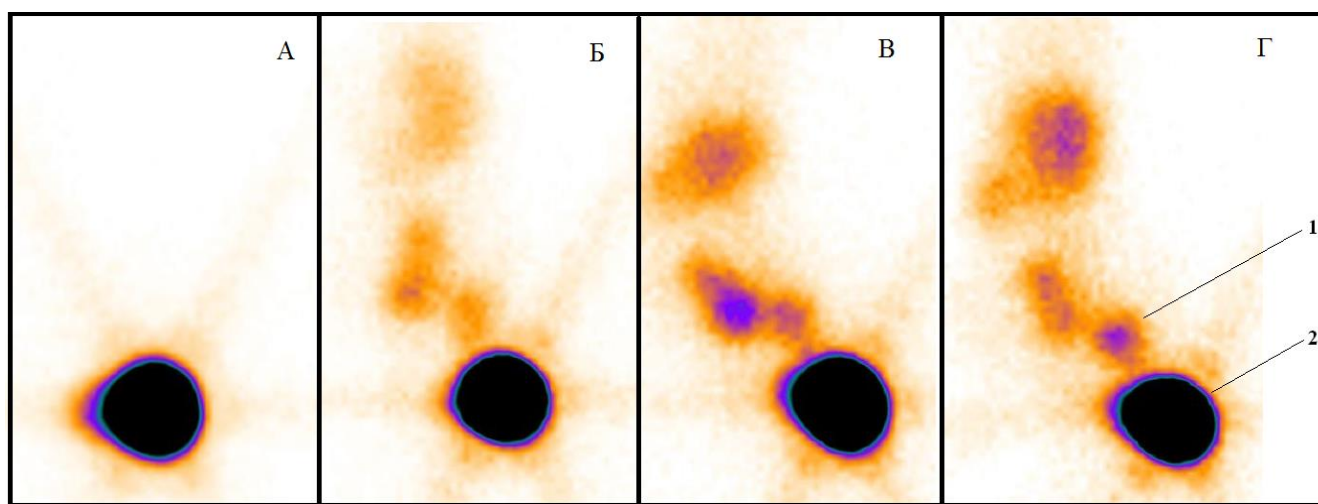


Рисунок 4.6 – Распределение препарата в организме экспериментального животного (крысы) при введении суспензии:  $[Al_2O_3+^{99m}Tc+AK+Sn(II)+\text{Желатин}]$ :  
 А) Сразу после введения препарата; Б) Через 30 минут после введения; В) Через 60 минут после введения; Г) Через 120 минут после введения.

На сцинтиграммах, соответствующих временным интервалам 60 и 120 мин, отчетливо просматривается сторожевой лимфатический узел, расположенный между мочевым пузырем и местом введения препарата. При этом уровень накопления препарата в лимфатическом узле составляет 1,63 % от общей введенной активности, что достаточно для его надежной визуализации. Полученный результат близко соответствует стандартным требованиям к подобным препаратам (0,5-1,7 %) и доказывает функциональную пригодность синтезированного нами меченного  $^{99m}Tc$  нанокolloида на основе гамма-оксида алюминия [106].

### 4.3. Разработка проекта спецификации на препарат «Нанокolloид $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » и методов контроля его качества

Разработанный в результате проведенных исследований радиофармацевтический препарат «Нанокolloид  $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » должен иметь следующий состав:

Технеция-99м	280-500 МБк
Гамма-оксида алюминия (в виде наноразмерного порошка)	0,035-0,040 мг
Олова (II) хлорида дигидрата	0,00875-0,0175 мг
Аскорбиновой кислоты	0,20-0,25 мг
Желатина	2,0-2,5 мг
Натрия хлорида	8,0-10,0 мг
Воды для инъекций	до 1,0 мл.

В соответствии с действующими требованиями ОСТ «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения. № 91500.05.001-00» аналитический контроль радиофармпрепарата должен включать тесты на подлинность используемой для мечения субстанции, тесты на объемную активность, радиохимическую чистоту, рН, содержание основного вещества и всех компонентов препарата, тесты на стерильность и содержание бактериальных эндотоксинов в водимой дозе РФП. Полное подробное описание процедуры контроля качества излагается в фармакопейной статье (ФС) – стандарте качества лекарственного средства, утверждаемом федеральным органом контроля качества лекарственных средств. При этом основные показатели качества препарата и методы их контроля приводятся в Спецификации на РФП, являющейся обязательным разделом ФС.

Исходя из сказанного, контроль качества разработанного нами препарата «Нанокolloид  $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » должен проводиться по следующим показателям: описание, подлинность, рН, объемная активность, радиохимическая чистота,

содержание алюминия, аскорбиновой кислоты, натрия хлорида, Sn (II) хлорида дигидрата, желатина, бактериальные эндотоксины, стерильность.

Большая часть из перечисленных показателей определяется по стандартным методикам, описанных в методической части работы и приведенных в Государственной фармакопее СССР, XI изд., вып.1 и (ГФ XI) и Государственной фармакопее Российской Федерации, XII изд., часть 1 (ГФ XII). В тоже время аналитический контроль, входящих в состав созданного препарата, таких компонентов, как оксид алюминия, аскорбиновая кислота, Sn (II) хлорид дигидрат и желатин, требует дополнительной проработки и выбора конкретных методик их определения для включения в проект спецификации. Описание этих методик приводится ниже.

#### **4.3.1. Методика количественного определения алюминия**

Для проведения количественного определения алюминия был выбран метод эмиссионного спектрального анализа по спектрам испускания. Анализ предполагает сжигание пробы анализируемого вещества в газовом пламени, электрической высоковольтной искре или электрической дуге. При этом происходит испарение вещества и его диссоциация на атомы и ионы, которые в возбужденном состоянии испускают кванты света определенных длин волн, регистрируемых посредством спектральных приборов.

Качественный анализ проводят по наиболее чувствительным линиям определяемых элементов. Количественное определение основано на зависимости между интенсивностью (J) спектральной линии определяемого элемента и его концентрацией. В этой связи количественный анализ производят с помощью спектров эталонных образцов, в которых элемент подлежащий определению, содержится в различных, но точно известных концентрациях.

Для анализа радиофармпрепаратов, представляющих собой растворы радионуклидов, как правило, используется метод анализа сухого остатка,

получаемого при выпаривании капель раствора РФП на торцевой поверхности угольных электродов.

Для измерения интенсивностей спектральных линий и вычисления концентраций анализируемых веществ нами использовался анализатор МАЭС, преобразующий световые сигналы спектра в электрический сигнал с последующей их передачей в цифровой форме на компьютер для обработки данных и вычисления концентраций веществ с помощью программного пакета АТОМ. Анализатор МАЭС был установлен на выходе спектрографа ИСП-30 вместо фотопластинок.

Кроме того, для проведения анализа использовали дуговой генератор ДГ-2 со штативом для крепления электродов и угольные электроды марки В-3 диаметром 6 мм и длиной 50 мм. Часть электродов затачивали с торца «на конус», а у других делали углубление порядка 0,2-0,3 мм. После подвергали обжигу в дуге переменного тока силой 14 А в течение 30 с и пропитывали обожженные концы полистиролом, погружая их на 20 секунд в 3% раствор полистирола в бензоле на глубину 1-2 мм с последующим просушиванием под лампой.

### **1. Приготовление эталонных растворов и градуировочного графика**

#### **1.1. Приготовление основного раствора алюминия.**

Для приготовления основного раствора алюминия точную навеску металла 1,00 г (ГОСТ 11069-74, марка А99) растворяют при нагревании в 10-15 мл разбавленной (1:1) HCl с последующим упариванием досуха. Затем проводят растворение сухого остатка в 20-40 мл 1% раствора HCl с последующим его перенесением в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доведением объема до метки тем же раствором соляной кислоты. Содержание Al в полученном растворе составляет 1,0 мг/мл.

#### **1.2. Приготовление основного раствора натрия хлорида.**

Точную навеску фармакопейного натрия хлорида - 16,0000 г помещают в мерную колбу на 250 мл и растворяют в воде. После перемешивания доводят

объем раствора водой до метки. Содержание натрия хлорида в приготовленном растворе 64 мг/мл.

### 1.3. Приготовления основного раствора кобальта.

Точную навеску хлорида кобальта (ТУ 6-09-2338-77) порядка 90 мг растворяют в 1% растворе HCl в мерной колбе вместимостью 100 мл с последующим доведением объема до метки тем же раствором кислоты. Содержание кобальта в растворе 0,4 мг/мл

### 1.4. Приготовление эталонных растворов алюминия.

Для приготовления эталонных растворов в 5 мерных колб вместимостью 100 мл вносят по 14,0 мл основного раствора натрия хлорида, а после основные растворы алюминия и кобальта в следующих объемах:

№ эталона	Объем основного раствора алюминия, мл	Объем основного раствора кобальта, мл	Концентрация алюминия в растворе, мг/мл
1	3,0	1,0	0,030
2	2,5	1,0	0,025
3	2,0	1,0	0,020
4	1,5	1,0	0,015
5	1,0	1,0	0,010

После перемешивания доводят объемы растворов в колбах до метки 1% раствором HCl.

### 1.5. Построение градуировочного графика.

На приготовленные угольные электроды наносят по 0,05 мл каждого эталонного раствора. После просушивания электродов под сушильной лампой их по очереди закрепляют в штативе-держателе и сверху над ними закрепляют конические электроды. Затем проводят спектрографирование и получают спектры эталонов. По этим данным строят градуировочный график для последующего использования при проведении количественного анализ.

Рекомендуемые параметры работы спектрографа: ток переменный 8,5 А, ширина входящей щели 15 мкм, диафрагма 5 мм, диафрагма Гартмана 4 мм.

## **2. Проведение анализа препарата.**

Проведение количественного определения алюминия проводят по статье «Определение примесей химических элементов в радиофармацевтических препаратах» [107]. На подготовленные описанным выше способом электроды в количестве 5-6 шт. наносят по 0,05 мл раствора анализируемого препарата и по 0,05 мл раствора кобальта (внутреннего стандарта), содержащего 0,004 мг/мл кобальта в виде хлорида. После просушивания электродов проводят снятие спектров и определение содержания алюминия в пробах препарата путем сравнения интенсивностей измеренных спектральных линий с интенсивностями линий эталонных образцов на калибровочной кривой.

### **4.3.2. Качественное и количественное определение Sn (II)**

Для проведения качественного и количественного определения Sn (II) использовали известную методику [108], разработанную в ГНЦ ИБФ МЗ (СТП Гр. 20. 104-2001), основанную на спектрофотометрических измерениях. Согласно данной методике, спектр поглощения раствора, содержащего Sn (II), должен иметь максимум при длине волны  $353 \pm 2$  нм в области от 340 до 370 нм.

Для количественного определения Sn (II) в пробирку вносят 4,5 мл 2 М раствора HCl, добавляют 0,3 мл 0,16 % раствора калия рениевокислого, 0,1 мл 20% раствора калия роданистого, 0,1 мл раствора испытуемого препарата и перемешивают. В течение не более чем 10 мин после приготовления измеряют оптическую плотность полученной смеси на спектрофотометре в максимуме поглощения, при длине волны 353 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий все перечисленные компоненты смеси в указанных количествах, кроме раствора реагента, вместо которого вносят 0,1 мл 0,9% раствора NaCl для инъекций.

Содержание Sn (II) (G) в миллиграммах вычисляют по формуле:

$$G = \frac{C \cdot 4,0 \cdot 5,0}{0,1} \cdot 1,9013,$$

где  $C$  – концентрация Sn (II) в испытуемом растворе, установленная с помощью калибровочного графика, мг/мл; 4,0 – объём раствора препарата, мл; 5,0 – объём испытуемого раствора, мл; 0,1 – объём раствора препарата, взятый для анализа, мл; 1,9013 – коэффициент пересчёта Sn (II) в олово (II) хлорид дигидрат.

### **1. Построение калибровочного графика.**

#### 1.1 Приготовление стандартного раствора.

Навеску олова (II) хлорид дигидрата ~ 0,5 г, взвешенную с погрешностью не более  $1 \cdot 10^{-4}$  г, растворяют в 1000 мл 0,1 М раствора HCl в токе инертного газа. Приготовленный стандартный раствор содержит 0,5 мг/мл Sn (II).

#### 1.2. Приготовление эталонных растворов.

В шесть мерных колб вместимостью 50 мл каждая, помещают 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; и 2,5 мл стандартного раствора Sn (II) и доводят объём раствора в колбах в токе инертного газа до метки 0,1 М раствором HCl и перемешивают (эталонные растворы).

### **2. Проведение измерений.**

В шесть пробирок вместимостью 5 мл помещают по: 4,5 мл 2 М раствора HCl, 0,3 мл 0,16% раствора калия рениевокислого, 0,1 мл 20% раствора калия роданистого, 0,1 мл каждого из эталонных растворов и перемешивают. В течение не более чем 10 мин после приготовления измеряют оптические плотности полученных смесей на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 353 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

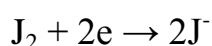
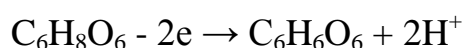
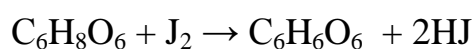
Калибровочный график строят в координатах: оптическая плотность – концентрация Sn (II) в эталонных растворах, мг/мл.

### 4.3.3. Качественное и количественное определение аскорбиновой кислоты

Для проведения качественного и количественного определения содержания аскорбиновой кислоты использовали методику, описанную в Европейской фармакопее [109].

Методика качественного определения основана на спектрофотометрических измерениях. Согласно данной методике, 1 мл раствора реагента помещают в мерную колбу на 100 мл, добавляют 10 мл раствора хлороводородной кислоты с концентрацией 0,1 моль/л и доводят объем до 100 мл водой. Раствор в необходимом количестве помещают в кювету спектрофотометра и проводят измерения. Спектр поглощения раствора должен иметь максимум при длине волны  $243 \pm 2$  нм в области от 230 до 260 нм. Используемое оборудование – спектрофотометр типа UNICO модель 2802(S) с кюветами размером 10x10 мм;

Для количественного определения содержание в препарате аскорбиновой кислоты используют метод титриметрического анализа. Аскорбиновую кислоту титруют раствором йода известной концентрации. Титрование проводят в среде 1 М соляной или серной кислот, в качестве индикатора для определения конечной точки используют раствор крахмала. При прямом титровании аскорбиновой кислоты раствором йода происходит следующая окислительно-восстановительная реакция:



Для проведения анализа в стакан вместимостью 50 мл вносят 0,2 мл препарата, 10 мл 1 моль/л раствора серной кислоты, 1 мл 0,5% раствора крахмала и 20 мл дистиллированной воды и перемешивают. Полученную смесь титруют 0,05 моль/л раствором йода до появления стойкого фиолетово-синего окрашивания.



Согласно приведенной методике, 1 мл 0,05 моль/л раствора йода соответствует 8,81 мг аскорбиновой кислоты. Концентрацию аскорбиновой кислоты вычисляют по формуле:

$$C_{C_6H_8O_6} = \frac{V_{J_2} \cdot 8,81}{V_{np}}$$

где  $C_{C_6H_8O_6}$  - содержание аскорбиновой кислоты в препарате с радиоактивным нанокolloидом, мг/мл;  $V_{J_2}$  - объем титранта, требуемый для достижения точки эквивалентности, мл;  $V_{np}$  - объем пробы радиоактивного препарата, мл;

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений. Расхождение между двумя параллельными определениями не должно превышать 3% от среднего арифметического значения при доверительной вероятности  $P=0,95$ .

#### 4.3.4. Качественное и количественное определение желатина

Желатин представляет собой белок с очень высоким содержанием (13-15%) достаточно редкой аминокислоты – гидроксипролина. Кроме того в его состав входит 18 аминокислот. М. м. - 50 000-300 000.

Для качественного определения желатина используют следующую методику [109]. К 2 мл испытуемого раствора препарата прибавляют 0,05 мл раствора сульфата меди (II). Перемешивают и затем прибавляют 0,5 мл раствора гидроксида натрия. При этом должно наблюдаться фиолетовое окрашивание.

За основу методики количественного определения желатина был выбран метод с биуретовым реактивом, основанный на образовании в щелочной среде окрашенного комплекса ионов двухвалентной меди с пептидными связями молекулы белка [110]. Поскольку в состав препарата входит аскорбиновая кислота, влияющая на результат анализа, предварительно проводят осаждение желатина. С этой целью в центрифужную пробирку помещают 1 мл препарата, прибавляют 1 мл 20 % раствора трихлоруксусной кислоты и перемешивают.

Пробу отстаивают 18-20 ч при температуре 4-8 °С. Осадок отделяют центрифугированием в течение 30 мин при температуре 5 °С и скорости вращения 200 об/мин, промывают 1 мл 10 % раствора треххлоруксусной кислоты, центрифугируют в тех же условиях. Надосадочную жидкость сливают, а осадок растворяют в 0,2 мл 0,1М раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора водой до 1 мл. К 0,5 мл полученного раствора, содержащего 0,050-0,150 мг белка, прибавляют 0,5 мл воды, перемешивают, вносят 5 мл смеси реактивов А и Б в соотношении 50:1.

*Приготовление реактива А.* В мерную колбу вместимостью 100мл помещают 2 г натрия карбоната, растворяют в 0,1 М растворе натрия гидроксида и доводят до метки этим же раствором.

*Приготовление реактива Б.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,5 г меди сульфата и растворяют в 1 % растворе: калия-натрия тартрата, или натрия тартрата, или натрия цитрата.

Далее в пробирку вместимостью 10 мл помещают 1 мл испытуемого раствора и 4 мл биуретового реактива, перемешивают и выдерживают при комнатной температуре 30 мин. Затем измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 540 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Последующее определение содержание желатина в препарате проводят по калибровочному графику, построенному в координатах: оптическая плотность – концентрация желатина, мг/мл.

**Построение калибровочного графика.** Для приготовления стандартного образца желатина навеску 1,0 г, взвешенную с погрешностью не более 0,0001 г, растворяют в теплой дистиллированной воде в мерной колбе на 100 мл. Стандартный раствор содержит 10,0 мг/мл желатина.

В пять мерных колб вместимостью 25 мл каждая, помещают 9,0; 7,5; 6,5; 5,0; 3,5; 2,5 мл стандартного раствора желатина, доводят объём раствора до метки теплой дистиллированной водой и перемешивают. В полученных эталонных растворах концентрация желатина соответственно составляет: 3,6; 3,0; 2,6; 2,0;

1,4; 1,0 мг/мл.

В пять приготовленных пробирок вместимостью 10 мл вносят по: 1 мл эталонных растворов и 4 мл биуретового реактива, перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 30 мин. После измеряют оптическую плотность полученных растворов на спектрофотометре при длине волны 540 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм и строят калибровочный график в координатах: оптическая плотность – концентрация желатина в эталонных растворах, мг/мл.

**Приготовление биуретового реактива:** перед проведением анализа смешивают 20 мл раствора А и 80 мл раствора Б.

**Приготовление раствора А.** В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 4,3 г сегнетовой соли ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ ) и растворяют в 40 мл 0,2 М NaOH. После растворения прибавляют 1,5 г  $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$  и 0,5 г КJ. Раствор перемешивают и доводят объем раствора до метки 0,2 М раствором NaOH. Хранят в темном месте (или в посуде из темного стекла). Реактив пригоден около месяца.

**Приготовление раствора Б.** В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,5 г КJ, растворяют в некотором количестве 0,2 М NaOH, перемешивают и доводят объем раствора до метки 0,2 М раствором NaOH. Хранят в посуде из темного стекла не более двух недель.

Для приготовления 0,2 М раствора едкого натра нужно использовать дистиллированную воду, освобожденную от углекислого газа. С этой целью ее кипятят несколько минут и охлаждают до комнатной температуры.

В соответствии с действующими нормативными требованиями Спецификация на лекарственные средства, к числу которых относятся и радиофармпрепараты, включает три основных раздела: определяемые параметры, методы их контроля и показатели в норме. Исходя из проведенных в работе исследований и разработанного состава нанокolloидного радиофармпрепарата проект Спецификации на наработку опытных партий радиофармпрепарата может быть представлен в следующем виде.

#### 4.4. Проект спецификации

Таблица 4.1 - Спецификация на РФП «Нанокolloид  $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » для подкожного введения.

Параметры	Методы	Нормы
Описание	Визуальный	Мутновато-опалесцирующая жидкость
Подлинность	А. Эмиссионный спектральный анализ	Линии эмиссионного спектра (нм): 308,22 и 309,27 – алюминий.
	Б. УФ-спектрофотометрия	УФ-спектр раствора, приготовленного для количественного определения олова дихлорида дигидрата, в области длин волн от 340 до 370 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны $353\pm 2$ нм.
	В. УФ-спектрофотометрия	УФ-спектр раствора, приготовленного для количественного определения желатина, должен иметь максимум поглощения при длине волны 540 нм. УФ-спектр раствора, приготовленного для количественного определения аскорбиновой кислоты, в области длин волн от 230 до 260 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны $243\pm 2$ нм.
Г. УФ-спектрофотометрия	УФ-спектр раствора, приготовленного для количественного определения аскорбиновой кислоты, в области длин волн от 230 до 260 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны $243\pm 2$ нм.	
Размеры частиц (диаметр)	Спектроскопия PCCS	20-80 нм

Алюминия оксид	Эмиссионный спектральный анализ	От 0,035 до 0,04 мг/мл
Олова (II) хлорид дигидрат	Спектрофотометрия	От 0,00875 до 0,0175 мг/мл
Желатин	Спектрофотометрия	От 2,0 до 2,5 мг/мл
Аскорбиновая кислота	Спектрофотометрия	От 0,2 до 0,25 мг
рН	Потенциометрия	От 4,0 до 6,0
Объемная активность	Радиометрия	280-500 МБк/мл на дату и время изготовления
Радиохимическая чистота	Хроматография на силикагеле, радиометрия	Не менее 93,0 %
Бактериальные эндотоксины	ГФ XII	Предельное содержание не более 26,5 ЕЭ/мл
Стерильность	ГФ XII, метод прямого посева	Должен быть стерильным
Хранение	-	Должно соответствовать ОСПОРБ-99/2010
Срок годности	-	5 ч со времени приготовления
Меры предосторожности	-	Должно соответствовать ОСПОРБ-99/2010

#### 4.5. Выводы по главе

1. Проведена разработка состава реагентов для получения нанокolloидного радиофармацевтического препарата  $^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$  и общей схемы его синтеза. Изучено влияние на радиохимическую чистоту препарата и величину выхода коллоида с размерами частиц менее 100 нм стабилизирующих добавок аскорбиновой кислоты и пирофосфата, плазмы крови и биополимера желатина, а также условий и температурного режима приготовления РФП. Проведена оптимизация количественного состава используемых веществ в реакционной смеси.

2. Исследована функциональная пригодность разработанного препарата  $^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$  для определения сторожевых лимфатических узлов. Проведены его испытания на экспериментальных животных (крысах линии Вистар) путем подкожного введения. На полученных сцинтиграфических изображениях сторожевой лимфатический узел просматривается на сцинтиграммах, соответствующих временным интервалам 60 и 120 мин. При этом уровень накопления препарата в лимфатическом узле составляет 1,63 % от общей введенной активности, что достаточно для его надежной визуализации. Полученный результат близко соответствует стандартным требованиям к подобным препаратам (0,5-1,7 %).

3. Разработан состав радиофармацевтического препарата «Нанокolloид  $^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$ », с активностью 280-500 МБк, а также наноразмерный гамма-оксид алюминия, аскорбиновую кислоту, олова (II) хлорид дигидрат и желатин в количествах из расчета на 1 мл смеси, мг: 0,035-0,040; 0,20-0,25; 0,00875-0,0175 и 2,0-2,5, соответственно. Полученную смесь нагревают на водяной бане (70-80 °С) в течение 30 мин с последующим охлаждением до комнатной температуры в ультразвуковой ванне и проводят стерилизующую фильтрацию.

4. Проведен выбор методик аналитического контроля качества препарата в соответствии с действующими требованиями ОСТ «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения. № 91500.05.001-00» по

основным показателям: объемная активность, радионуклидная и радиохимическая чистота, рН, а также на содержание основного вещества гамма-оксида алюминия и всех других компонентов препарата: аскорбиновая кислота, олова (II) хлорид дигидрат и желатин. Подготовлен проект Спецификации для наработки опытных партий нового отечественного радиофармпрепарата.

### **Заключение и выводы**

Анализ состояния дел по производству и применению нанокolloидных радиофармпрепаратов показывает, что они достаточно широко используются для проведения диагностических исследований в кардиологии, онкологии и других областях медицины. Эти методы обладают высокой чувствительностью и специфичностью. Наиболее доступным радионуклидом для получения меченых нанокolloидных соединений является технеций-99м, обладающий богатой координационной химией. Как показывает практика, определяющим фактором является, размер коллоидных частиц. Так в случае выявления СЛУ они должны находиться в пределах 100 нм. Существующие технологии получения таких меченых  $^{99m}\text{Tc}$  наноразмерных препаратов отличаются достаточной сложностью. В этой связи в работе впервые была исследована возможность получения нанокolloида на основе наноразмерного порошка гамма-оксида алюминия, который отличается достаточно низкой токсичностью и высокими сорбционными свойствами. При этом необходимо было решить следующие задачи. Подобрать условия проведения устойчивой адсорбции  $^{99m}\text{Tc}$  на гамма-оксиде алюминия. Определить качественный и количественный состав реагентов, обеспечивающих высокую радиохимическую чистоту и радиохимический выход меченого нанокolloида с размерами частиц в пределах 50-100 нм. Сделать оценку функциональной пригодности синтезированного препарата и разработать проект Спецификации на наработку опытных партий, включающей методы контроля качества препарата по всем его основным показателям.

Экспериментальные результаты, полученные при выполнении диссертационной работы, позволяют сформулировать следующие выводы:

1. Исследование закономерностей адсорбции  $^{99m}\text{Tc(VII)}$  на оксиде  $\text{Al}_2\text{O}_3$  показали, что величина его сорбционной емкости существенно зависит от кислотной обработки. При этом максимум адсорбции достигается, когда в результате взаимодействия оксида с кислотой в реакционной смеси устанавливается значение  $\text{pH}=2$ . Величина удельной адсорбции  $^{99m}\text{Tc}$  возрастает пропорционально увеличению его активности в растворе в пределах изменения от 0,04 до 0,112 МБк/мл. При этом степень поглощения  $^{99m}\text{Tc}$  оксидом не зависит от его исходной активности и составляет в среднем 8,65 % при среднем значении коэффициента распределения  $K_p=0,471$ . При всех рассмотренных условиях максимальная величина адсорбции  $^{99m}\text{Tc(VII)}$  на оксиде  $\text{Al}_2\text{O}_3$  не превышает 30 % от введенной активности, что снижает радиохимическую чистоту препарата.

2. В результате изучения процесса восстановления  $^{99m}\text{Tc}$  хлоридом олова (II) показано, что для практически полного восстановления  $^{99m}\text{Tc}$  в заданном объеме РФП, концентрация  $\text{Sn (II)}$  должна быть не менее 0,0175 мг/мл. Введение в препарат большего количества  $\text{Sn (II)}$  не целесообразно, вследствие возможности образования крупноразмерного коллоида. При исследовании адсорбции восстановленного  $^{99m}\text{Tc}$  на нанопорошке  $\text{Al}_2\text{O}_3$  определены оптимальные температурные и временные режимы инкубации реакционной смеси, при которых образуется нанокolloид  $^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$  с требуемым размером частиц до 100 нм. Сделана оценка его радиохимического выхода.

3. Проведена разработка качественного и количественного состава реагентов и общей схемы синтеза для получения нанокolloидного РФП « $^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$ ». Изучено влияние на его радиохимическую чистоту и величину выхода коллоида с размерами частиц менее 100 нм стабилизирующей добавки аскорбиновой кислоты, и желатина, а также условий и температурного режима приготовления РФП.

4. Исследована функциональная пригодность препарата « $^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$ » для определения сторожевых лимфатических узлов. Проведены его испытания на экспериментальных животных путем подкожного введения. Показано, что



уровень накопления препарата в лимфатическом узле в течение временных интервалов 60 и 120 мин составляет 1,63 % от общей введенной активности, что достаточно для его надежной визуализации и близко соответствует стандартным требованиям (0,5-1,7 %).

5. Разработан состав радиофармацевтического препарата «Нанокolloид  $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ », включающий элюат  $^{99m}\text{Tc}$  с активностью 280-500 МБк, а также наноразмерный гамма-оксид алюминия, аскорбиновую кислоту, олова (II) хлорид дигидрат и желатин в количествах из расчета на 1 мл смеси, мг: 0,035-0,040; 0,20-0,25; 0,00875-0,0175 и 2,0-2,5, соответственно. Полученную смесь нагревают на водяной бане (70-80 °С) в течение 30 мин с последующим охлаждением до комнатной температуры в ультразвуковой ванне и проводят стерилизующую фильтрацию.

6. Проведен выбор методик аналитического контроля качества препарата в соответствии с действующими требованиями ОСТ «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения. № 91500.05.001-00» по основным показателям: объемная активность, радиохимическая чистота, рН, содержание и размер коллоида основного вещества гамма-оксида алюминия и всех других компонентов препарата: аскорбиновая кислота, олова (II) хлорид дигидрат и желатин. Впервые разработан проект спецификации на технологический выпуск нового отечественного радиофармпрепарата.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаю свою благодарность сотрудникам лаборатории №31 ФТИ Томского политехнического университета за оказанную поддержку в работе.

Отдельно благодарю научного руководителя, доктора технических наук Скуридина Виктора Сергеевича за помощь в выборе направления диссертационной работы и постоянную поддержку в ходе ее выполнения.

### Список литературы

1. Phoenix C., Drexler E. Safe exponential manufacturing // *Nanotechnology*. – 2006. – Vol. 15. – № 8. – P. 869–872.
2. Peter E. Cohan. Technology and Value Creation in Combinatorial Materials Science // *The 4<sup>th</sup> Annual International Symposium on Combinatorial Approaches for New Materials Discovery*. symposium. – San Diego, USA. – 2001. – P. 231.
3. Robert A. Freitas. Exploratory Design in Medical Nanotechnology: A Mechanical Artificial Red Cell. // *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Immobil. Biotech.* – 1998. – № 26. – P. 411–430.
4. Garber C. The potential and the pitfalls of nanomedicine [Электронный ресурс]. // *Nanowerk*. – 2007. – Режим доступа:  
<http://www.nanowerk.com/spotlight/spotid=1891.php>.
5. Пальцев М.А. Нанотехнологии в медицине и фармации // *Ремедиум*. – 2008. – № 9. – С. 6–10.
6. Уэбб С. Физика визуализации изображений в медицине / Уэбб С. – М.: Мир, 1991. – Т.1. – С. 190 – 318.
7. Марченков Н.С. Получение радионуклидов на ускорителях заряженных частиц // *Изотопы: свойства, получение, применение* / под. Ред. В.Ю.Баранова. – М.: ИздАТ, 2000. – С. 406 – 429.
8. Беляев С.Т., Васильев А.А., Марченков Н.С., Малинин А.Б. Производство радионуклидов и их использование в медицине (Аналитический обзор). МЦНТИ, М.-1988.-С.2.
9. Кодина Г.Е., Корсунский В.Н. Статус и прогресс использования радиофармпрепаратов технеция-99м в России // *Радиохимия*. – 1997. – Т.38. – №5. – С. 385–388.
10. Мирославов А.Е. Карбонильные комплексы технеция(I)-99 и 99m: синтез, структура, координационная химия в растворах: автореф. дис. ... д-ра хим. наук: 02.00.14 / Мирославов Александр Евгеньевич. – СПб., 2009. – 24 с.

11. Акопов Г.А., Криницин А.П., Царенко А.Ф. Механизм взаимодействия технеция с тиомочевинной // Радиохимия. – 1987. – Т. 29. – № 3. – С. 589-593.
12. Abrams M.J., Davison A., Jones A.G., Costello C.E., Pang H. Synthesis and Characterization of Hexakis(alkyl isocyanide) and Hexakis(aryl isocyanide) Complexes of Technetium(I) // Inorg. Chem. – 1983. – Vol. 22. – P. 2798-2800.
13. Kunze S, Zobi F, Kurz P, Spingler B, Alberto R. Vitamin B12 as a Ligand for Technetium and Rhenium Complexes // Angew. Chem. Int. Ed. – 2004. – Vol. 43. – P. 5025-5029.
14. Zhang ZhiYong. Applications of radiotracer techniques for the pharmacology and toxicology studies of nanomaterials // Nuclear Medicine. – 2009. – Vol. 54. – № 2. – P. 173-182.
15. Blower PJ. Extending the life of a  $^{99m}\text{Tc}$  generator: a simple and convenient method for concentrating generator eluate for clinical use // Nuclear Medicine Communications. – 1993. - Vol. 14. - №. 1. - P.995–999.
16. Knapp F. F. Jr., Beets A. L., Mirzadeh S., Guhlke S. Concentration of perrhenate and pertechnetate solutions // U.S.A. Patent № 5729821, 1998.
17. Knapp F.F. Jr., Beets A.L., Mirzadeh S., Guhlke S. Use of a new tandem cation/anion exchange system with clinical-scale generator provides high specific volume solution of technetium-99m and rhenium-188 // In: Proceedings, International Trends in Radiopharmaceuticals for diagnosis and Therapy. – Lisbon, Portugal. – 1998.
18. Mirzadeh S, Knapp F F Jr, Collins E D. A tandem radioisotope generator system for preparation of highly concentrated solutions of Tc-99m from low specific activity Mo-99 // U.S.A. Patent № 5774782, 1998.
19. Гурьянова Е.Н., Гольдштейн И.П., Ромм И.П. Донорно-акцепторная связь/М.: Химия. - 1973. - С.9-19.
20. Постников П.С., Скуридин В.С., Рогов А.С., Филимонов В.Д., Нестеров Е.А., Трусова М.Е., Садкин В.Л., Нестерова Ю.В. Исследование адсорбции технеция-99м на магнитоуправляемых нанокolloидах Fe@C(IDA) // Известия ВУЗов, ж. Физика, – 2010. – т. 53. – № 10/2 – С. 300–304.

21. Skuridin V.S., Stasyuk E.S., Nesterov E.A., Sadkin V.L., Rogov A.S. Adsorption of  $^{99m}\text{Tc}$  on Aluminum Oxide // *Radiochemistry*. – 2011. - №5. - Vol. 53. - P. 529-533.
22. Miller J. Beyond biotechnology: FDA regulation of nanomedicine. // *Columbia Science and Technology Law Review*. – 2003. – №4. – p. E540.
23. Oberdorster E. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C<sub>60</sub>) Induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. // *Environmental Health Perspectives*. – 2004. - №112. – P. 1058-1062.
24. Wang, J.Z., Plourde, N., Iverson, N., Moghe, P.V., Uhrich, K.E. Design of nanoscale macromolecules for differential display of anionic groups toward inhibition of cellular uptake of oxidized low density lipoproteins // *Int. J. Nanomed.* - 2007. - № 2. – P. 697 – 705.
25. Tomalia DA, Reyna LA, Svenson S. Dendrimers as multipurpose nanodevices for oncology drug delivery and diagnostic imaging // *Biochemical Society Transactions*. – 2007. - №35. - P. 61-67.
26. Iverson N, Plourde N, Chnari E, Nackman GB, Moghe PV. Convergence of nanotechnology and cardiovascular medicine : progress and emerging prospects // *BioDrugs*. – 2008. – №22. – P.1-10.
27. Reilly RM. Carbon nanotubes : potential benefits and risks of nanotechnology innuclear medicine // *Journal of Nuclear Medicine*. – 2007. - №48. – P.1039-1042.
28. West JL, Halas NJ. Applications of nanotechnology to biotechnology commentary // *Current Opinion in Biotechnology*. – 2000. - №11. - P. 215-217.
29. Вальяно Г.Е., Добринский Э.К., Климовский И.И. и др. Характер воздействия углеродных наночастиц на различные микроорганизмы // *Мат. III Евразийского конгресса по медицинской физике и инженерии «Медицинская физика»: конференция*. – Москва, 2010. – Т. 3. – С. 235-237.
30. Ran T.C., Lui R.L., Yin J.J., et al. Radiolabeling of 1-(N',N'-bis(2-chloroethyl)-4-aminophenyl)-N-methylfullereno-C<sub>60</sub>-(1,9-c) pyrrolidine with  $^{125}\text{I}$ . *Radiation Nucl Chem*. – 2006. – Vol. 268. - № 3. – P. 599-603.
31. Kikuchi K, Kobayashi K, Sueki K, et al. Encapsulation of radioactive  $^{159}\text{Gd}$  and  $^{161}\text{Tb}$  atoms in fullerene cages. *J Am Chem Soc*. – 1994. - № 116. – P. 9775—9776.

32. Senden T J, Moock K H, Gerald J F, et al. The physical and chemical nature of Technegas // *Journal of Nuclear Medicine*. – 1997. - № 38. – P. 1327—1333.
33. James J M, Testa H J. The use of  $^{99m}\text{Tc}$ -Technegas in the investigation of patients with pulmonary thromboembolism // *Nucl Med Commun*. – 1995. – Vol. 16. - № 10 - P. 802—810.
34. Li Q N. Biodistribution of fullerene derivate  $^{99m}\text{Tc}$ -C60(OH)<sub>x</sub>(O)<sub>y</sub>. *Chin Sci Bull*. – 2001. – Vol. 46. - № 11. – P. 1615—1618.
35. Li Q. N., Xiu Y., Zhang X D, et al. Preparation of  $^{99m}\text{Tc}$ -C60(OH)<sub>x</sub> and its biodistribution studies // *Nucl. Med. Biol*. – 2002. № 29. – P.707—710.
36. Большаков К.А. Химия и технология редких и рассеянных элементов. – М: ВШ, 1976. Ч. III. – 320 с.
37. Реми Г. Курс неорганической химии. – М: Мир, 1966. Т. II. – 826 с.
38. Коттон Ф. Уилкинсон Дж. Современная неорганическая химия. / Пер. с англ. Варгафтика М.Н.; Под ред. Дяткиной М.Е. – М: Мир. - 1969. Ч. 3. – 592 с.
39. Усов В.Ю., Ряннель Ю.Э. Слонимская Е.М. и др. Маммосцинтиграфия: основы, методики, клиническое применение // *Вести рентгенол. и радиол.* - 1997.- №5. - С. 12—17.
40. Scopinaro F., Schillaci O., Ussov W. et al. A three center study on the diagnostic accuracy of  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintimammography // *Anticancer Res.*- 1997.- V. 17.- № 3.- P. 1631-1634.
41. Cabanas R.M. An approach for the treatment of penile carcinoma // *Cancer (Philad.)*.—1977.—Vol. 39.—P. 456-66.
42. Mansel CD, on behalf of ALMANAC Trialists Group. The learning curve in sentinel node biopsy (SNB) in breast cancer: results from the ALMANAC trial. *Breast Cancer Research Treatment* // *Special Issue: 24th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium: symposium*. - 2001.- P. 212.
43. Alex J.C., Krag D.N. Gamma-prob guided localization of lymph nodes // *Surg. Oncol*. – 1993. -Vol. 2.- № 3.- P. 137-143.

44. Двойрин В. В., Аксель Е. М., Трапезников Н. Н. Статистика злокачественных новообразований в России и некоторых других странах в 1994 году. - М.-1995.- Т. 1.- 198 с.
45. Vidal Sicart et al. Sentinel Node Mapping for Breast Cancer: Current Situation // Eur. J. Nuclear Medicine and Molecular Imaging. - 2004. - Vol. 31. - № 7. - P.945–949.
46. Hughes DK. Nuclear medicine and infection detection: the relative effectiveness of imaging with  $^{111}\text{In}$ -oxine-,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMPAO-, and  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -stannous fluoride colloid-labeled leukocytes and with  $^{67}\text{Ga}$ -citrate. J Nucl Med Technol. – 2003. – Vol. 31. – № 4. – P. 196-201.
47. Кодина Г.Е., Богородская М.А., Малышева А.О., Севастьянова А.С. Способ получения нанокolloида для приготовления радиофармпрепаратов // Патент RU № 2315624, 2008.
48. В.И. Чернов, С.Г. Афанасьев, И.Г. Синилкин, А.А. Тицкая, А.В. Августинovich Радионуклидные методы исследования в выявлении «сторожевых» лимфатических узлов // Сиб. Онкол. Жур. - 2008. - №4. – С. 1-10.
49. Тульская Т.И. Диагностические радиофармпрепараты // Медицина целевые проекты. – 2012. - №12. – С. 23-25.
50. Линденбратен Л.Д., Королюк И.П. Медицинская радиология (Основы лучевой диагностики и терапии) – М.: Медицина. – 2000. - 672 с.
51. С. Tsopelas The radiopharmaceutical chemistry of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tin fluoride colloid-labeled-leukocytes// The quarterly journal of nuclear medicine and molecular imaging. – 2005. - Vol. 49. - P. 319-324.
52. Lin Y., Zhang X., Li J. et al. Appl. Radiat. Isot. – 2003. - №58. – P. 347-352.
53. Abrashkin S., Heller-Grossman L., Schafferman A., Davis M.A.  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  Generators: the Influence of the Radiation Dose on the Elution Yield. // Int. J. Appl. Radiat. Isot. – 1978. - No 29. - P. 395.
54. Cifka J., Vesely P. Some factors influencing the elution of technetium – $^{99\text{m}}$  Generators. // Radiochim. Acta. – 1971. - No 16. - P. 30.

55. Схемы распада радионуклидов. Энергия и интенсивность излучения. Рекомендации МКРЗ. // М.: Энергоатомиздат. – 1987. – ч.2, кн.2. – с. 69-106.
56. Куренков Н.В., Шубин Ю.Н. Радионуклиды в ядерной медицине (получение и использование). - Обнинск:ФЭИ-2429, 1995.
57. Дзелепов Б.С., Пекер Л.К. Схемы распада радиоактивных ядер  $A < 100$ . – Л.: Наука, 1966.
58. Химия. Справочное руководство. – Л.: Химия, 1975. – 575 с.
59. Гайсинский М., Адлов Ж. Радиохимический словарь элементов. – М.: Атомиздат, 1968. – 256 с.
60. Гусев Н.Г., Дмитриев П.П. Квантовое излучение радиоактивных нуклидов. - М.: Атомиздат, 1977. - С. 302-308.
61. К. В. Когетов, О.Н. Павлов, В.П. Шведов. Технеций. - М.: Атомиздат, 1965. - С. 28-36.
62. Лаврухина А.К., Поздняков А.А. Аналитическая химия технеция, прометия, астатина, франция. Академия наук СССР, институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского. - М.: Наука, 1966. - С. 26-31.
63. Тананаев И.В., Глушкова М.А. // Журнал Неорганической Химии. – 1957. - № 2. - С. 281.
64. Хайд З., Перлман И., Сиборг Г. Ядерные свойства тяжелых элементов, вып. 1. Трансурановые элементы. – М.: Атомиздат, 1967.
65. Gao J., Sun X., Fan H., et al. Separation and determination of six metal cations by capillary zone electrophoresis // J. Chil. Chem. Soc. – 2008. Vol. 53. – P.50-53.
66. Bailey R.A., Yaffe L. The separation of some inorganic ions by high-voltage electromigration in paper // Can. J. Chem. – 1960. - №38. – P.1871.
67. Clearfield A., Stynes J. A. The Preparation of Crystalline Zirconium Phosphate and Some Observations on Its Ion Exchange Behaviour // J. Inorg. Nucl. Chem. – 1964. - №26. – P. 117-129.
68. Smit J. van R. Ammonium Salts of the Heteropolyacids as Cation Exchangers // Nature. - 1958. – № 181. – P. 1530-1531.

69. Eichholz G.G., Nagel A. E., Hughes R. B. Adsorption of Ions Dilute Aqueous Solutions on Glass and Plastic Surfaces // *Analyt. Chem.* – 1965. – № 37. – P. 863-868.
70. Брикун И.К., Козловский М.Т., Никитина Л.В. Гидразин и гидроксилламин и их применение в аналитической химии. - Алма-Ата: Наука, 1967. - 176 с.
71. Голуб А.М., Келер Х., Скопенко В.В. Химия псевдогалогенидов. – К.: ВШ, 1981. – 362 с.
72. Скуридин В.С. Методы и технологии получения радиофармпрепаратов. - Томск: Изд. ТПУ, 2013. – 139 с.
73. Лайнер А. И., Производство глинозема. - М., 1961. – 120 с.
74. Карролл-Порчинский Ц. Материалы будущего. - М.: Химия, 1966 – 238 с.
75. Самсонов Г.В. Физико-химические свойства окислов: Справочник. - М.: «Металлургия», 1978. - 167 с.
76. Липпенс Б.К. Строение и свойства адсорбентов и катализаторов. - М.: Мир, 1993. – 862 с.
77. Giles C.H., MacEwan T.N., Nakhwa S.N., Smith D. A System of Classification of Solution Adsorption Isotherms, and its Use in Diagnosis of Adsorption Mechanisms and in Measurement of Specific Surface Areas of Solids // *J. Chem. Soc.* – 1960. – P. 3973 – 3992.
78. Peri J. B., Hannan R. B. Surface hydroxyl groups on  $\gamma$ -alumina // *J Physical Chemistry.* - 1960. – №64. - P. 1526-1530.
79. Cornelius E.B., Milliken T. H., Mills G.A., Oblad A.G. Surface Strain in Oxide Catalysts–Alumina // *J Physical Chemistry.* - 1955. - №59. – P. 809-813.
80. Lippens B.C., J.H. de Boer. Studies on pore systems in catalysts: V. The t method // *Journal of Catalysis.* – 1965. - Vol. 4, - P. 319-323.
81. Эткинс П. Физическая химии. М.: “МИР”. – 1980. - Т. 2. - С. 502-509.
82. Воюцкий С.С. Курс коллоидной химии. М.: “Химия”. - 1975. – 512 с.
83. Wang L., Hall W.K. On the genesis of molybdena-alumina catalyst. // *J. Catal.*- 1980.- No 66. - p. 251.



84. Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Садкин В.Л., Рогов А.С., Нестеров Е.А., Варламова Н.В. Исследования адсорбции технеция-99м на  $\gamma$ -оксидах алюминия с различной кислотной активацией. // 9-я международная конференция «Ядерная и радиационная физика»: конференция. – Алматы, 24-27 сентября 2013. – с. 266.
85. Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Варламова Н.В., Нестеров Е.А., Рогов А.С., Садкин В.Л. Разработка методов получения нового коллоидного радиофармпрепарата на основе оксида алюминия меченого технецием-99м. // Первая Российская конференция по медицинской химии: конференция. – Москва, 8-12 сентября 2013. – с. 140.
86. Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Варламова Н.В., Садкин В.Л., Рогов А.С. Исследование процесса адсорбции  $^{99m}\text{Tc}$  (VII) на активированном оксиде алюминия // Российская научно-техническая конференция с международным участием «Актуальные проблемы радиохимии и радиозологии»: конференция. – г. Екатеринбург, ноябрь 9-11, 2011 – С. 131-136.
87. Skuridin V.S., Sadkin V.L., Stasyuk E.S., Nesterov E.A., Varlamova N.V., Rogov A.S. Obtaining of radioactive nano colloidal materials on the basis of gamma alumina // International of young scientists and specialists «Current issues on the peaceful use of atomic energy»: conference. - Almaty, 2012. – P.79.
88. Nanorhox инструкция по эксплуатации и обслуживанию. Sympatec GmbH. - 2013. – 65 с.
89. Чарыков А.К. Математическая обработка результатов химического анализа: Учеб. Пособие для вузов.- Л.: Химия, - 1984.- 168 с.
90. Румшицкий Л.З. Математическая обработка результатов эксперимента.-М.: Наука, - 1971. - 192 с.
91. Skuridin V.S., Sadkin V.L., Stasyuk E.S., Nesterov E.A., Rogov A.S. A procedure for Sorbent Pretreatment for the Production of High-Activity  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$  Generators Based on Enriched  $^{98}\text{Mo}$  // Radiochemistry, - 2012. - Vol. 54. - № 4. - P. 391 - 394.

92. Стасюк Е.С., Скуридин В.С. Способ изготовления хроматографического генератора технеция-99m из облученного нейтронами молибдена-98 // Патент RU № 2403640, 2010.
93. Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Садкин В.Л., Нестеров Е.А., Чибисов Е.В., Рогов А.С., Ларионова Л.А., Нестерова Ю.В., Варламова Н.В. Исследования процесса адсорбции технеция-99m на оксидах алюминия // Мат. V межд. научно-практич. конф. «Физико-технические проблемы атомной энергетики и промышленности»: конференция. – Томск, 2010. – с.115.
94. Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Садкин В.Л., Чибисов Е.В., Рогов А.С., Чикова И.В. Изучение статической и динамической адсорбции технеция-99m на оксиде алюминия // Известия ВУЗов, ж. Физика, –2010. – т. 53. – № 10/2 – с. 294–300.
95. Skuridin V.S., Sadkin V.L., Stasyuk E.S., Varlamova N.V., Rogov A.S., Nesterov E.A. Obtaining technetium-99m labeled nanocolloids based on aluminum oxide for medical diagnostics //7th International Symposium on Technetium and Rhenium – Science and Utilization: symposium – Moscow, 2011. - p. 135.
96. Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Нестеров Е.А., Садкин В.Л., Рогов А.С. Изучение процесса сорбции технеция-99m на оксидах алюминия // Материалы III Всероссийского симпозиума «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии»: конференция. – Краснодар, 2011. – С. 203.
97. Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Варламова Н.В., Нестеров Е.А., Рогов А.С., Садкин В.Л. Разработка методов получения нового коллоидного радиофармпрепарата на основе оксида алюминия меченого технецием-99m. // Первая Российская конференция по медицинской химии: конференция. – Москва, 8-12 сентября 2013. – С. 140.
98. Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Варламова В.Н., Рогов А.С., Садкин В.Л., Нестеров Е.А. Получение нового нанокolloидного радиофармпрепарата на основе оксида алюминия // Известия ТПУ. Химия. - 2013 - Т. 323 - №. 3. - с. 33-37.

99. Несмеянова Н., Руководство к практическим занятиям по радиохимии. М.: Химия, - 1968. - С. 136-143.
100. Скуридин В.С., Чибисов Е.В., Меркулов В.Г., Нестеров Е.В. Экстракционно-хроматографическое получение высокочистого технеция-99м // Российская научно-техническая конференция с международным участием «Актуальные проблемы радиохимии и радиоэкологии»: конференция. – г. Екатеринбург, ноябрь 9-11, 2011 – с. 147-151.
101. Кодина Г.Е. Методы получения радиофармацевтических препаратов и радионуклидных генераторов для медицины // Изотопы: свойства, получение, применение / под ред. В.Ю. Баранова: в 2 томах. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2005. – Т. 2. – С. 311–483.
102. Зайцева Л.Л., Величко А.В., Виноградов И.В. Соединения технеция и области их применения // Итоги науки и техники. – М.: ВИНТИ, 1984. – Т. 9. –180 с.
103. Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Варламова Н.В., Нестеров Е.А., Рогов А.С., Садкин В.Л. Метод получения нового нанокolloидного препарата меченого технецием-99м на основе оксида алюминия // XIV International scientific conference «high-tech in chemical engineering-2012»: конференция. - Тула. – 2012. - с. 245.
104. Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Нестеров Е.А., Варламова В.Н., Рогов А.С., Садкин В.Л. Способ получения меченого технецием-99м нанокolloида // RU № 2463075, 2012.
105. Михайлов О.В. Как склеить «химический кувшин» из осколков // Природа. - 2003. –№ 12 – С. 17-24.
106. Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Варламова Н.В., Постников П.С., Нестеров Е.А., Садкин В.Л. Получение и экспериментальные испытания меченых технецием-99м нанокolloидных препаратов на основе гамма-оксида алюминия и магнитоуправляемых частиц Fe@C(IDA)//Известия ВУЗов, ж. Физика, –2011. – т. 54. – № 11/2 – С. 332–339.
107. Государственная фармакопея СССР, XI изд. вып.1. 1987. – вып.2. – 1990.

108. ФСП 42-0234-0931-01 "Пирфотех,  $^{99m}\text{Tc}$ " – ООО "Диамед". – 12с.
109. Европейская фармакопея 7.0, том 2. –Совет Европы. Страсбург. 2011/2012. – С. 1952-1954.
110. Государственная Фармакопея Российской Федерации XII издание, часть 1. – "Научный центр экспертизы средств медицинского применения". - 2008. – 704 с.

Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение  
**«Томский научно-исследовательский  
институт онкологии»  
(Томский НИИ онкологии)**

Кооперативный пер., д. 5, Томск, 634009  
Тел./ факс (3822) 51 10 39/ 51 40 97  
E-mail: [nii@oncology.tomsk.ru](mailto:nii@oncology.tomsk.ru)

ОКПО 01895186, ОГРН 1027000861568,  
ИНН/КПП 7019011979/701701001



УТВЕРЖДАЮ

Директор Томского НИИ онкологии,

академик РАН

Чойнзонов Е.Л.

« 10 » 09 2014г.

#### АКТ

внедрения в производство результатов диссертационной работы Садкина В.Л. на тему: "Получение меченого технецием-99m нанокolloида на основе гамма-оксида алюминия для медицинской диагностики", представленной на соискание учёной степени кандидата технических наук по специальности: 05.17.02 – «Технология редких, рассеянных и радиоактивных элементов».

Настоящий акт составлен комиссией:

Председатель комиссии:

Заместитель директора по научной работе  
и инновационной деятельности, д.м.н., проф.

Чернов В.И.

Члены комиссии:

Старший научный сотрудник, к.м.н.  
Врач-радиолог, к.м.н.

Синилкин И.Г.

Зельчан Р.В.

Методика получения и состав меченого технецием-99m нанокolloидного препарата на основе гамма-оксида алюминия, разработанные в процессе выполнения диссертационных исследований, используются для приготовления лиофилизатов того же состава при синтезе нового отечественного радиофармацевтического препарата «<sup>99m</sup>Tc-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>». Доклинические испытания препарата проводятся в НИИ онкологии в рамках выполнения ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» по теме «Доклинические исследования нового лимфатропного радиофармацевтического препарата на основе меченого технецием-99m гамма-оксида алюминия». Одним из важнейших результатов внедрения считаем создание стабильного нанокolloидного радиофармацевтического препарата с требуемым размером частиц в пределах от 50 до 100 нм в сочетании с его высоким радиохимическим выходом и чистотой. Все это делает препарат конкурентоспособным по сравнению с известными зарубежными аналогами. В России подобные препараты отсутствуют.

Начало использования объекта внедрения с 2012 г.

Председатель комиссии:

В.И. Чернов

Члены комиссии:

И.Г. Синилкин

Р.В. Зельчан

## МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования

**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
ФИЗИКО-ТЕХНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ**

Ленина пр., 30, Томск, 634050, тел. (3822) 60-63-33, (3822) 70-17-79, факс (3822) 56-38-65,  
E-mail: [tpu@tpu.ru](mailto:tpu@tpu.ru) ОКПО 02069303, ОГРН 1027000890168, ИНН/КПП 7018007264/701701001, БИК 046902001

## АКТ

внедрения результатов диссертационной работы Садкина В.Л. на тему:  
«Получение меченного технецием-99m нанокolloида на основе гамма-оксида алюминия для  
медицинской диагностики», представленной на соискание ученой степени кандидата  
технических наук по специальности: 05.17.02 – Технология редких, рассеянных и  
радиоактивных элементов

Настоящий акт составлен об использовании в учебном процессе результатов и методик экспериментального получения меченных технецием-99m нанокolloидных соединений для медицинской диагностики. Полученные Садкиным В.Л. новые данные о процессе восстановления  $^{99m}\text{Tc}$  в присутствии Sn (II) и адсорбции восстановленного радионуклида на наноразмерном порошке оксида  $\text{Al}_2\text{O}_3$  характеризуют общий методологический подход для получения биоактивных соединений с радиоактивной меткой технеция-99m.

Результаты исследований используются при чтении курса лекций по теме: «Технологии получения радиофармпрепаратов» в соответствии с действующей магистерской программой 010700.24 «Медицинская физика», а также при выполнении практических и лабораторных занятий, включая выполнение курсовых работ.

Начало использования объекта внедрения с 2012 г.

Акт составлен 22 сентября 2014 года.

Директор ФТИ ТПУ

Заведующий кафедрой ПФ ФТИ ТПУ



О.Ю. Долматов

А.Р. Вагнер