

Новый способ выделения ^{97}Ru из облученного α -частицами молибдена для ядерной медицины

А. Г. Казаков,^{a,б} И. А. Иванов,^а М. А. Орлова,^{а,в,г*} А. Б. Приселкова,^д Р. А. Алиев,^{а,б}
Г. Ю. Алешин,^а Т. П. Трофимова,^{а,г} С. Н. Калмыков^а

^аМосковский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Химический факультет,
Российская Федерация, 119991 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 3.

E-mail: orlova.radiochem@mail.ru

^бНациональный исследовательский центр «Курчатовский институт»,
Российская Федерация, 123098 Москва, пл. Акад. Курчатова, 1

^вРоссийский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова,
Российская Федерация, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1

^гНациональный медицинский исследовательский центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева,

Российская Федерация, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1

^дМосковский государственный университет, Институт ядерной физики им. Д. В. Скобельцина,
Российская Федерация, 119991 Москва, Ленинские горы, стр. 21

Предложен новый метод выделения радионуклида ^{97}Ru из облученного α -частицами молибдена для потенциального применения в ядерной медицине. Рутений-97 без носителя отделяли от макроколичеств молибдена и трассерных количеств технеция методом экстракционной хроматографии на коммерческом сорбенте DGA resin. Изучено распределение ^{97}Ru в органах мышей.

Ключевые слова: рутений-97, экстракционная хроматография, *in vivo* мышинная модель.

Успехи цисплатина как перспективного антиопухолевого препарата обусловили пристальное внимание исследователей к возможной роли металлов VIII группы как компонентов новых лекарственных средств^{1,2}. Кроме того, начались поиски их радионуклидов, пригодных для создания радиофармпрепаратов (РФП). Рутений, способный к различным типам комплексообразования, имеющий широкий спектр степеней окисления и обладающий менее токсичными свойствами по сравнению с платиной, вызывает особый интерес³. Кроме того, рутений может связываться с альбумином, трансферрином и биомолекулами, содержащими тиольную группу, что повышает его биодоступность⁴.

Рутений-97 ($T_{1/2} = 2.9$ сут) давно рассматривают как перспективный изотоп для применения в ядерной медицине⁵, где он способен выступить более эффективным аналогом ^{67}Ga , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ и ^{111}In .⁶ Предложены методы его получения из различных мишеней путем облучения их протонами, нейтронами и ядрами гелия в соответствии с реакциями $^{96}\text{Ru}(n,\gamma)^{97}\text{Ru}$, $^{7\text{nat}}\text{Mo}(^3\text{He},n)^{97}\text{Ru}$ и $^{97\text{nat}}\text{Mo}(\alpha,n)^{97}\text{Ru}$, $^{8\text{nat}}\text{Mo}(\alpha,n)^{97}\text{Ru}$, $^{99}\text{Tc}(p,3n)^{97}\text{Ru}$, $^{9\text{nat}}\text{Rh}(p,2p5n)^{97}\text{Ru}$.¹⁰ Кроме того, изучено использование бомбардировки ниобиевых и иттриевых мишеней тяжелыми ионами по реакциям $^{93}\text{Nb}(^7\text{Li},3n)^{97}\text{Ru}$ (см. лит. ¹¹) и $^{89}\text{Y}(^{12}\text{C},p3n)^{97}\text{Ru}$.¹² Несмотря на многообразие подходов, оптимальные методы синтеза ^{97}Ru до сих пор не найдены. Наиболее перспективным считается облучение технеция-99 протонами или родиевых

мишеней протонами высоких энергий, однако в первом случае требуются мишени из редкого и радиоактивного технеция, а во втором — мощные ускорители¹⁰. При облучении мишеней из природного молибдена недостатком для медицинского использования является образование примеси долгоживущего изотопа ^{103}Ru . Однако этого можно избежать, если применять мишени, обогащенные легкими ядрами молибдена (^{94}Mo , ^{95}Mo), чтобы исключить реакцию $^{100}\text{Mo}(\alpha,n)^{103}\text{Ru}$. Описано также много различных методов выделения ^{97}Ru из облученных мишеней, например, отгонка $^{97}\text{RuO}_4$, анионообменная хроматография, экстракция¹², но требуется упрощение и ускорение этих процедур.

В настоящей работе предложен оригинальный способ выделения ^{97}Ru из облученного молибдена методом экстракционной хроматографии и рассмотрено распределение его простой химической формы (хлорида) *in vivo* на мышинной модели.

Экспериментальная часть

Облучение мишеней и регистрация α -спектров. В работе облучали две сложенные вдвое мишени из молибденовой фольги (60 и 70 мг, чистота 99.9%) прямоугольной формы (0.8×2 см) и толщиной 50 мкм. Облучение проводили пучками α -частиц с энергией 30 МэВ при токе 2.5 мкА в течение 1.5 ч. Мишени выдерживали 4 ч и затем регистрировали их

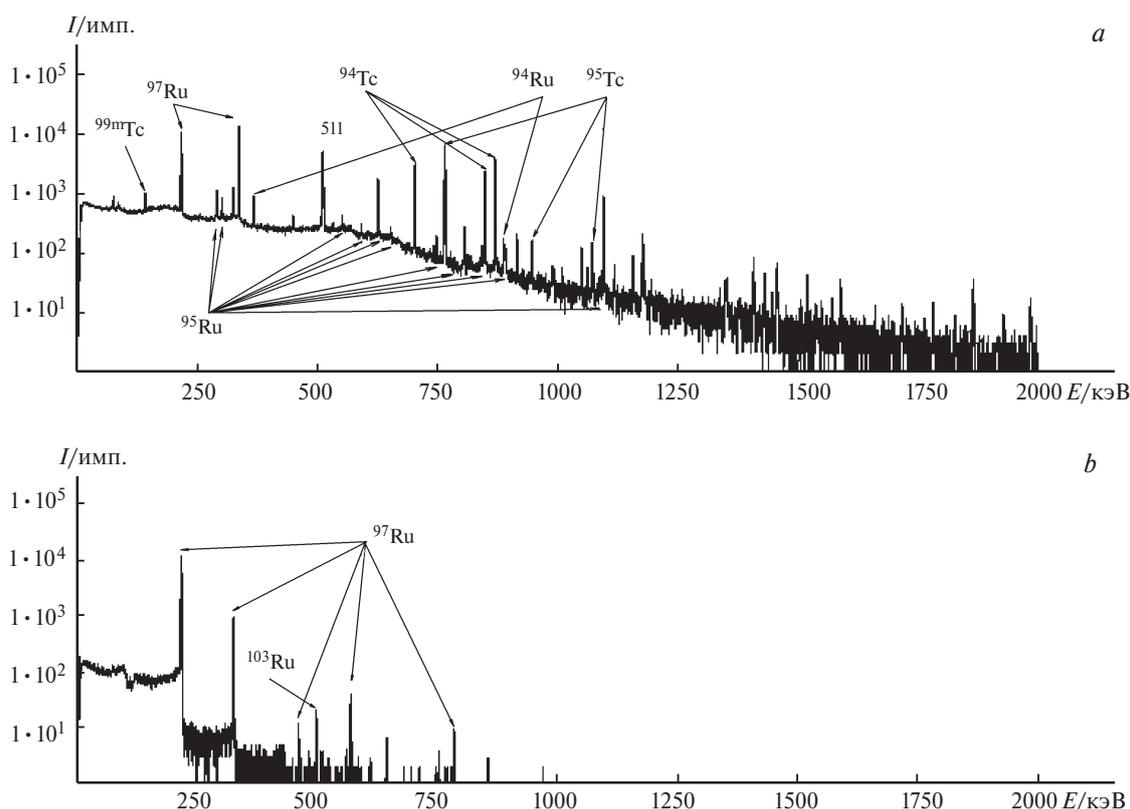


Рис. 1. γ -Спектры облученной мишени через 4 ч после ЕОВ (а) и фракции очищенного рутения для экспериментов *in vivo* после облучения в течение 4 суток (б).

γ -спектры для определения радионуклидного состава (рис. 1, а). γ -Спектры регистрировали на спектрометре с детектором из высокоочищенного германия GR 3818 («Canberra Inc.», США). Детектор калибровали по сертифицированным эталонным источникам (^{22}Na , ^{60}Co , ^{241}Am и ^{137}Cs) и раствору ^{152}Eu известной активности.

Выделение рутения методом экстракционной хроматографии. Для разделения изотопов рутения применяли метод экстракционной хроматографии на коммерческих сорбентах DGA (на основе N,N,N',N' -тетраakis-2-этилгексилдигликоламида, 100–150 меш) и TEVA (на основе четвертичных аммониевых солей, 100–150 меш) («Triskem», Франция). Сорбенты предварительно выдерживали в 0.01 M HCl не менее 1 ч. Кусочки фольги (4–20 мг) вырезали из мишени и растворяли в 1–3 мл 40%-ного H_2O_2 при умеренном нагревании. Раствор выпаривали, остаток растворяли в 200 мкл HCl (1, 2 или 3 моль \cdot л $^{-1}$). Полипропиленовую колонку объемом 3 мл, высотой 7 см и диаметром 0.7 см заполняли сорбентом и промывали 10 мл HCl (1, 2 или 3 моль \cdot л $^{-1}$). Затем на нее наносили раствор (1–3 мл), полученный при растворении мишени. Элюат собирали порциями по 3 мл, регистрируя их γ -спектры для определения содержания рутения и технеция.

Спектрофотометрия. Возможную степень окисления рутения в элюате после экстракционно-хроматографического разделения оценивали с помощью спектрофотометрии макроколичеств рутения (спектрофотометр «Shimadzu UV-1280», Япония). Использовали исходный раствор Ru^{IV} в HCl, который помещали на колонку с сорбентом, пропускаемая через нее растворы тех же сред, в которых выделяли ^{97}Ru . Для определения содержания молибдена в элюате ^{97}Ru фракции изучали методом спектрофотометрии. Поиск проводили для пиков MoO_4^{2-} и $\text{Mo}(\text{OH})_6$ в области 219 нм 13 . Для этого после разделения на колонке отбирали аликвоты

по 1.5 мл (3 M HCl) из каждой фракции и добавляли 1.5 мл 4 M NaOH. Выполнение измерений в щелочной среде было вызвано необходимостью избавиться от многочисленных форм полимолибдата, сложное равновесие которых существует в кислых средах.

Эксперименты *in vivo*. Эксперименты на животных проводили в соответствии с Директивой Европейского парламента и Совета по защите животных, используемых в научных целях 2010/63/EU. Перед экспериментами мыши проживали 12-часовой цикл в стандартных условиях. Использовали лабораторных белых нормальных самок мышей с массой тела 28–33 г. Элюат ^{97}Ru , полученный после разделения на DGA, выпаривали досуха и растворяли в дистиллированной воде с добавлением небольшого количества карбоната натрия для доведения pH до 7. Аликвоты этого раствора вводили мышам внутривентриально. Активность ^{97}Ru в аликвоте составляла ~1500 Бк. Животных умерщвляли через 15, 30 и 60 мин (по четыре мыши каждый раз) методом церебральной дислокации. Органы извлекали, дополнительно промывали водой и измеряли их радиоактивность на γ -спектрометре по ^{97}Ru (линия при 215.7 кэВ).

Обсуждение полученных результатов

Радионуклидный состав облученных молибденовых мишеней. Состав одной из мишеней представлен в таблице 1 (активность рассчитана на момент окончания бомбардировки (end of bombardment, EOB)). γ -Спектр приведен на рисунке 1, а. В ранних измерениях не видны пики ^{96}Tc и ^{103}Ru из-за их слишком малой активности, однако после облучения в течение несколько суток указанные пики можно наблюдать.

Таблица 1. Радионуклидный состав облученной мишени

Нуклид	Основная реакция	$T_{1/2}$	E_{γ}^a /кэВ	$A_{\text{ЕОВ}}^b$ /кБк
^{94}Tc	$^{92}\text{Mo}(\alpha, \text{pn})$	4.9 ч	702.6 (99.6), 849.7 (95.7), 871.1 (100)	114 ± 23
^{95}Tc	$^{92}\text{Mo}(\alpha, \text{p})$	20 ч	765.1 (93.8), 947.7 (1.95), 1073.7 (3.74)	163 ± 14
^{96}Tc	$^{94}\text{Mo}(\alpha, \text{pn})$	4.28 сут	778.2 (100), 1127.0 (15.2)	0.5 ± 0.1
$^{99\text{m}}\text{Tc}$	$^{96}\text{Mo}(\alpha, \text{p})$	6 ч	140.5 (89)	3.7 ± 0.2
^{94}Ru	$^{92}\text{Mo}(\alpha, 2\text{n})$	52 мин	366.9 (75), 891.7 (25)	201 ± 33
^{95}Ru	$^{92}\text{Mo}(\alpha, \text{n})$	1.64 ч	290.48 (4), 336.43 (7), 1096.76 (21)	777 ± 172
^{97}Ru	$^{94}\text{Mo}(\alpha, \text{n})$	2.9 сут	215.7 (86), 324.5 (11)	62 ± 6
^{103}Ru	$^{100}\text{Mo}(\alpha, \text{n})$	39.26 сут	497.1 (90.8)	0.10 ± 0.02

^a Энергия γ -квантов, использованная для определения соответствующих пиков, в скобках — вероятность (%) испускания ядром соответствующего кванта. ^b Активность, нарабатанная на момент ЕОВ.

С использованием тонкой фольги мы достигли активности ~ 60 кБк ^{97}Ru , что представляется многообещающим, так как в ядерной медицине предполагается применение толстых мишеней. Как указано выше, недостатком является образование примесного количества рутения-103, чего можно избежать в медицинских экспериментах. В нашем исследовании *in vivo* активность ^{103}Ru составляла < 5 Бк на мышь, а дозовая нагрузка была незначительной.

Экстракционная хроматография на DGA и TEVA. Предпочтительной средой для выделения ^{97}Ru для экспериментов *in vivo* является HCl, что уменьшает число этапов, необходимых для выделения

радионуклида с целью биологических испытаний. Молибден, рутений и технеций имеют широкий диапазон степеней окисления. Использование пероксида водорода способствует образованию анионов этих элементов в растворе с максимально высокими степенями окисления. Для сорбента DGA-resin значения коэффициентов распределения (K_d) молибдена и рутения в HCl известны¹⁴, однако степень окисления рутения в работе¹⁴ не определяли. Молибден(VI) прочно связывается с DGA при концентрациях HCl > 2 моль \cdot л⁻¹. В этих условиях и технеций прочно удерживается сорбентом, а значения K_d для рутения малы, поэтому для его элюирования можно использовать 3 M HCl без опасности элюирования Mo и Tc. Кривые элюирования 3 M раствором HCl представлены на рисунке 2. γ -Спектры показали отсутствие изотопов Tc во фракциях рутения. После элюирования 40 мл раствора пропускали через колонку с толуолом (см. рис. 2), который удаляет сорбент с подложки. Толуольный элюат содержал 100% Tc и 5% Ru. Далее были проведены длительные измерения γ -спектров фракций 0—40 мл и их изучение методом спектрофотометрии для определения трассеров Tc и Mo. После непрерывного измерения в течение 2.5 суток были обнаружены γ -пики технеция, количество которого после колонки уменьшилось на пять порядков. При исследовании тех же фракций методом спектрофотометрии не было обнаружено пиков молибдена, а по калибровочной кривой определен предел чувствительности, равный $9.37 \cdot 10^{-5}$ моль \cdot л⁻¹ (9.0 мкг \cdot мл⁻¹). Таким образом, общее содержание молибдена в каждой собранной фракции (по 3 мл) составляло не более 36 мкг, а следовательно, коэффициент разделения рутения и молибдена — не менее 550. Такая чистота конечного раствора рутения-97 является достаточной для требований ядерной медицины. Если же в случае толстых мишеней потребуется более высокая чистота элюата, то рекомендуется использовать вторую

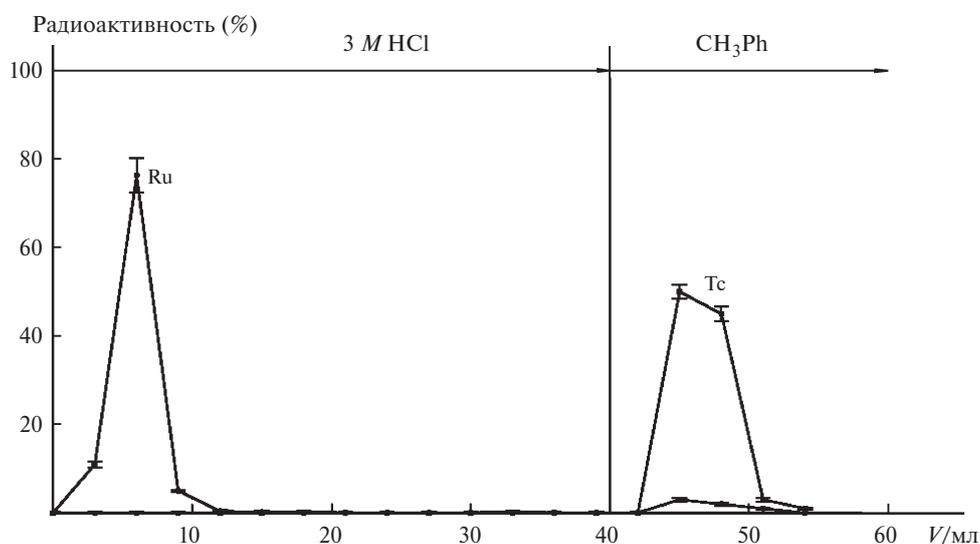


Рис. 2. Кривые элюирования Ru и Tc на сорбенте DGA-resin. Указана радиоактивность (%) в расчете на исходную активность до разделения.

Таблица 2. Распределение удельной активности (%) рутения-97 в органах мышей

Время экспозиции ⁹⁷ Ru в мыши/мин	Распределение удельной активности (%) ⁹⁷ Ru в органах мышей				
	легкие	печень	почки	сердце	селезенка
15	1.1±0.2	1.07±0.04	5.7±0.4	1.02±0.09	0.84±0.08
30	0.89±0.16	3.2±0.2	3.4±0.3	0.88±0.12	2.6±0.3
60	1.3±0.2	1.42±0.12	3.4±0.3	0.8±0.2	0.45±0.07

колонку с DGA и провести дополнительную очистку в тех же условиях.

Ожидалось, что сорбент TEVA-resin также будет применен для отделения рутения от Tc и Mo,¹⁵ однако этот сорбент не оправдал ожиданий: в 12 мл элюата рутения содержалось значительное количество технеция — до 20% его загруженной на колонку активности. Изменение концентрации HCl на более низкую (от 1 до 2 моль·л⁻¹) не помогало добиться лучших результатов.

Спектрофотометрия стабильного рутения. Для оценки, в какой форме рутений-97 выходит с колонки DGA, использовали растворы стабильного рутения. Анионные формы [RuCl₆]²⁻ с максимумом поглощения при λ = 485 нм (рис. 3, а) наблюдались в растворах с пероксидом водорода и 3 М HCl, что соответствует процедуре растворения мишени. Это согласуется с данными, представленными в литературе^{16–18}. Следовательно, наиболее вероятным состоянием выделенного из мишени рутения-97 является форма

[⁹⁷RuCl₆]²⁻. При последующем повышении pH в результате разбавления раствора эта форма превращается в различные аквакомплексы^{19,20}, такие как



с появлением пиков в областях 320, 380 и 450 нм, которые действительно регистрируются в спектрах (рис. 3, b). Поэтому можно утверждать, что ⁹⁷Ru вводился в эксперименты *in vivo* в виде различных хлоридных аквакомплексов.

Эксперименты *in vivo*. Спектр γ-излучения раствора, использованного для инъекций, представлен на рисунке 1, b. Вводимая активность ⁹⁷Ru составляла 1.5 кБк на мыш, активность примеси ¹⁰³Ru была менее 5 Бк. Как видно из γ-спектра, другие радионуклиды отсутствовали. Распределение рутения-97 в органах мыши представлено в таблице 2. После экспозиции препарата в течение 30 мин его метаболизм существенно изменяется, что следует из распределения рутения в органах. После экспозиции в течение 60 мин в органах мыши все еще наблюдается значительная концентрация радионуклида, больше всего в почках. Вероятно, это подразумевает длительный клиренс, однако указанный факт требует дополнительных исследований. Изменения в межорганным распределении хлорида рутения во времени могут быть связаны с окислительно-восстановительными процессами рутения с участием биологических компонентов организма в условиях его активного транспорта в крови с использованием альбумина, трансферрина и металло-тионеина.

Таким образом, предложен простой и удобный способ получения и выделения радионуклида ⁹⁷Ru для ядерной медицины с помощью коммерческих сорбентов. Для облучения предпочтительно использовать обогащенные молибденовые мишени, что позволит избавиться от долгоживущей примеси ¹⁰³Ru, однако в данном эксперименте процентное содержание ¹⁰³Ru было незначительным для дозовой нагрузки при экспериментах *in vivo*. Межорганным распределение ⁹⁷Ru указывает на то, что изотоп быстро не удаляется из организма даже в простой форме хлорида. Это позволяет надеяться на его не только диагностический, но и терапевтический потенциал.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-08-00055).

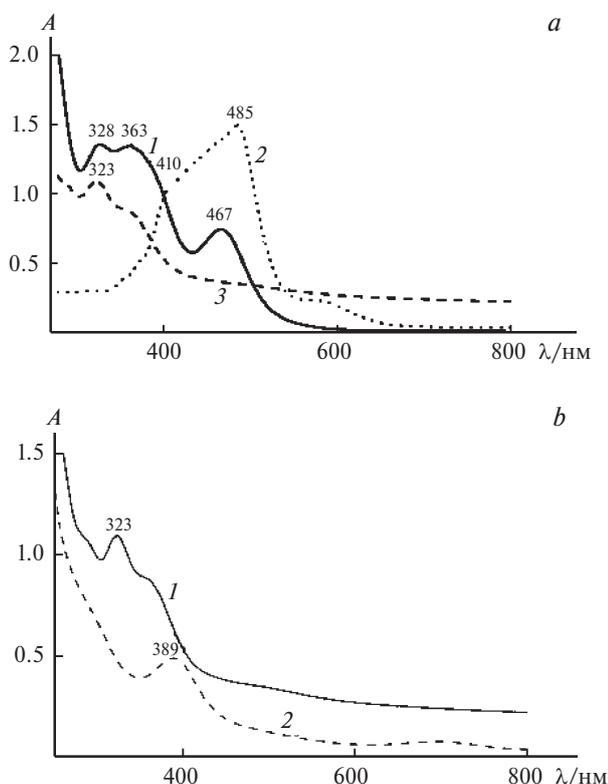


Рис. 3. Спектры поглощения стабильного рутения: (а) в 3 М HCl (1), в H₂O₂ + 3 М HCl (2) и в HCl при pH 1 (3); (б) при pH 4.5 (1) и 7 (2).

Список литературы

1. E. S. Antonarakis, A. Emadi, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2010, **66**, 1.
2. E. Tfouni, D. R. Truzzi, A. Tavares, A. J. Gomes, L. E. Figueiredo, D. W. Franco, *Nitric Oxide*, 2012, **26**, 38.
3. B. Wu, M. S. Ong, M. Groessl, Z. Adhireksan, C. G. Hartinger, P. J. Dyson, C. A. Davey, *Chem. Eur. J. (A)*, 2011, **17**, 3562.
4. F. Kratz, M. Hartmann, B. Keppler, L. Messori, *J. Biol. Chem.*, 1994, **269**, 2581.
5. P. J. Blower, *Dalton Trans.*, 2015, **44**, 4819.
6. S. Dmitriev, N. Zaitseva, G. Y. Starodub, O. Maslov, S. Shishkin, T. Shishkina, G. Buklanov, A. Sabelnikov, *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. A Accel. Spectrometers, Detect. Assoc. Equip.*, 1997, **397**, 125.
7. S. C. Srivastava, L. F. Mausner, M. J. Clarke, *Progr. Clin. Biochem. Medicine*, 1989, **10**, 111.
8. H. P. Graf, H. Münzel, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 1974, **36**, 3647
9. N. G. Zaitseva, E. Rurarz, M. Vobecky, H. Kimhyn, V. A. Khalkin, *Radiochim. Acta*, 1992, **56**, 59.
10. M. C. Lagunas-Solar, M. J. Avila, N. J. Navarro, P. C. Johnson, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, 1983, **34**, 915.
11. M. Maiti, S. Lahiri, *Radiochim. Acta*, 2011, **99**, 359.
12. M. Maiti, A. Datta, S. Lahiri, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 80919.
13. J. Cruywagen, J. B. B. Heyns, *Inorg. Chem.*, 1987, **26**, 2569.
14. A. Pourmand, N. Dauphas, *Talanta*, 2010, **81**, 741.
15. E. P. Horwitz, M. L. Dietz, R. Chiarizia, *Anal. Chim. Acta*, 1995, **310**, 63.
16. J. E. Fergusson, A. M. Greenaway, *Aust. J. Chem.*, 1978, **31**, 497.
17. D. Shouana, Y. Xiaoyun, *Anal. Chim. Acta*, 1997, **345**, 243.
18. M. Balcerzak, E. Swipsicka, *Talanta*, 1996, **43**, 471.
19. A. V. Bashilov, A. A. Fedorova, V. K. Runov, *J. Anal. Chem.*, 2000, **55**, 1250.
20. В. И. Парамонова, Е. Ф. Латышев, *Радиохимия*, 1959, **1**, 458.

Поступила в редакцию 6 ноября 2019;
принята к публикации 26 декабря 2019