

На правах рукописи



Варламова Наталья Валерьевна

**РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ПОЛУЧЕНИЯ МЕЧЕННЫХ ТЕХНЕЦИЕМ-99М
НАНОКОЛЛОИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ СТОРОЖЕВЫХ
ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ**

05.11.17 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
доктора технических наук

Томск – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет».

Научный консультант: **Скуридин Виктор Сергеевич**
доктор технических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Рыжкова Дарья Викторовна**
доктор медицинских наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» НИО ядерной медицины и тераностики института онкологии и гематологии, заведующая кафедрой ядерной медицины и радиационных технологий, руководитель научно-клинического объединения ядерной медицины, главный научный сотрудник;

Красильников Сергей Эдуардович
доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра онкологии, профессор кафедры;

Поляков Евгений Валентинович
доктор химических наук, доцент, ФГБУН Институт химии твёрдого тела Уральского отделения Российской академии наук, Министерство науки и образования России, г. Екатеринбург, главный научный сотрудник, заместитель директора института по научной работе;

Защита состоится «18» декабря 2019 года в 15:00 ч на заседании диссертационного совета ДС.ТПУ.14 на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет по адресу: 634028, г. Томск, ул. Савиных, 7, ауд. 502.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет и на сайте: dis.tpu.ru

Автореферат разослан " ____ " _____ 2019 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета



Филиппова Екатерина Олеговна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время в нашей стране онкологические заболевания находятся на втором месте в структуре причин смертности населения. Каждый год в России от злокачественных новообразований умирает около трехсот тысяч человек, а заболевает ими почти пятьсот тысяч.

В США и Европе ядерная медицина считается самым прогрессивным методом ранней диагностики онкологических, кардиологических, эндокринных и ряда других заболеваний. В Америке больше 80% пациентов со злокачественными новообразованиями (ЗНО) полностью вылечиваются уже в первый год и проходят пятилетний рубеж после постановки диагноза. В настоящее время Россия по радионуклидной диагностике заметно отстает от других стран. Уровень производства отечественных радиофармпрепаратов (РФП) не превышает 3 % от их потенциального спроса. В России в практической медицине используются 22 РФП для проведения однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) и около 6 препаратов для позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) на основе 4-х ультракороткоживущих радионуклидов и порядка 20 импортных наборов для радиоиммунного анализа (РИА-наборы). В то же время в США применяются около 130 радионуклидных тестов *in vivo* и около 60 радиодиагностических методов *in vitro*.

Методы ядерной медицины обладают высокой чувствительностью, воспроизводимостью, специфичностью и функциональностью.

В настоящее время в лечении онкологических заболеваний формируются новые медицинские стандарты. Приоритетным является не только излечение от ЗНО с сохранением качества жизни, но и сведение к минимуму возможных осложнений. Актуальным является и профилактика рецидивов после проведенного лечения.

Современные исследования, направлены на усовершенствование органосохраняющих и щадящих подходов к хирургическому лечению ЗНО и оценку эффективности их применения. Очевидно, что радикальность расширенных опера-

ций при начальных стадиях рака существенно превосходит необходимую. Предоперационные методы диагностики лимфатических узлов (эхография, компьютерная и магнитно-резонансная томографии) используемые в настоящее время являются недостаточно достоверными.

Единственным способом выявления метастазов в лимфатических узлах при диссеминации опухоли по лимфосистеме является «профилактическая» лимфаденэктомия с последующим гистологическим исследованием удаленных лимфоузлов. Известно, что хирургические вмешательства подобного рода имеют ряд осложнений, приводящих к снижению реабилитационной способности, и нередко становятся причиной стойкой инвалидизации больного.

С целью улучшения диагностики раннего метастазирования является актуальным использование концепции «сторожевого» лимфатического узла, разработанной в 1977 г. Cabanas R.M. Согласно его мнению: «лимфатический дренаж из любого участка тела или органа осуществляется в каком-либо преимущественном направлении и, следовательно, должен существовать некий основной, так называемый «сторожевой», лимфатический узел (СЛУ), через который осуществляется преимущественный пассаж лимфы». Поэтому актуальность выявления СЛУ у больных раком с целью ранней диагностики метастатического поражения является чрезвычайно высокой, так как это позволит обоснованно изменить объемы хирургического вмешательства и спланировать послеоперационное лечение каждого конкретного больного.

Для определения сторожевых лимфоузлов в настоящее время достаточно широко применяется метод радионуклидной индикации с радиоизотопом технецием-99м.

Радионуклид технеций-99м (^{99m}Tc) применяется для диагностики во многих областях медицины. Радиофармпрепараты (РФП) на основе технеция -99м используют более чем в 87 % всех радионуклидных исследований. Обусловлено это низкой энергией γ -излучения 0,1405 МэВ, которая обеспечивает малую экспозиционную дозу и хорошую проникающую способность для проведения радиометрических измерений, а также относительно коротким периодом полураспада $T_{1/2}$

(6,02 ч). К тому же технеций-99м является наиболее доступным радионуклидом для ядерной медицины.

Для определения лимфоузлов в ядерной медицине существует ряд РФП, но ни один из них не зарегистрирован в Российской Федерации. При этом в качестве транспортирующих ^{99m}Tc агентов используют коллоиды фторида олова, сульфида сурьмы и рения, представляющие собой устойчивые гидрозолы.

Как показала практика, определяющим фактором для проведения диагностических исследований с радиоактивными коллоидами является не столько химическая природа таких частиц, сколько их размеры. Известно, что для проведения лимфосцинтиграфии размер частиц от 20 до 100 нм является оптимальным. При этом наночастицы с размерами менее 20 нм легко проникают в кровь, что препятствует визуализации лимфоузлов, а частицы более 100 нм перемещаются по лимфосистеме медленно.

В нашей стране для этих целей нашел применение единственный серийно выпускаемый препарат ^{99m}Tc -Технефит (ООО «Диамед», г. Москва) - коллоидный раствор на основе фитина (солей инозитгексафосфорной кислоты). Указанный РФП зарегистрирован для проведения сцинтиграфии печени и селезенки, но на практике кроме того были выявлены его лимфотропные свойства. Основным недостатком всех известных лимфотропных радиофармпрепаратов является низкий уровень накопления в лимфоузлах (менее 2 % от введенной активности) и проникновение в лимфатические узлы 2 и 3 порядков, что снижает специфичность диагностики.

Большую часть из известных коллоидных радиофармпрепаратов получают по достаточно сложным технологиям. Например, технология изготовления коллоида сульфида сурьмы включает до 10 технологических операций. Примерно столько же стадий требуется для изготовления ^{99m}Tc -сульфид рениевого коллоида. Вместе с тем, проведенные нами предшествующие исследования доказали, что стабильные нанокolloидные соединения можно получить более простым способом – путем проведения адсорбции восстановленного ^{99m}Tc на модифицирован-

ных гидрофобными группами молекулах ДТПА, магнитоуправляемых коллоидах Fe@C, а также на наноразмерных порошках гамма-оксида алюминия.

Использование гамма-оксида Al_2O_3 в качестве транспортирующего агента для ^{99m}Tc является обосновывается его низкой токсичностью, хорошими адсорбционными свойствами, доступность и низкой стоимостью. Следует сказать, что все мировое производство генераторов технеция-99м, используемых в медицине основано на этом сорбенте. В результате изучение литературных данных определили, что работы по разработке меченного ^{99m}Tc нанокolloида Al_2O_3 в мире не проводились. Это определило цель настоящей работы.

Степень разработанности темы исследования. Исследования, посвященные разработке наноразмерных РФП, и их практическому применению проводились во многих странах. В России разработкой и синтезом препаратов для ядерной медицины, занимается ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА и ФГАОУ ВО НИ ТПУ.

В ТПУ были получены меченные ^{99m}Tc коллоидные препараты на основе модифицированных производных ДТПА и железо-углеродных частиц. Здесь же впервые была исследована возможность получения наноразмерного коллоида $^{99m}Tc-Al_2O_3$.

Результаты представляемой работы получены при выполнении госбюджетной темы «Исследование физико-химических закономерностей введения метки технеция-99м в соединения на основе органических и неорганических матриц» (№ Госрегистрации НИР 01201251361), а также при проведении исследований в рамках 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).

Были проведены исследования по теме «Разработка методов получения лиофилизата нанокolloида к генератору технеция для диагностики в онкологии» (ГК №14.518.11.7036) при поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на

2009 - 2013 годы». Совместно с НИИ кардиологии г. Томска 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). Совместно с Томским НИИ онкологии в рамках федеральной целевой программы ФАРМА - 2020 были проведены работы по теме «Доклинические исследования нового лимфотропного радиофармацевтического препарата на основе меченого технецием-99м гамма-оксида алюминия» (ГК №16.N08.12.1011).

Целью работы является разработка технологии получения меченого технецием-99м радиофармацевтического нанокolloидного препарата и методов контроля его качества, обеспечивающих безопасность и высокую эффективность использования для диагностики сторожевых лимфатических узлов.

Для достижения поставленной цели необходимо решить **следующие задачи:**

1. Установить круг исходных органических и неорганических субстанций, обеспечивающих получение меченных технецием-99м нанокolloидных РФП.

2. Исследовать качественный и количественный состава реагентов и условия проведения синтеза меченных технецием-99м нанокolloидов на основе модифицированных молекул ДТПА, магнитоуправляемых частиц Fe@C, а также гамма-оксида алюминия с высоким радиохимическим выходом и радиохимической чистотой (РХЧ) целевых продуктов.

3. Разработать состав и методику приготовления реагента на основе гамма-оксида Al_2O_3 виде стандартного набора (лиофилизата) к генератору технеция-99м для получения РФП «Нанокolloид, $^{99m}Tc-Al_2O_3$ ».

4. Разработать методики качественного и количественного анализа нового РФП. На основании полученных результатов подготовить проект фармакопейной статьи предприятия (ФСП).

5. В экспериментальных исследованиях оценить функциональную пригодность нового РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » для сцинтиграфического и интраоперационного выявления «сторожевых» лимфатических узлов.

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

1. Установлен круг исходных субстанций для получения меченных технецием-99м нанокolloидных препаратов на основе органических модифицированных молекул ДТПА, магнитоуправляемых частиц $\text{Fe}@C$ и наноразмерного порошка гамма-оксида алюминия.

2. Исследован состав реагентов и условия проведения синтеза трех нанокolloидных РФП. Определено минимальное количество (0,0175 мг/мл) восстанавливающего агента - олова (II) для достижения радиохимической чистоты препаратов более 94 % и установлена экспериментальная зависимость изменения содержания в препаратах примеси $^{99m}\text{Tc}(\text{VII})$ от концентрации восстановителя.

Впервые в мировой практике доказана возможность получения устойчивых нанокolloидных соединений простым способом – путем проведения адсорбции восстановленного ^{99m}Tc на гамма-оксиде алюминия.

3. Разработаны оптимальный состав реагентов и технология приготовления стандартного набора к генератору технеция-99м в виде лиофилизата для получения РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ ». Установлен срок годности лиофилизированного набора для изготовления РФП, который составляет 1 год.

4. Разработаны методы аналитического контроля качества радиофармпрепарата «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ ». Проведена стандартизация методик качественного и количественного определения основных компонентов в составе лиофилизата.

5. Экспериментально доказано, что РФП может быть использован для визуализации сторожевых лимфатических узлов при среднем его накопления в СЛУ около 8% в течение 1 часа.

Теоретическая и практическая значимость. Созданы проекты Спецификации и Фармакопейной статьи предприятия на новый отечественный радиофармпрепарат. Разработан Технологический регламент получения радиофармпрепарата «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ ». Технология получения препарата «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ », созданная при выполнении диссертации, была апробированная при наработке опытных образцов РФП для проведения его доклинических испытаний в НИИ онкологии Томского НИМЦ, в ходе которых была подтверждена функциональная пригодность препарата для диагностики СЛУ. Результаты работы используются в учебно-педагогическом процессе при чтении курса лекций по теме: «Радиохимия. Применение радионуклидов и радиофармпрепаратов в диагностике и терапии» по направлению 14.04.02 «Ядерная медицина. Применение полученных результатов на практике подтверждается Актами о внедрении (приложение 1).

Методология и методы исследования. В работе использовали следующие методы исследований и методики: спектрофотометрические методы анализа, метод инверсионной вольтамперометрии, метод тонкослойной хроматографии, методика потенциометрического измерения рН, методы определения размеров меченых коллоидов, методики выполнения радиометрических измерений, методы изучения общетоксического действия лекарственных средств, а также статистические методы анализа.

Методологической основой диссертационного исследования послужили существующие наработки по синтезу наноразмерных препаратов для ядерной медицины в мире, а также методов контроля качества и анализа результатов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Экспериментальные результаты по проведению синтеза меченных технецием- 99m нанокolloидных препаратов на основе химически модифицированных комплексонов диэтилентриаминпентауксусной кислоты (^{99m}Tc -ДТПА).

2. Результаты экспериментальных исследований по получению меченных технецием- 99m нанокolloидных препаратов на основе

железоуглеродных частиц Fe@C, модифицированных фрагментами бензилдиметилен-аминоуксусной кислоты. И третий – на основе наноразмерного порошка гамма-оксида алюминия.

3. Результаты определения качественного и количественного составов реагентов и условий проведения устойчивой адсорбции технеция-99м на наноразмерных порошках гамма-оксида Al_2O_3 .

4. Разработка состава и технологии приготовления лиофилизированного набора реагентов для получения радиофармпрепарата «Нанокolloид, $^{99m}Tc-Al_2O_3$ » в условиях медицинских радиологических лабораторий.

5. Результаты определения сроков годности лиофилизированного набора и получаемого на его основе РФП.

6. Комплекс аналитических методик определения основных компонентов синтезированного радиофармпрепарата и проведения контроля его качества. Проекты Спецификации и Фармакопейной статьи предприятия на препарат.

7. Технологический регламент получения радиофармпрепарата «Нанокolloид, $^{99m}Tc-Al_2O_3$ ».

8. Определение функциональной пригодности РФП на экспериментальных животных.

Личный вклад автора состоит в изучении и анализе литературы по теме диссертационной работы, в общей постановке задач, участии в проведении исследований, математической обработке и анализе полученных результатов, написании докладов, статей и внедрении результатов исследований в разработку технологии изготовления нового РФП.

Степень достоверности результатов обеспечивается воспроизводимостью результатов опытов. Работа не противоречит современным научным представлениям о закономерностях физико-химических процессов. Согласуется с известными литературными данными. Все оценки и исследования проведены с использованием аттестованных методик на сертифицированном оборудовании.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на Междунар. Конф. «Ядерная и радиационная физика». – Алматы, 2011; Междунар. конф. «Фундаментальные и прикладные исследования, разработка и применение высоких технологий в промышленности и экономике». - Санкт-Петербург, 2012; Междунар. науч. конф. «International conference Nanomaterials: Applications and Properties». – Алушта, 2013; I рос. конф. по мед. химии. - Москва, 2013; Междунар. науч. конф. «Изотопы: технологии, материалы и применение: материалы». – Томск, 2014; V Междунар. конф. «От наноструктур, наноматериалов и нанотехнологий к наноиндустрии». - Ижевск, 2015; Междунар. конгр. «Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine». - Barcelona, 2015

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 68 работы, из них 27 - в журналах, входящих в перечень рекомендованных ВАК МОиН РФ, 32 - тезисы докладов в материалах всероссийских и международных научных конференций, 4 патента на изобретение. Имеется два акта о внедрении.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 227 страницах печатного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов, объектов и методов исследования, 2 глав собственных экспериментальных исследований, заключения, списка цитируемой литературы и приложений. В работе содержатся 28 таблиц, 33 рисунка. Список цитируемой литературы включает 258 библиографических источников, из которых 169 на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность диссертационной работы, определены цели и задачи исследований, изложены научная новизна и практическая значимость.

В первой главе представлен аналитический обзор литературных данных, который посвящен современному состоянию проблемы диагностики «сторожевых» лимфатических узлов (СЛУ) у онкологических больных. Обоснованы цели и задачи исследования. Одним из основных показателей распространения в организме опухолевого процесса является поражение лимфатических узлов, поэтому определение их состояния является одним из критериев, оцениваемых при определении стадии заболевания. Тщательное исследование лимфатических узлов в хирургическом материале имеет огромное значение в определении прогноза заболевания.

В связи с этим в стандарты хирургического лечения злокачественных опухолей входит обязательное удаление всех лимфатических коллекторов. Вместе с тем, как показывают результаты многолетнего изучения биопсии сторожевых лимфатических узлов, при многих опухолях такой «радикальный» подход оказывается нецелесообразным у всех без исключения больных [1-3].

В настоящее время оптимальными РФП для выявления «сторожевых» лимфатических узлов признаны меченные технецием-99м коллоидные препараты различного состава [4-6].

Из анализа представленных литературных данных следует, что используемые в ядерной медицине радиоактивные наноразмерные препараты изготавливаются по достаточно сложным технологиям [7]. В связи с чем в диссертации исследуется возможность получения стабильного наноразмерного коллоидного соединения более простым способом - введением радиоактивной метки ^{99m}Tc в модифицированные гидрофобными группами молекулы ДТПА и на магнитоуправляемые коллоиды Fe@C. В качестве наиболее оптимального варианта рассматривается возможность одностадийного проведения адсорбции восстановленного ^{99m}Tc на активированной поверхности гамма-оксида алюминия.

Проводится детальная отработка методики и условий проведения синтеза нанокolloида $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ и экспериментальные исследования его безопасности и эффективности использования для диагностики сторожевых лимфатических узлов.

Во второй главе диссертации приводится перечень материалов, реагентов и основного оборудования, используемых при проведении исследований. Дана их характеристика.

Представлены методики приготовления растворов и реагентов для получения целевых продуктов, а также методики определения размеров меченных нанокolloидных частиц методом мембранной фильтрации и на анализаторе размеров частиц Nanophox. Описаны методики проведения радиометрических измерений активности ^{99m}Tc в пробах из исследуемых радиофармпрепаратов и получения радиохроматограмм. Рассмотрены методы определения химических примесей. Описаны методики проведения микробиологических исследований и определения функциональной пригодности РФП для сцинтиграфического и интраоперационного выявления «сторожевых» лимфоузлов. Представлены методы статистической обработки результатов экспериментов.

В третьей главе диссертации рассмотрена концепция производства меченых технецием-99м нанокolloидов для медицинской диагностики, в соответствии с которой предлагается два принципиальных подхода к формированию коллоидных частиц на основе неорганических структур и органических соединений.

Метод формирования наночастиц с использованием неорганических структур подразумевает получение готовых наноразмерных частиц металлов с заданными размерами и структуры их модификацию с переводом в коллоидную систему. Вторым способом получения наноразмерных соединений является органический синтез коллоидных наноразмерных дисперсных систем с присоединением хелаторов для связи с изотопом технеция-99м.

Для получения первого типа нанокolloидов в качестве объекта исследований были выбраны производные комплексона модифицированной диэтилентриаминпентауксусной кислоты $(\text{ДТПА})_{\text{мод}}$, несущие гидрофобные (липофильные) за-

местители. Данные заместители обеспечивают образование стабильных коллоидных систем в водной среде.

Следует отметить, что сама по себе молекула ДТПА, как и ее комплексы с металлами, гидрофильна и не склонна к образованию коллоидных частиц. На ее растворимость и способность образовывать коллоиды определенного размера в первую очередь влияет соотношение между количеством гидрофильных и гидрофобных групп (гидрофильно-липофильный баланс - ГЛБ). В результате проведенных исследований было определено, что присоединение к молекуле ДТПА двух длинных (C21–C22) алифатических неразветвленных цепей с ароматической группой, выполняющей роль «мостика» между молекулой ДТПА и алифатическими цепями, обеспечивает возможность получения коллоидных растворов ДТПА_{мод} при физиологических значениях pH. Соединения с более короткими алифатическими цепями (C7–C10) показали себя значительно хуже. Общая структурная формула синтезированного ДТПА_{мод} и получаемого из него меченного ^{99m}Tc комплекса приведены на рисунке 1.

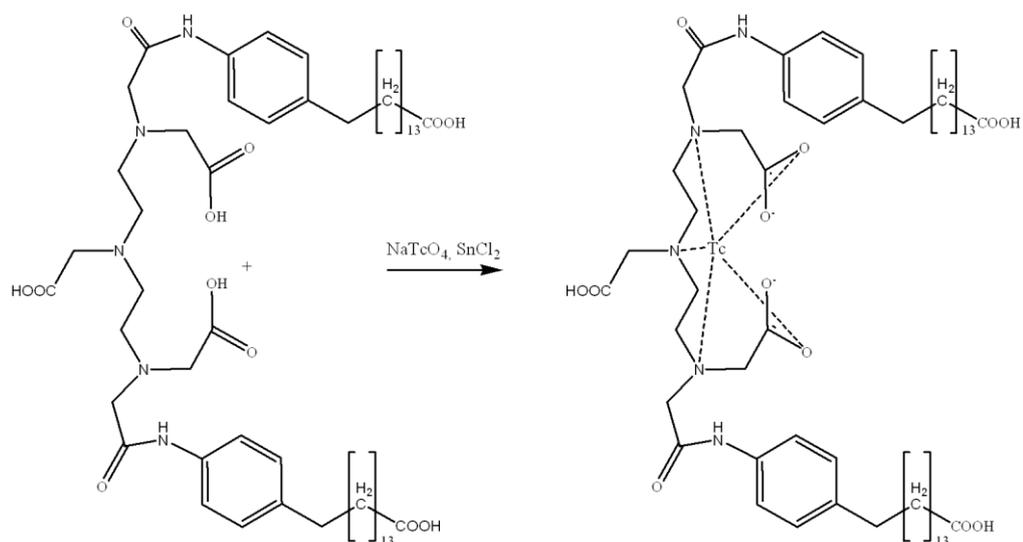


Рисунок 1 – Схема синтеза ДТПА_{мод} меченного технецием – ^{99m}Tc

Для получения из синтезированного ДТПА_{мод} нанокolloида с требуемым размером частиц (до 100 нм) была проверена растворимость полученной субстанции в различных средах. В результате в качестве растворителя для

приготовления меченной ^{99m}Tc нанокolloидной суспензии ДТПА_{мод} был выбран 5 % раствор NaHCO_3 .

Поскольку 7-валентный ^{99m}Tc , выделяемый из генератора в виде раствора натрия пертехнетата, ^{99m}Tc , не проявляет комплексообразующих свойств, для получения его восстановленной формы при проведении синтеза меченого нанокolloида ДТПА_{мод} использовали хлорид двухвалентного олова. Все это потребовало проведения предварительных экспериментальных исследований по установлению необходимого и достаточного количества $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ в реакционной смеси. В ходе этих экспериментов было установлено, что оптимальная концентрация Sn(II) в составе реакционной смеси при его взаимодействии с ^{99m}Tc должна находиться в пределах 0,0175-0,035 мг/мл.

Оценка содержания радиохимической примеси $^{99m}\text{Tc(VII)}$ в исходных реакционных смесях различного состава проводилась методом радиохроматографии. В качестве подвижной фазы использовался ацетон. Наиболее значимый результат получается при взаимодействии элюата ^{99m}Tc с раствором смеси [0,11 мг ДТПА_{мод} + 0,14 мг SnCl_2]. В этом случае содержание примеси невосстановленного $^{99m}\text{Tc(VII)}$ составляет 2,7 %, что близко соответствует нормативным требованиям к подобным препаратам. Однако предварительные испытания такой смеси на экспериментальных животных показали, что накопление препарата в лимфатических узлах практически не наблюдается, хотя коллоид имеет размеры частиц в требуемом диапазоне от 50 до 100 нм. Исходя из этого, было высказано предположение, что препарат перемещается по лимфатической системе с недостаточной скоростью. В этой связи была исследована возможность его «транспортирования» путем введения в состав препарата желатина (Ж). В этой связи была исследована возможность его «транспортирования» путем введения желатина (Ж) в состав радиофармпрепарата. Желатин является полидисперсной смесью низкомолекулярных пептидов со следующими характеристиками:

- длина молекулы желатина – около 2750 Å;
- диаметр молекулы желатина – 15 Å;
- средний размер межмолекулярных пустот – 80-90 Å.

Данные характеристики позволяют сказать о том, что матричные системы на основе желатина характеризуются структурной организацией, обеспечивающей однородное распределение иммобилизованного вещества, а также хорошую стерическую доступность молекул. В нашем случае это препятствует образованию крупного коллоида олова с восстановленным ^{99m}Tc . Это, в свою очередь, обеспечивает хорошую стерическую доступностью молекул для осуществления различных химических процессов, а также их упорядочивания, препятствующего коагуляции в процессе «транспортирования» коллоида по лимфосистеме. Как подтвердили и наши исследования содержание желатина в концентрации 2,5-4 мг/мл достаточно для снижения количества крупного коллоида олова с ^{99m}Tc до приемлемого значения 20 %, при радиохимической чистоте продукта 92-95 %.

В целом, исходя из полученных результатов, можно заключить, что предлагаемый способ позволяет получать меченный технецием-99м нанокolloидный препарат на основе модифицированного ДТПА, пригодный для проведения гамма-сцинтиграфических исследований, о чем свидетельствуют данные, полученные после введения радиофармпрепарата экспериментальным животным. Накопление в лимфоузле 1,5 % (рисунок 2).

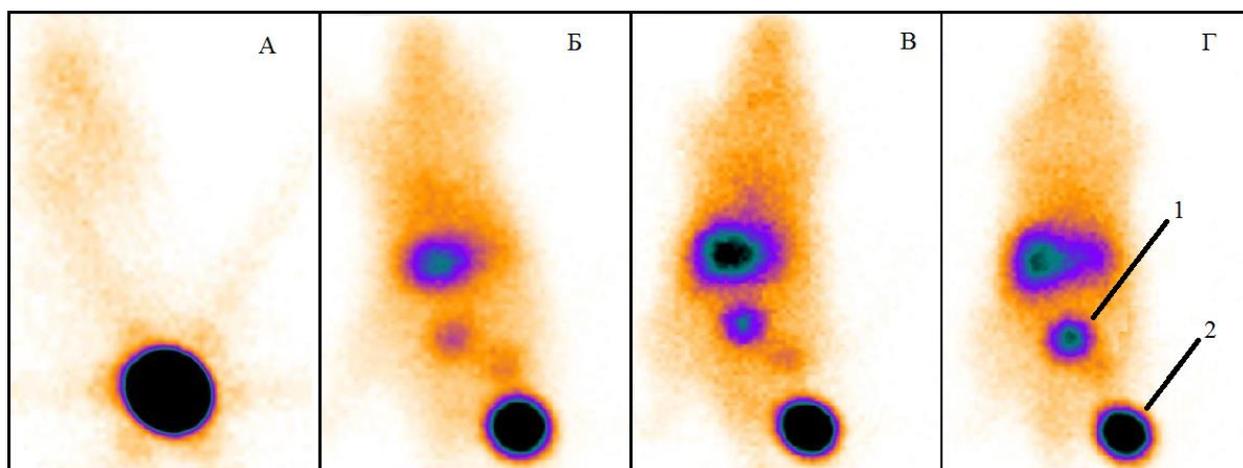


Рисунок 2 - Распределение в организме крысы суспензии $[\text{ДТПА}_{\text{мод}} + ^{99m}\text{Tc} + \text{Sn}(\text{II}) + \text{Ж}]$: сразу после инъекции РФП (А); через 30 минут после введения (Б); через 60 минут (В); через 120 минут (Г).

Цифрами обозначено: 1 – лимфоузел, 2 – место инъекции препарата

Второй тип полученных в работе нанокolloидов представляет собой частицы железа, покрытые углеродной оболочкой с нанесенными на нее органическими радикалами - арилдиазоний тозилатами АДТ, к которым через ковалентные связи присоединены фрагменты бензилдиметиленаминоуксусной кислоты (IDA).

Общая схема синтеза коллоида на основе модифицированных наночастиц Fe@C приведена на рисунке 3.

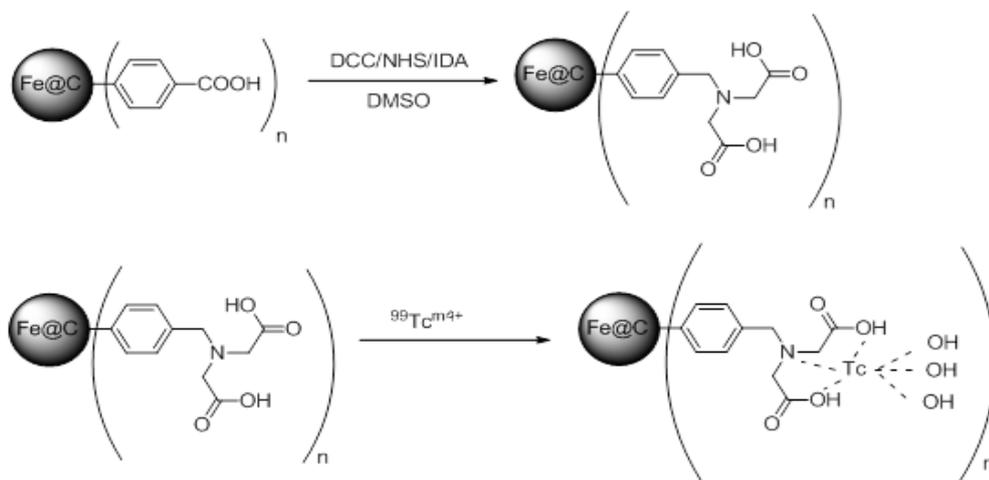


Рисунок 3 – Схема синтеза коллоида на основе наночастицы Fe@C, модифицированного арилдиазоний тозилатами с хелатсодержащей группой

Для восстановления $^{99m}\text{Tc}(\text{VII})$ и «связывания» его с органическими радикалами на поверхности частиц Fe@C в качестве восстановителя, так же, как и в экспериментах с ДТПА_{мод}, использовали $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Экспериментально было установлено, что в заданном объеме РФП для полного восстановления ^{99m}Tc , концентрация Sn (II) должна быть около 0,0175 мг/мл. Последующее нанесение метки ^{99m}Tc в присутствии олова (II) проводили по следующей методике. Во флаконе смешивали 2 мл водной суспензии Fe@C(АДТ) с 2 мл элюата. За тем вводили раствор Sn (II) из расчета 0,02 мг на 1 мл смеси. Кроме того, в качестве добавок с целью повышения РХЧ препарата использовали аскорбиновую кислоту АК - 0,25 мг/мл и пирофосфат натрия ПФ - 4,4 мг/мл. За тем полученные продукты отфильтровали через фильтры с диаметром пор 200 нм, 100 нм и 50 нм с целью определения радиохимического выхода меченных ^{99m}Tc фракций с

размерами частиц 50, 100 и 220 нм. Величину выхода определяли путем сравнения активности полученных фильтратов с активностью исходной смеси. Параллельно проводили определение радиохимической чистоты препаратов путем снятия радиохроматограмм проб, отобранных из фильтратов. Результаты исследований для фракций с размерами 100 нм представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Изменение величины адсорбции ^{99m}Tc на модифицированном Fe@C(АДТ) в зависимости от состава реакционных смесей (фракция 100 нм)

| п/п | Образец | РХЧ, % | Выход, % |
|-----|---|--------|----------|
| 1 | $\text{Fe@C}+^{99m}\text{Tc}+\text{Sn(II)}$ | 55 | 25 |
| 2 | $\text{Fe@C}+^{99m}\text{Tc}+\text{АК}+\text{ПФ}+\text{Sn(II)}$ | 91 | 31 |
| 3 | $\text{Fe@C}+^{99m}\text{Tc}+\text{АК}+\text{Sn(II)}$ | 96 | 42 |

Из результатов таблицы следует, что наибольший радиохимический выход 42 % меченного технецием-99м коллоида Fe@C (АДТ) с размером частиц менее 100 нм наблюдается для смеси №3, содержащей аскорбиновую кислоту без пирофосфата. При этом РХЧ продукта составляет 96 %. Однако предварительные испытания данного препарата на экспериментальных животных показали, что его накопление в лимфатических узлах не наблюдается, хотя образующийся коллоид и имеет размеры частиц в требуемом диапазоне от 50 до 100 нм. В этой связи, в состав исходной смеси, так же, как и в случае с $\text{ДТПА}_{\text{мод}}$, был введен желатин (2,5 мг/мл). Последующее исследование такого препарата с измененным составом показало, что в нем выход меченного технецием-99м коллоида Fe@C (АДТ) с размером частиц менее 100 нм составляет 97 %, а РХЧ продукта находится на уровне 94 % в течение 4-6 часов.

В целом предлагаемый состав и методика приготовления РФП позволяет получать меченный технецием-99м коллоидный препарат на основе частиц Fe@C(АДТ) , пригодный для проведения гамма-сцинтиграфических исследований, о чем свидетельствует лимфосцинтиграмма (рисунок 3.7), полученная после введения радиофармпрепарата экспериментальному животному (крысе линии Вестар). На сцинтиграммах, полученных через 60 и 120 минут после инъекции, от-

четливо видно сторожевой лимфоузел, а накопление препарата составило 1,72% от общей введенной активности, что является приемлемым для диагностики сторожевых лимфоузлов.

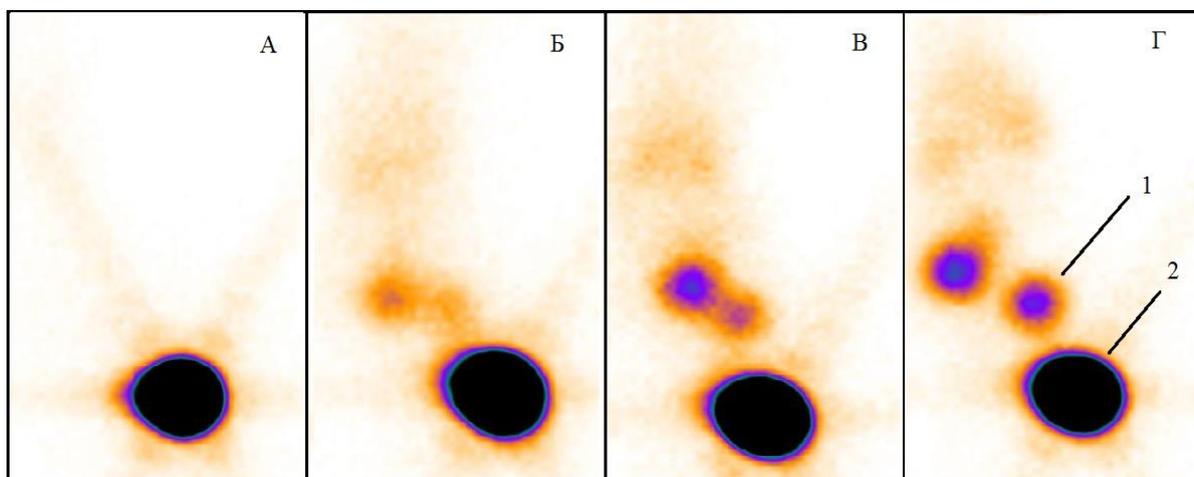


Рисунок 4 - Распределение в организме крысы суспензии $[\text{Fe}@C+^{99m}\text{Tc}+\text{AK}+\text{Sn}(\text{II})+\text{Ж}]$: сразу после инъекции РФП (А); через 30 минут после введения (Б); через 60 минут (В); через 120 минут (Г).

Цифрами обозначено: 1 – лимфоузел, 2 – место инъекции препарата

Третий тип синтезированного нанокolloида был получен путем проведения адсорбции технеция-99м на поверхности наноразмерном порошка гамма-оксида алюминия. Для повышения адсорбционных свойств оксида алюминия проводили активацию его поверхности путем кислотной обработки. Было установлено, что максимальная степень адсорбции ^{99m}Tc 30,4%, наблюдается при поглощении оксидом алюминия кислоты в количестве 0,2 ммоль/г (pH 2). (Рисунок 5).

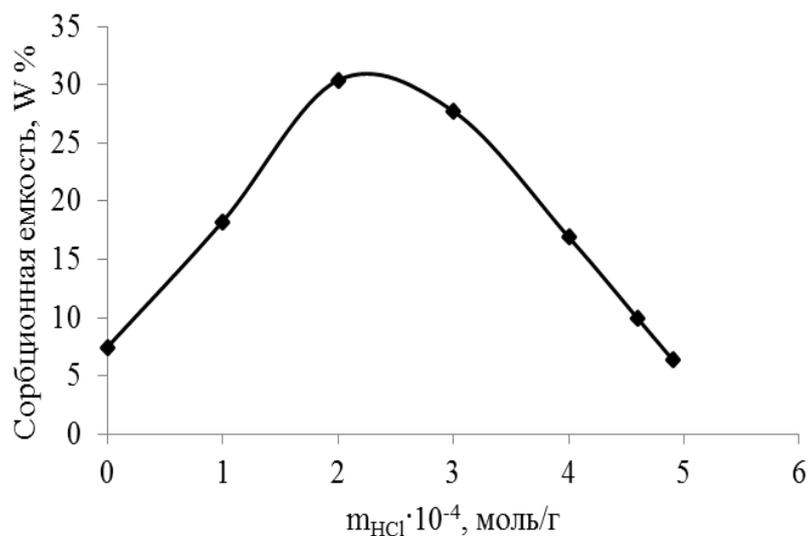


Рисунок 5 – Зависимость изменения степени адсорбции $^{99\text{m}}\text{Tc}$ на оксиде алюминия от массы поглощенной оксидом кислоты

Как показал эксперимент, на процесс мечения, так же как и при синтезе приведенных выше коллоидов, очередность введения реагентов оказывает большое влияние на процедуру мечения. При проведении экспериментов было выявлено, что при добавлении к суспензии оксида алюминия элюата с предварительно восстановленным $^{99\text{m}}\text{Tc(VII)}$ (введенная в РФП концентрация олова (II) составляла $C_{\text{Sn}}=0,02$ мг/мл) практически весь $^{99\text{m}}\text{Tc}$ успевает прореагировать с оловом и войти в соединение крупноразмерного комплекса еще до смешивания с оксидом алюминия.

Изменили схему мечения следующим образом. Эксперименты показали, что при восстановлении $^{99\text{m}}\text{Tc}$ оловом (II) в присутствии оксида Al_2O_3 наблюдается «конкурентное» перераспределение радионуклида между оксидом и комплексом олова, что, в конечном итоге, приводит к повышению выхода целевого коллоида $^{99\text{m}}\text{Tc} - \text{Al}_2\text{O}_3$. В целом, радиохимическая чистота исходной смеси после проведения синтеза составляет 90 %. В продукте, полученном после фильтрации через фильтр 220 нм, РХЧ уменьшается до 85 %. В фильтрате 100 нм РХЧ увеличивается до 92 %. При этом радиохимический выход суспензии, прошедшей через фильтры 220 нм и 100 нм составляет 82 % и 62 % соответственно. Следует обратить особое внимание на то, что количество меченого коллоида в фильтрате про-

шедшего через фильтр 50 нм составляет всего 5,9 %. Этот факт говорит о том, что при выбранной схеме синтеза в достаточном количестве образуется целевой коллоид $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ с размером частиц от 50 до 100 нм (таблица 2).

Таблица 2 - Результаты определения РХЧ и величин выхода фракций коллоидов с различными размерами

| Образец | Активность проб, имп | Активность $^{99m}\text{Tc}(\text{VII})$, имп | РХЧ, % | Выход, % |
|---|----------------------|--|--------|----------|
| $\text{Al}_2\text{O}_3+^{99m}\text{Tc}+\text{Sn}(\text{II})$ [2мл +2мл+15мкл] до фильтрации | 549 963 | 54996 | 90,0 | - |
| Фильтрат 220 | 484 907 | 72736 | 85,0 | 82,1 |
| Фильтрат 100 | 355 591 | 28447 | 92,0 | 62,1 |
| Фильтрат 50 | 62 917 | 33975 | 54,0 | 5,9 |

Кроме того, в диссертации были проведены исследования по изучению степени поглощения ^{99m}Tc оксидом алюминия в зависимости от массы оксида и соотношения объема раствора пертехнетата, ^{99m}Tc к массе оксида, сделана оценка изменения удельной активности адсорбированного ^{99m}Tc в зависимости от исходной активности препарата и общей активности радионуклида в растворе.

Стабильность синтезируемого препарата характеризуется устойчивой связью радиоактивной метки ^{99m}Tc с поверхностью гамма-оксида Al_2O_3 и является важным показателем качества. Такая устойчивая хемосорбция достигается, главным образом, за счет присутствия в реакционной смеси ионов $^{99m}\text{Tc}(\text{IV})$, обладающих комплексообразующими свойствами. Для их стабилизации на 1 мл реакционной смеси дополнительно вводили 0,25 мг аскорбиновой кислоты (100 мкл раствора с концентрацией 10 мг/мл). В результате этих экспериментальных исследований было установлено, что в присутствии аскорбиновой кислоты (АК) радиохимическая чистота фракции 100 нм повышается до 96 % (рисунок 6).

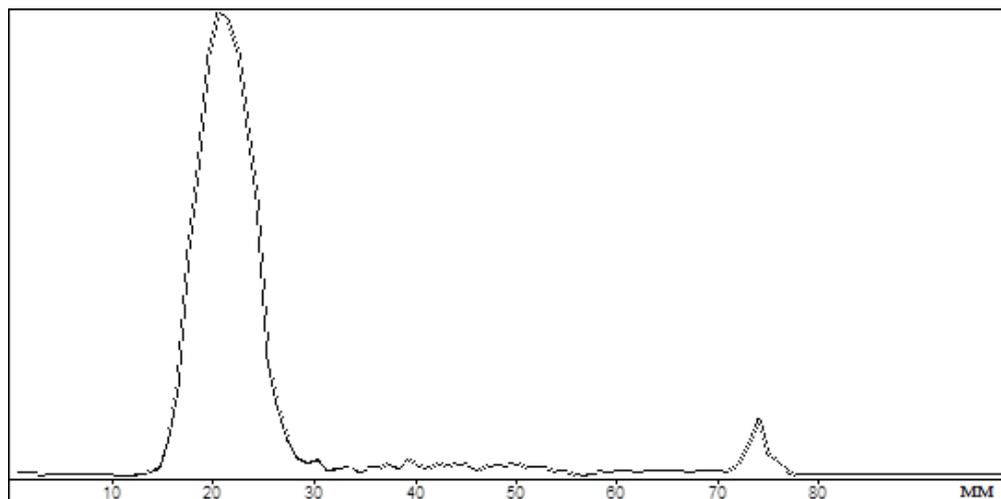


Рисунок 6 – Хроматограмма фильтрата (100 нм): [суспензия $\text{Al}_2\text{O}_3 + {}^{99\text{m}}\text{Tc} + \text{AK} + \text{Sn (II)}$]

Для примера, РХЧ аналогичных зарубежных коммерческих препаратов ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$, изготавливаемых на основе лиофилизатов обычно находится в пределах от 88,2 % (Пентатех, ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$) до 95 % (Технефит, ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$).

Предварительные медико-биологические испытания стабильности и функциональной пригодности препарата, содержащего аскорбиновую кислоту, были проведены на экспериментальных животных (крысах линии Вистар). Лимфосцинтиграммы представлены на рисунке 7.

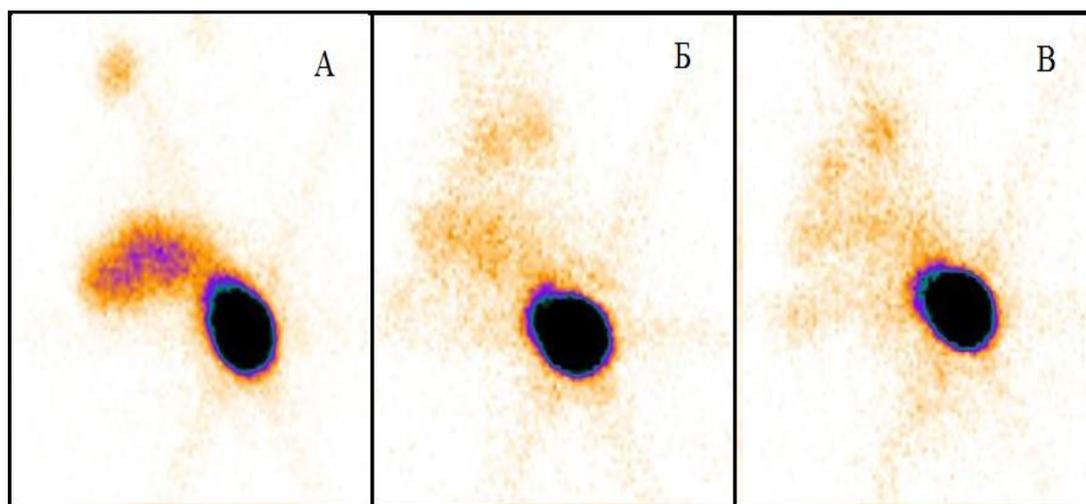


Рисунок 7 - Распределение в организме крысы суспензии: [$\text{Al}_2\text{O}_3 + {}^{99\text{m}}\text{Tc} + \text{AK} + 0,02 \text{ мг/мл Sn (II)}$]: сразу после инъекции РФП (А); через 30 минут после инъекции (Б); через 60 минут после инъекции (В)

Из представленных сцинтиграмм следует, что РФП находится в месте введения в течение 60 мин. При этом накопления ^{99m}Tc в крови животных не наблюдается. Это доказывает хорошую фиксацию ^{99m}Tc на поверхности коллоида. Однако, так же не наблюдается миграции препарата по лимфатической системе. В этой связи, так же как и в экспериментах с коллоидами на основе ДТПА_{мод} и частиц Fe@C(АДТ), для увеличения «подвижности» меченых частиц оксида Al_2O_3 и повышения скорость их перемещения по лимфасистеме в состав реакционной смеси был введен желатин.

Из результатов, представленных в таблице 3, видно, что количество частиц с размером ≤ 100 нм увеличивается до 76 % с присутствием в реакционной смеси желатина, по сравнению с другими условиями приготовления препарата.

Таблица 3 - Выход фракций нанокolloида и их РХЧ в присутствии желатина

| Состав | 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 (исходный) | 76,71 | 22 | 78 | |
| После нагревания | 76,71 | 7 | 93 | |
| Фильтрат 220 нм | 61,95 | 9 | 95 | 77 |
| Фильтрат 100 нм | 57,61 | 7 | | 76 |

Размеры частиц этой реакционной смеси были изучены на анализаторе частиц Nanophox. Провели трехкратное измерение препарата, по результатам которого была построена зависимость изменения плотности распределения частиц от их размера (рисунок 8). В результате этих измерений был подтвержден средний размер (диаметр) частиц, который составляет 84 нм.

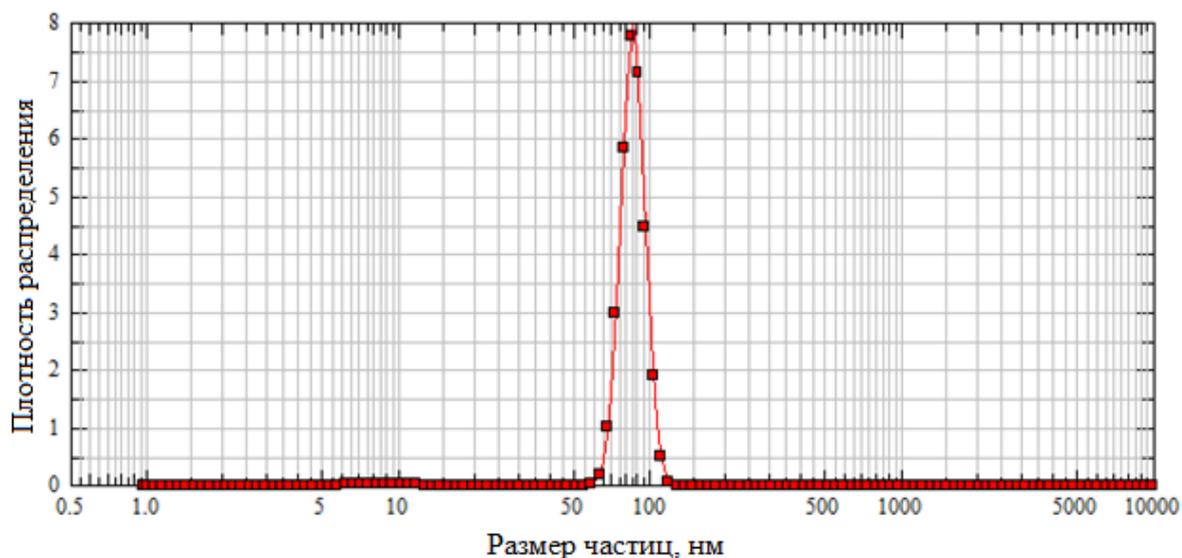


Рисунок 8 – График изменения плотности распределения частиц от их размера

Полученные результаты определения радиохимического выхода меченого коллоида с нужными размерами и радиохимической чистотой в присутствии желатина создают реальные перспективы для получения положительного результата в эксперименте на животных. Испытания на крысах были проведены описанным выше методом (рисунок 9). На сцинтиграммах, соответствующих временным интервалам с момента введения РФП 60 и 120 мин, хорошо видно сторожевой лимфатический узел 1. Аккумуляция РФП в лимфоузле составляет 8,6 % от введенной активности. Полученный результат существенно превосходит стандартные требования к подобным препаратам (0,5 - 1,7 %) и доказывает эффективность использования данного РФП.

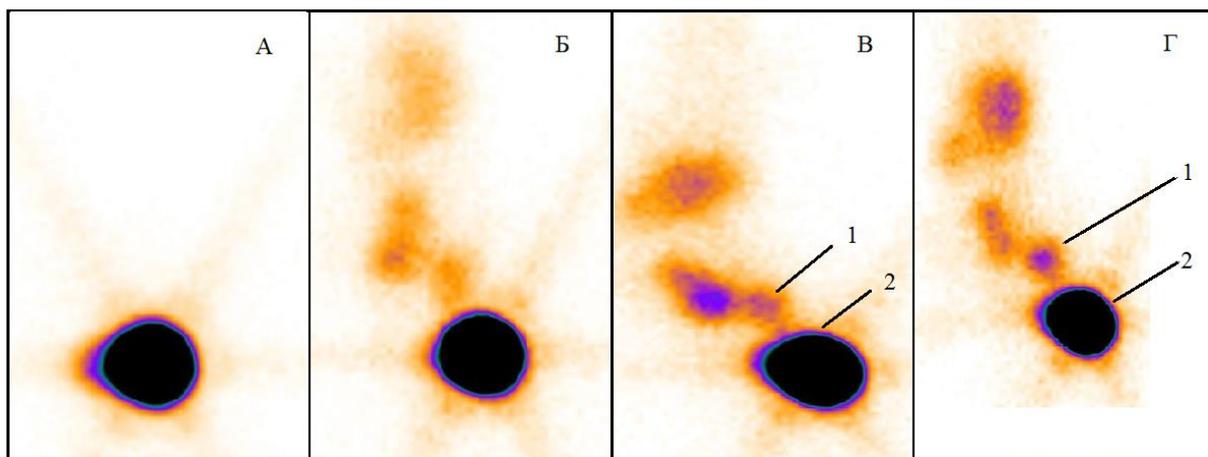


Рисунок 9 - Лимфосцинтиграмма крысы при введении суспензии $[Al_2O_3 + ^{99m}Tc + АК + Ж + 0,0175 \text{ мг/мл Sn (II)}]$ в организме крысы: после инъекции РФП (А); через 30 минут после инъекции (Б); через 60 минут после инъекции (В); через 120 минут после инъекции (Г). Цифрами обозначено: 1 – Лимфоузел, 2 – Место инъекции РФП

Все приведенные выше нанокolloидные препараты обеспечивают хороший уровень накопления в сторожевых лимфатических узлах. Вместе с тем, производство нанокolloидных суспензий на основе органических матриц ДТПА_{мод} и Fe@C(АДТ) представляет собой достаточно сложный технологический процесс, который трудно реализовать в условиях медицинских лабораторий. В этом смысле, более простым и удобным является нанокolloидный препарат, получаемый в результате одностадийного процесса адсорбции восстановленного ^{99m}Tc на порошках гамма-оксида алюминия. Исходя из этого, далее в диссертационной работе приводятся результаты исследований по созданию стандартного набора реагентов в виде лиофилизата для получения РФП «Нанокolloид, $^{99m}Tc-Al_2O_3$ » непосредственно в медицинских лабораториях, а также по стандартизации методик изготовления и проведения контроля качества этого лимфотропного радиофармпрепарата с последующим изучением его свойств.

Как известно, большинство диагностических препаратов на основе ^{99m}Tc получают непосредственно в клинических условиях путем смешивания раствора пертехнетата натрия, ^{99m}Tc из генератора с лиофилизированными реагентами. Лيوфилизаты содержат в своем составе восстановитель – олово (II) хлорид ди-

гидрат, который быстро теряет свои свойства в обычных условиях. При сублимационной сушке восстановитель сохраняет свои свойства на протяжении года (регламентированный срок годности лиофилизатов). В настоящей работе экспериментальные исследования проводились по следующей программе. В соответствии с разработанной методикой получения нанокolloидного препарата на основе гамма-оксида алюминия были приготовлены смеси реагентов в трех флаконах (№№ 1, 2 и 3). После флакон №1 поместили предварительно в морозильную камеру, выдержали там при $T = -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 2 суток и перевели в холодильную камеру лиофилизатора. Флакон № 2 без предварительного замораживания смеси также поместили в холодильную камеру лиофилизатора, а Флакон № 3 перед помещением в холодильную камеру заморозили в стакане с жидким азотом. Последующую лиофилизацию флаконов провели при одинаковых параметрах. После приготовленные лиофилизаты ввели по 2 мл элюата $^{99\text{m}}\text{Tc}$ с активностью 1,5 ГБк. Полученные обобщенные результаты экспериментов представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Результаты исследования лиофилизированных суспензий на основе нанопорошка гамма-оксида Al_2O_3

| Образец | Радиохимическая чистота, % | Выход фракций, % |
|-----------------|----------------------------|------------------|
| №1 | 91 | - |
| Фильтрат 220 нм | 96 | 10 |
| Фильтрат 100 нм | 99 | 87 |
| №2 | 93 | - |
| Фильтрат 220 нм | 97 | 11 |
| Фильтрат 100 нм | 99 | 90 |
| №3 | 98 | - |
| Фильтрат 220 нм | 98 | 10 |
| Фильтрат 100 нм | 98 | 79 |

Из представленной таблицы можно сделать общий вывод, что процесс лиофилизации приводит к повышению радиохимической чистоты исходных смесей и фильтратов. Лучший результат при минимальных временных затратах получается в условиях приготовления образца №2 без предварительного замораживания исходной смеси реагентов.

С учетом проведенных исследований была разработана хорошо воспроизводимая методика приготовления лиофилизированного реагента для получения меченного ^{99m}Tc нанокolloида на основе оксида алюминия в виде стандартного набора для генератора технеция-99м. Для последующего приготовления на его основе радиофармпрепарата «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » во флакон с лиофилизатом шприцем вводят 4,0 мл элюата натрия пертехнетата, ^{99m}Tc путем прокола иголкой резиновой пробки. Содержимое флакона перемешивают встряхиванием и инкубируют 30 минут при температуре 70 - 80°C. Охлаждают до комнатной температуры. Объем- 4 мл.

Готовый препарат имеет следующий состав (из расчета на 1 мл):

Активные вещества:

Технеций-99м, адсорбированный на оксиде алюминия
(элюат из генератора технеция-99м) 280-500 МБк

Вспомогательные вещества:

| | |
|--|--------------------|
| Алюминия оксид (ТУ 2164-003-03069303-2014) | 0,025 – 0,035 мг |
| Олова дихлорид дигидрат (ТУ 6-09-5393-88, чда) | не более 0,0175 мг |
| Аскорбиновая кислота (ФС 42-2668-95) | 0,20 – 0,25 мг |
| Желатин (ГОСТ 23058-89) | 2,0– 2,5 мг |
| Натрия хлорид (ФС 42-2572-95) | 9,0 мг |
| Вода для инъекций (ФС 42-2620-97) | до 1 мл |

Исследование функциональной пригодности (эффективности) лиофилизированного реагента для получения радиофармпрепарата «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » при оценке сцинтиграфического выявления «сторожевых» лимфатических узлов проводилось в 3 сериях экспериментов в сравнительном изучении с известным импортным аналогом РФП « $^{99m}\text{Tc}-\text{Nanocis}$ » (Франция).

Инъекцию РФП в дозе 18 – 20 МБк выполняли между первым и вторым пальцами передней лапы крысы. Перед подкожным введением и в ходе интраоперационного исследования животных наркотизировали с помощью эфира.

Изучение функциональной пригодности РФП для сцинтиграфического выявления СЛУ показало, что оба РФП активно поступают из места инъекции в

лимфатическую систему и накапливаются в паховом лимфоузле. Через 1 час после введения среднее накопление РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » в нем составила 8,6%, накопление РФП « $^{99m}\text{Tc}-\text{Nanocis}$ » оказалось значимо ниже - 1,8%. Ко второму часу исследования среднее накопления РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » в лимфоузле было более 10 % и через сутки достигло 12,8 %. Из полученных результатов следует, что на всех сроках средняя аккумуляция $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ в лимфатическом узле значимо выше накопления « $^{99m}\text{Tc}-\text{Nanocis}$ » (рисунок 10).

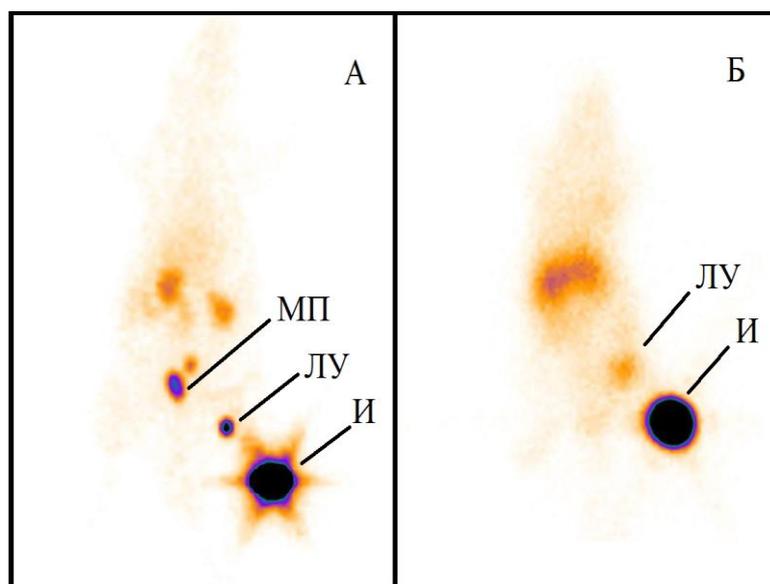


Рисунок 10 - Сцинтиграммы крыс, выполненные через 2 ч после инъекции РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » (А) и РФП « $^{99m}\text{Tc}-\text{Nanocis}$ » (Б). Здесь (И) – точка инъекции; (ЛУ) – лимфатический узел; (МП) – мочевого пузыря

Интраоперационное выявление «сторожевых» лимфатических узлов выполнялось через 1 час после введения индикатора. После препарирования подмышечной области и выделения лимфатических узлов, детектировались лимфатические узлы с повышенным сцинтилляционным счетом с помощью гамма-зонда «GammaFinder» (США). По результатам радиометрических исследований определяли сцинтилляционный счет в месте инъекции и «сторожевых» лимфатических узлах (до и после их извлечения из операционной раны), а также в подмышечной области после удаления «сторожевых» лимфатических узлов. Результаты исследований крыс показали, что во всех случаях удавалось интраоперационно визуализировать «сторожевой»

лимфатический узел. Сцинтилляционный счет в месте введения РФП через 1 час был на уровне 22779 тыс. имп. в секунду. Средний счет в лимфатическом узле до его извлечения из операционной раны составил 438,42, а после – 447,84. Уровень сцинтилляционного счета в подмышечной области после удаления лимфатического узла оставался на фоновом уровне – 65,87 имп (таблица 5).

Таблица 5 - Сцинтилляционный счет через 1 час после инъекции РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ »

| Место измерения | Среднее накопление (имп.) | Максимальное накопление (имп.) | Минимальное накопление (имп.) | Ошибка среднего (имп.) |
|--|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------|
| Место инъекции | 22779 | 23976 | 21894 | 600 |
| Сторожевой лимфатический узел в операционной ране | 438,42 | 536 | 273 | 84 |
| Извлеченный сторожевой лимфатический узел | 447,84 | 584 | 274 | 87 |
| Подмышечная область после удаления сторожевого лимфатического узла | 65,87 | 86 | 49 | 11 |

Таким образом, проведенное исследование продемонстрировало эффективность нового радиофармпрепарата «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » для интраоперационного выявления «сторожевых» лимфатических узлов. Следует отметить, что тенденции перераспределения в лимфатические узлы 2 и 3 порядков не наблюдалось.

Довольно часто место инъекции радиофармпрепаратов находится очень близко от сторожевого лимфатического узла и это осложняет его поиск. В данной работе было доказано более высокое накопление РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-$

Al₂O₃» в лимфатическом узле по сравнению с зарубежным аналогом. Этот факт позволит упростить интраоперационный поиск СЛУ при использовании нового отечественного РФП.

Четвертая глава диссертации посвящена разработке методов стандартизации и нормативной документации на производство препарата «Нанокolloид, ^{99m}Tc-Al₂O₃». Проведено испытание методик качественного и количественного определения компонентов в составе лиофилизата: оксида алюминия, аскорбиновой кислоты и дихлорида олова с учетом их возможного взаимного влияния на результаты анализа. Кроме того, для качественного и количественного определения оксида алюминия, олова, и аскорбиновой кислоты использованы известные методики, в которые внесены изменения с учетом концентраций данных компонентов в составе препарата и возможного взаимного влияния этих компонентов в процессе их определения. Для стандартизации состава нового РФП была разработана методика количественного определения желатина.

Качественное и количественное определение оксида алюминия в составе лиофилизированного реагента проводили методом эмиссионного спектрального анализа с использованием спектрографа «ИСП-30» и многоканального анализатора атомно-эмиссионных спектров «МАЭС». Обработку спектров и вычисление концентраций анализируемых элементов осуществляли с помощью программного пакета «Атом». При выполнении анализа данного препарата должны обнаруживаться характерные линии с длинами волн 308,22 нм и 309,27 нм.

Количественное определение проводится путем сравнения интенсивностей характерных линий алюминия в спектрах проб препарата и эталонных образцов с известными концентрациями элемента.

Содержание алюминия оксида во флаконе (*C*) в миллиграммах вычисляют по формуле:

$$C = C_{Al} \cdot 4 \cdot 3,78, \quad (1)$$

где C_{Al} – концентрация Al в исследуемом растворе (установлена с помощью калибровочного графика), мг/мл; 4,0 – объём раствора реагента во флаконе в миллилитрах; 3,78 – коэффициент пересчёта Al в алюминия оксид.

Содержание алюминия оксида во флаконе должно быть от 0,1 до 0,25 мг. Этот показатель был подтвержден при испытании подготовленных серий реагента, приготовленных для получения РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ », которые показали, что содержание алюминия оксида во флаконах находится в пределах от 0,127 до 0,197 мг на флакон, что соответствует нормативным требованиям.

Для проведения качественного определения ионов Sn (II) в лиофилизате для приготовления РФП была использована методика, основанная на реакции взаимодействия Sn (II) с перренатом калия в кислой среде в присутствии роданида калия. Определение олова проводили спектрофотометрическим методом (максимальное поглощение при длине волны 353 ± 2 нм, диапазон от 340 до 370 нм). Измерения осуществляли на спектрофотометре «UNICO» (спектральный диапазон 190 -1100 нм).

Количественное определение Sn (II) проводили методом инверсионной вольтамперометрии (ИВА). При выполнении измерений применяют комплекс аналитический вольтамперометрический СТА в комплекте с IBM-совместимым компьютером, индикаторный электрод - ртутно-пленочный на серебряной подложке с толщиной пленки ртути 10 - 20 мкм и рабочей поверхностью $0,03 - 0,2$ см², сопротивлением не более 0,5 кОм и электрод сравнения - хлорсеребряный с сопротивлением не более 3,0 кОм. Согласно используемой методике, химические помехи, влияющие на результаты определения элементов, устраняются в процессе пробоподготовки. Массовые концентрации элементов в пробе определяют по методу добавок аттестованных смесей (АС) элементов (вносят добавку АС олова по 0,01 мл с концентрацией 10,0 мг/л в каждую ячейку). Одновременно проводят анализ двух параллельных и одной резервной («холостой») пробы в трех стаканчиках.

Содержание олова двухвалентного во флаконе (G) в миллиграммах вычисляют по формуле:

$$G = \frac{C}{1000} \cdot 4, \quad (2)$$

где C – концентрация олова (II) в исследуемом растворе, установленная с помощью метода ИВА, миллиграмм/литр; 4,0 – объём раствора лиофилизата в миллилитрах.

Содержание олова во флаконе должно быть не более 0,07 мг.

Исследования подготовленных серий реагента для получения РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » показали, что содержание олова во флаконах не превысило 0,07 мг на флакон, что соответствует требованиям нормативной документации.

Для качественного определения аскорбиновой кислоты в реагенте для получения РФП использовали методику, описанную в Европейской фармакопее. определение проводят методом спектрофотометрии (область 230 - 280 нм, максимальном поглощении на длине волны 255 ± 2 нм). Измерения осуществляли на спектрофотометре «UNICO» (спектральный диапазон 190 - 1100 нм).

Для количественного определения содержания аскорбиновой кислоты использовали метод инверсионной вольтамперометрии (ИВА).

Сущность методики состоит в переводе проб лиофилизата в раствор путем растворения в воде или растворе соляной кислоты с последующим вольтамперометрическим определением массовой концентрации аскорбиновой кислоты. Метод ИВА основан на способности аскорбиновой кислоты окисляться при определенном потенциале окисляться на индикаторном стеклоуглеродном электроде.

Регистрация аналитического сигнала на вольтамперограмме проводится при накопительной развертке потенциала с использованием комплекса СТА в дифференциальном режиме записи вольтамперограмм. Массовая концентрация аскорбиновой кислоты в пробе определяется методом добавок аттестованных смесей витамина С.

Процесс электрохимического окисления аскорбиновой кислоты проводят в растворе хлорида калия концентрации 0,1 моль/л, подкисленном соляной кислотой до $\text{pH}=3-4$, на индикаторном стеклоуглеродном электроде при потенциале 0,45-0,60 В относительно насыщенного хлоридсеребряного электрода (нас.х.с.). Одновременно проводят анализ двух параллельных и одной резервной («холостой») пробы в трех стаканах.

Содержание аскорбиновой кислоты во флаконе (G) в миллиграммах вычисляют по формуле:

$$G = \frac{C}{1000} \cdot 4, \quad (3)$$

где C – концентрация аскорбиновой кислоты в исследуемом растворе, установленная методом ИВА, миллиграмм/литр; 4,0 – объём раствора лиофилизата в миллилитрах.

Содержание аскорбиновой кислоты во флаконе должно быть около 1,0 мг

Исследования подготовленных серий реагента для получения РФП показали, что содержание аскорбиновой кислоты во флаконах находится в пределах от 0,812 до 0,816 мг, что соответствует нормативным требованиям.

Разработка методики качественного и количественного определения желатина.

За основу методики был выбран методика с использованием биуретового реактива. При использовании данной методики происходит образование окрашенного комплекса меди с молекулами белка, реакция идет в щелочной среде. Для его определения в работе был применен фотометрический метод. Измерения осуществляли на спектрофотометре «UNICO» (спектральный диапазон 190 - 1100 нм).

Подготовка анализируемых проб

Во флакон с лиофилизатом добавляют 4 мл теплой дистиллированной воды, растворяют. Объем содержимого доводят до 25 мл и перемешивают.

Далее, в пробирку № 1 вносят 1 мл полученной смеси и 4 мл биуретового реактива. Объем доводят до 10 мл дистиллированной водой и перемешивают.

В пробирку № 2 вносят 1 мл исследуемого раствора и 0,04 мл стандартного раствора желатина. Затем в пробирку вносят 4 мл биуретового реактива, доводят общий объем раствора дистиллированной водой до 10 мл.

Обе пробирки инкубируют 30 мин при комнатной температуре. Измерение проводят на спектрофотометре при длине волны 540 нм относительно дистиллированной воды.

Определение концентрации (C_x) желатина в исследуемом растворе и его содержание во флаконе (Q_x) вычисляют по следующим формулам:

$$C_x = C_{эт} * D_x / (D_{x+эт} - D_x) \text{ и} \quad (4)$$

$$Q_x = C_x * V_x * V_{общ} / V_{ал} , \quad (5)$$

где $C_{эт}$ – концентрация желатина в стандартном растворе; D_x – оптическая плотность пробы; $D_{x+эт}$ – оптическая плотность пробы с добавкой стандартного раствора желатина; V_x – объем добавки; $V_{ал}$ – объем аликвоты; $V_{общ}$ – объем рабочего раствора реагента.

Содержание желатина во флаконе должно быть от 8 до 10 мг.

Исследования серий реагента, подготовленных для получения РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » показали, что содержание желатина во флаконах находится в пределах от 9,38 до 10 мг на флакон, что соответствует требованию нормативной документации.

При определении срока годности РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » исходили из величины объёмной активности технеция-99м на время приготовления РФП, а также из того, что на конец срока годности общая величина активности препарата в объёме, вводимом пациенту, должна обеспечивать достоверный результат сцинтиграфических исследований. Вторым показателем, определяющим годность РФП, является присутствие в нем радиохимической примеси (РХП), которая на конец срока годности не должна превышать 5 %.

По указанным критическим показателям «объёмная активность» и «радиохимическая примесь» анализ проводили каждый час после изготовления препарата до момента несоответствия одного из показателей нормативным требованиям. В результате проведенных исследований был установлен срок годности РФП, который составил 5 ч от момента его приготовления, что связано, главным образом, с отклонением от нормы показателя РХП, величина которого через 6 часов после изготовления возросла до 5,4-5,7 %. Отклонение этого показателя от нормы может быть связано с превышением срока и нарушением условий хранения реагента – лиофилизата.

Определение срока хранения реагента проводилось с применением химических и физико-химических методов анализа, приведенных в общих фармакопейных статьях (ОФС) для изучения стабильности лекарственного средства, а также рекомендованных для этих целей других специальных методов исследований.

Для проведения долгосрочных и ускоренных испытаний стабильности реагента были отобраны образцы из 10 серий произведенного лиофилизированного реагента в количестве по 10 штук для проведения «ускоренного старения» и для долгосрочного хранения. Проверка проводилась по установленному критическому показателю – количеству РХП в препарате, содержание которой не должно превышать 5%.

На основании полученных результатов был сделан вывод об отсутствии факторов, ведущих к дестабилизации реагента при его хранении в течение 12 месяцев. Соответственно, не выявлено ухудшение качества РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » при приготовлении препарата из реагента с большим сроком хранения. Исходя из экспериментальных данных по изучению стабильности лекарственного средства, определен срок годности реагента, вид упаковки, требуемые условия хранения и транспортирования. Эти данные будут внесены в проект нормативной документации.

В результате проведенных в диссертационной работе исследований обоснован состав радиофармацевтического препарата для диагностики сторожевых лимфатических узлов и осуществлена его стандартизация. Подготовлены проекты фармакопейной статьи предприятия и опытно-промышленного регламента на производство лиофилизата для приготовления диагностического препарата для подкожного, паратуморального и интратуморального введения «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » (ОПР-14402245-02-14).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам исследований, проведенным при выполнении диссертационной работы, можно сделать следующие общие выводы:

1. Исследован круг исходных субстанций для получения наноразмерных коллоидов с регулируемыми свойствами на основе органических и неорганических матриц.

2. Разработаны методы получения трех нанокolloидных препаратов. Первый тип создан на основе металлохелатов с химически модифицированными комплексонами диэтилентриаминпентауксусной кислоты (ДТПА). Радиохимический выход нанокolloида с размером частиц 50 – 100 нм в готовом РФП составляет порядка 80% при радиохимической чистоте продукта 92-95 %. Накопление препарата в лимфоузле находится на уровне 1,5 %, что позволяет использовать препарат для проведения гамма-сцинтиграфических исследований. Второй тип разработан на основе наночастиц железа Fe@C, покрытых углеродной оболочкой, с присоединенной к ней через ковалентные связи фрагментами бензилдиметиленаминоуксусной кислоты. Выход меченого технецием-99м коллоида Fe@C (АДТ) с размером частиц менее 100 нм составляет 97 %, РХЧ продукта составляет 94 %. Уровень накопления препарата в лимфоузле 1,7 %. Третий тип нанокolloида создан впервые в мировой практике. Для его получения используется более простая методика, основанная на проведении адсорбции технеция-99м на порошке гамма-оксида алюминия с размером частиц в пределах 50-100 нм, обеспечивающая радиохимический выход целевого продукта более 90 %.

3. Разработана методика приготовления стандартного набора к генератору технеция-99м в виде лиофилизата для получения РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ ». Определен срок годности лиофилизированного реагента, который составил 1 год.

4. Разработаны методики качественного и количественного анализа РФП. Установлены показатели качества, на основе которых составлена спецификация на реагент и радиофармпрепарат. Подготовлен проект фармакопейной статьи предприятия (ФСП).

5. На экспериментальных животных доказана эффективность РФП «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » для проведения диагностических исследований СЛУ. Показано, что РФП активно поступает из места инъекции в лимфатическую систему и накапливается в первом лимфатическом узле. Аккумуляция препарата в лимфоузле через 1–24 ч после подкожного введения РФП составляет 8,4–12,6% от введенной дозы. Все сказанное создает перспективы использования разработанного нанокolloидного препарата для проведения диагностики лимфатических узлов.

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в использовании данной технологии с целью создания новых диагностических РФП. Предложенные методологические подходы к разработке методик стандартизации радиофармпрепарата, могут быть реализованы с целью совершенствования методик качественного и количественного определения компонентов других РФП с использованием современных физико-химических и спектральных методов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах и изданиях, определенных ВАК:

1. Скуридин В.С. Получение и экспериментальные испытания меченных технецием-99м нанокolloидных препаратов на основе гамма-оксида алюминия и магнитоуправляемых частиц $\text{Fe}@C(\text{IDA})$ / Скуридин В.С., Стасюк Е.С., **Варламова Н.В.**, Постников П.С., Нестеров Е.А., Садкин В.Л. // Известия ВУЗов. Физика. – 2011. – Т. 54. – № 11/2. – С.332-339. (0,5 п.л./0,08 п.л.)

2. Скуридин В.С. Применение меченных радионуклидами нанокolloидных материалов в медицине / Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Рогов А.С., **Варламова Н.В.**, Нестеров Е.А., Садкин В.Л. // Известия ВУЗов. Физика, – 2012. – Т. 55. – № 11/2. – С. 280-287. (0,5 п.л./0,08 п.л.)

3. Скуридин В.С., Изучение закономерностей адсорбции $^{99m}\text{Tc}(\text{VII})$ на активированном оксиде алюминия / Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Рогов А.С.,

Варламова Н.В., Нестеров Е.А., Садкин В.Л. // Известия ВУЗов. Физика, –2012. – Т. 55. – № 11/2. – С. 287-292. (0,35 п.л./0,06 п.л.)

4. Скуридин В.С. Получение нового нанокolloидного радиофармпрепарата на основе оксида алюминия / Скуридин В.С., Стасюк Е.С., **Варламова Н. В.**, Рогов А.С., Садкин В.Л., Нестеров Е.А. // Известия Томского Политехнического Университета – 2013. – Т. 323. – №. 3. – С. 33-37 (0,3 п.л./0,05 п.л.)

5. Скуридин В.С. Получение меченных технецием-99м нанодисперсных производных комплексонов ДТПА / Скуридин В.С, Стасюк Е.С., **Варламова Н.В.**, Нестеров Е.А., Белянин М.Л., Садкин В.Л., Рогов А.С. // Фундаментальные исследования. – 2013 г. – №10(7). – С. 1427-1430. (0,25 п.л./0,035 п.л.)

6. Скуридин В.С. Изучение процесса взаимодействия технеция-99м с нанодисперсными производными комплексонов ДТПА / Скуридин В.С., Стасюк Е.С., **Варламова Н.В.**, Нестеров Е.А., Белянин М.Л., Садкин В.Л., Рогов А.С. // Известия ВУЗов. Физика. – 2013. – Т. 56. – № 11/3 – с. 217-221. (0,3 п.л./0,05 п.л.)

7. Скуридин В.С. Создание автоматизированного модуля для экстракционно-хроматографического разделения генераторной пары $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ / Стасюк Е.С., Рогов А.С., Нестеров Е.А., Садкин В.Л., **Варламова Н.В.**, Ларионова Л.А. // Радиохимия. – 2014. – Т. 56. – № 2. – С. 161-164. (0,25 п.л./0,04 п.л.)

8. Skuridin V.S. Development of an automated unit for extraction-chromatographic separation of the $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ generator couple / Skuridin V.S., Stasyuk E.S., Rogov A.S., Nesterov E.A., Sadkin V.L., **Varlamova N.V.**, Larionova L.A. // Radiochemistry. – 2014. – Vol. 56. – № 2. – pp. 189-193. (0,3 п.л./0,04 п.л.) (Scopus)

9. Skuridin V.S. Preparation Technique of Technetium-99m-Labeled Nanoparticles of Fe@C with Modified Surface / Skuridin V.S., Stasyuk E.S., Rogov A.S., **Varlamova N.V.**, Nesterov E.A., Sadkin V.L., Postnikov P.S. // J. Advanced Materials Research. – 2014. – Vol. 1084. – pp. 582-587. (0,35 п.л./0,05 п.л.) (Scopus)

10. V. Chernov. Possibility to Use the Radiopharmaceutical Based on the Gamma-Aluminum Oxide Labeled with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ to Identify Sentinel Lymph Nodes in the Experiment / V. Chernov, A. Titskaya, I. Sinilkin, R. Zelchan, **N. Varlamova** // J.

Advanced Materials Research. – 2014. – Vol. 1084. – pp. 443-447. (0,3 п.л./0,06 п.л.) (Scopus)

11. Skuridin V.S. Application of nanocolloid Materials Labeled by Radionuclides in Medicine / Stasyuk E.S., Rogov A.S., Sadkin, V.L., **Varlamova N.V.**, Nesterov E.A. // J. Advanced Materials Research 2014. – Vol. 1084. – pp. 352-357. (0,35 п.л./0,07 п.л.) (Scopus)

12. В.С. Скуридин. Медико-биологические испытания нанокolloидного радиофармпрепарата на основе меченой технецием-99м модифицированной молекулы ДТПА / В.С. Скуридин, А.С. Рогов, Е.С. Стасюк, **Н.В. Варламова**, В.Л. Садкин, Е.А. Ильина, Л.А. Ларионова // Известия вузов. Физика. – 2015 – Т.58 – №. 2/2. – С. 143-147. (0,3 п.л./0,05 п.л.)

13. Скуридин В. С. Синтез нанокolloидов на основе оксида алюминия / Скуридин В. С., Садкин В. Л., Стасюк Е. С., **Варламова Н. В.**, Рогов А. С., Нестеров Е. А., Ильина Е. А., Слепченко Г. Б. // Известия вузов. Физика. – 2015 – Т. 58 – №. 2/2. – С. 129-134. (0,35 п.л./0,04 п.л.)

14. Скуридин В. С. Автоматизированный модуль получения радиоизотопа технеция-99м (^{99m}Tc) / Скуридин В. С., Солдатов Ю. И., Рогов А. С., Зукау В.В., Стасюк Е.С., Нестеров Е.А., **Варламова Н.В.**, Садкин В.Л., Ильина Е.А., Ларионова Л.А. // Известия вузов. Физика. – 2015 – Т. 58 – №. 2/2. – С. 135-138. (0,25 п.л./0,025 п.л.)

15. Varlamova N.V. Studying acute toxicity of new radiopharmaceutical $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ nanocolloids for oncological diagnostics / **Varlamova N.V.**, Skuridin V.S., Nesterov E.A., Chernov V.I., Titskaya A.A. // Eksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya. 2015. – Vol. 78. – № 6. P. 26-29. (0,25 п.л./0,05 п.л.) (Scopus)

16. N. V. Varlamova. Study of the allergizing properties of nanocolloid, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ radiopharmaceutical in experiment» / **N.V. Varlamova**, V.S. Skuridin, L.A. Larionova, E.S. Stasyk, V.I. Chernov, **I.G. Sinilkin**, E.Yu. Sherstoboev, E.S. Trofimova, A.A. Ligacheva // Sovremennye Tehnologii v Medicine. – 2015. – Т. 7. – № 4. – С. 72 -77. (0,35 п.л./0,03 п.л.) (Scopus и Web of Science)

17. Skuridin V. Modified DTPA molecule-based nanocolloid radiopharmaceuticals / Skuridin V., Stasyuk E., **Varlamova N.**, Nesterov E., Rogov A., Sadkin V., Ilina E. // Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. – 2015. – Vol. 303(3). – P. 582-587. (0,35 п.л./0,05 п.л.) (Web of Science)
18. Chernov V. Nanocolloid Radiopharmaceutical on the Based of Modified DTPA Labeled Technetium-99M / Chernov V., Rogov A., Skuridin V., Stasyuk E., Nesterov E., **Varlamova N.**, Zelchan R., Sadkin V., Ilina E., Larionova L. / European journal of nuclear medicine and molecular imaging. - 2015. – Vol. 42. - Supplement 1. – P. S496. (0,2 п.л./0,02 п.л.) (Web of Science)
19. Sazonova S. The experimental study of nano-colloidal radiopharmaceuticals based on modified molecules of DTPA labeled with technetium / Sazonova S., Skuridin V., Stasyuk E., **Varlamova N.**, Nesterov Y., Rogov A., Sadkin V., Lishmanov Y., Ilushenkova J. / European journal of nuclear medicine and molecular imaging. – 2015. - Vol. 42. - Supplement 1. – P. S458-S459. (0,2 п.л./0,022 п.л.) (Web of Science)
20. Nesterov E. Complex ^{99m}Tc -PDA-DTPA for myocardial imaging / Nesterov E., Sazonova S., Skuridin V., Minin S., Stasyuk E., **Varlamova N.**, Ilina E., A. Nesterov A., Otmakhov V. / European journal of nuclear medicine and molecular imaging. -2015. - Vol. 42. - Supplement. – P. S447 (0,2 п.л./0,022 п.л.) (Web of Science)
21. Skuridin V.S. Radiopharmaceutical drug based on aluminum oxide / Skuridin V.S., Sadkin V.L., Stasyuk E.S., **Varlamova N.V.**, Rogov A.S., Nesterov E.A., Ilina E.A., Larionova L.A. / Indian Journal of Science and Technology. - 2016. - V. 8. - № 36. – 90580. (0,2 п.л./0,025 п.л.) (Scopus)
22. Varlamova N.V. Studying the General Toxicity and Cumulative Properties of a Radiopharmaceutical «Nanocolloid, ^{99m}Tc - Al_2O_3 » / **Varlamova N.V.**, Churin A.A., Fomina T.I., Ermolaeva L.A., Vetoshkina T.V., Dubskaya T.Y., Lamzina T.Y., Fedorova E.P., Neupokoeva O.V., Skuridin V.S., Nesterov E.A., Larionova L.A., Chernov V.I. / Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2016. – Vol. 161 – № 3. – P. 348-351. (0,25 п.л./0,02 п.л.) (Scopus)

23. Doroshenko A. The first experience of using of $^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$ for detection of sentinel lymph nodes in breast cancer / Doroshenko A., Chernov V., Medvedeva A., Zeltchan R., Slonimskaya E., **Varlamova N.**, Skuridin V., Dergilev A., Sinilkin I.G. / IOP Conference Series: Materials Science and Engineering.- 2016. - V. 135. - № 1. – 1063 (0,2 п.л./0,04 п.л.) (Scopus и Web of Science)
24. Chernov V.I. Experimental study of ^{99m}Tc -aluminum oxide use for sentinel lymph nodes detection / Chernov V.I., Sinilkin I.G., Zelchan R.V., Medvedeva A.A., Lyapunov A.Y., Bragina O.D., **Varlamova N.V.**, Skuridin V.S. / AIP Conference Proceedings: Physics of Cancer: Interdisciplinary Problems and Clinical Applications. - 2016. - Vol. 1760. – 020012. (0,2 п.л./0,025 п.л.) (Scopus и Web of Science)
25. Sinilkin I. The use of $^{99m}\text{Tc-Al}_2\text{O}_3$ for detection of sentinel lymph nodes in breast cancer / Sinilkin I., Chernov V., Medvedeva A., Zeltchan R., Slonimskaya E., Doroshenko A., **Varlamova N.**, Skuridin V. / AIP Conference Proceedings: Physics of Cancer: Interdisciplinary Problems and Clinical Applications. - 2016.- Vol. 1760. – 020061. (0,2 п.л./0,025 п.л.) (Scopus и Web of Science)
26. Medvedeva A.A. The Study of ^{99m}Tc -Aluminum Oxide Using for Sentinel Lymph Nodes Detection in Experiment / Medvedeva A.A., Sinilkin I.G., Zelchan R.V., Chernov V.I., Lyapunov A.Yu., Bragina O.D., **Varlamova N.V.**, Skuridin V.S., Dergilev A.P. / IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. - 2016. - V. 135. - № 1. – 012027. (0,2 п.л./0,022 п.л.) (Scopus и Web of Science)
27. Varlamova N. The development of a new nanoscale kit on alumina nanopowder-based for generator of technetium-99m and the study on its functional suitability for diagnosis in oncology / Varlamova N., Skuridin V., Stasuk E., Nesterov E., Larionova L., Zelchan R., Ilina E. / Book Chapter. Kodolov, V. (Ed.), Korepanov, M. (Ed.). (2016). Applied Mathematical Models and Experimental Approaches in Chemical Science. New York: Apple Academic Press. – 2016. – P. 95-100 (0,35 п.л./0,05 п.л.) (Scopus)

Патенты:

28. Способ получения меченного технецием - 99m нанокolloида / Скуридин В.С., Стасюк Е.С., **Варламова Н.В.**, Нестеров Е.А., Рогов А.С., Садкин В.Л. // Патент RU 2463075. Опубликовано 10.10.12г., Бюл. № 28

29. Способ получения реагента для приготовления меченного технецием- 99m нанокolloида на основе гамма-оксида алюминия / Чойнзонов Е.Л., Чернов В.И., Зельчан Р.В., Тицкая А.А., Синилкин И.Г., **Варламова Н.В.**, Стасюк Е.С. // Патент RU № 2512595. Опубликовано 10.04.2014г., Бюл. № 10.

30. Способ получения реагента для приготовления меченного технецием- 99m нанокolloида на основе гамма-оксида алюминия / Чойнзонов Е.Л., Чернов В.И., Зельчан Р.В., Тицкая А.А., Синилкин И.Г., Варламова Н.В., Стасюк Е.С. // Патент RU № 022560. Дата выдачи 29.01.2016 (Евразийский патент)

31. Способ получения меченного технецием- 99m нанокolloида / Скуридин В.С., Стасюк Е.С., **Варламова Н.В.**, Садкин В.Л., Нестеров Е.А., Рогов А.С., Постников П.С. // Патент RU 2543654. Опубликовано 10.03.15г., Бюл. № 7.

Другие публикации:

32. Скуридин В.С. Медико-биологические испытания хроматографического генератора технеция ^{99m}Tc -ГТ-ТОМ на основе ^{99}Mo , изготовленного по реакции (n, γ) / Скуридин В.С., Чернов В.И., Чибисов Е.В., Нестеров Е.А., **Варламова Н.В.**, Лишманов Ю.Б. // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2006. – Т. 51. – № 6. – С. 61-64. (0,25 п.л. / 0,04 п.л.)

33. Нестеров Е.А. Особенности экологически безопасного производства генераторов технеция- 99m / Нестеров Е.А., Скуридин В.С., Чибисов Е.В., **Варламова Н.В.**, Стасюк Е.С. // Альманах клинической медицины. 2008. – № 17(1). – С. 358-361. (0,25 п.л. / 0,05 п.л.)

34. Н.В. Варламова. Разработка и изучение возможности использования нанокolloидного радиофармпрепарата на основе оксида алюминия для диагностики в онкологии / **Н.В. Варламова**, В.С. Скуридин, М.В. Белоусов, Е.С. Стасюк. Е.А. Нестеров / Медицинская физика. – 2018. – №. 2 (78). – С. 62-65. (0,2 п.л./0,04 п.л.)

35. В. С. Скуридин. Исследование функциональной пригодности радиофармпрепарата «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » для сцинтиграфического и интраоперационного выявления «сторожевых» лимфатических узлов / В.С. Скуридин, В.И. Чернов, **Н.В. Варламова**, Е.А. Нестеров, И.Г. Синилкин, Р.В. Зельчан // Диагностическая и интервенционная радиология. – 2015. – Т. 9. – № 3. – С. 76-80. (0,3 п.л./0,05 п.л.)

36. Н.В. Варламова. Исследование кумулятивных свойств радиофармпрепарата «Нанокolloид, $^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$ » на крысах / **Н.В. Варламова**, В.С. Скуридин, Е.А. Нестеров, Л.А. Ларионова, В.И. Чернов // Вестник НГУ Серия: Биология, клиническая медицина. – 2015. – Т. 13 (2). – С. 40-45. (0,35 п.л./0,07 п.л.)

Тезисы докладов на Всероссийских и международных конференциях:

37. Скуридин В.С. Коллоидно-химический синтез нанопрепарата на основе модифицированной молекулы ДТПА и перспективы его использования для диагностики сторожевых лимфоузлов в онкологии / Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Нестеров Е.А., **Варламова Н.В.**, Садкин В.Л., Рогов А.С., Белянин М.Л. // 8-я международная конференция «Ядерная и радиационная физика». – Алматы, 2011. – С. 318. (0,2 п.л./0,05 п.л.)

38. Скуридин В.С., Метод получения новых нанокolloидов с заданным размером на основе наночастиц железа, покрытых углеродом / Скуридин В.С., Постников П.С., Стасюк Е.С., Нестеров Е.А., **Варламова Н.В.**, Садкин В.Л., Рогов А.С. // 8-я международная конференция «Ядерная и радиационная физика». – Алматы, 2011. – С. 319. (0,2 п.л./0,02 п.л.)

39. Скуридин В.С. Доклинические испытания нового нанокolloидного радиофармпрепарата и его влияние на функциональную морфологию / Скуридин В.С., Нестеров А.А., **Варламова Н.В.**, Чикова И.В., Нестерова Ю.В., Казаков В.А., Синилкин И.Г. // 9-я международная конференция «Ядерная и радиационная физика». – Алматы, 2013. – 24-27 сентября. – С. 262. (0,2 п.л./0,03 п.л.)

40. Stasyuk E. Preparation of nanocolloids based on modified DTPA molecule labeled with technetium-99m / Stasyuk E., Skuridin V., Nesterov E., Sadkin V.L., Rogov A.S., Larionava L.A., **Varlamova N.V.**, Belyanin M.L.// Book of Abstracts. The seventh Eurasian conference nuclear science and its application. – Baku, Azerbaijan, 2014. – pp. 283-284. (0,2 п.л./0,02 п.л.)

41. В. Скуридин. Разработка нового наноразмерного реагента к генератору технеция-99м на основе нанопорошка оксида алюминия и изучение его функциональной пригодности для диагностики в онкологии / **Н. Варламова**, Е. Стасюк, Е. Нестеров, Л. Ларионова, Р. Зельчан, Е. Ильина // От наноструктур, наноматериалов и нанотехнологий к nanoиндустрии. Тезисы докладов Пятой Международной конференции. Под общей редакцией профессора В. И. Кодолова. – Ижевск, 2015. – С. 143-145 (0,2 п.л./0,03 п.л.)

42. Varlamova N.V. Development and research of radiopharmaceuticals for diagnosis in oncology / **Varlamova N.V.**, Skuridin V.S., Sadkin V.L., Nesterov E.A., Stasyuk E.S., Rogov A.S., Larionova L.A., Пина Е.А // тезисы докладов XV Международной конференций по ядерной физике «Ядро 2015». – САНКТ-ПЕТЕРБУРГ, 2015. – С. 298. (0,2 п.л./0,025 п.л.)

Список используемой литературы:

1. Семиглазов В. Ф. Новое направление в сберегательном и органосохраняющем хирургическом лечении злокачественных опухолей / Семиглазов В. Ф. // Медицинский вестник. – 2009. – № 35 (504). – С.12 - 24.

2. Altgassen C. Multicenter validacion study of the sentinel lymph node concept in cervical cancer: AGO Study Group / Altgassen C., Hertel H. [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2008. – Vol. 26. – P. 2943 - 2951.

3. Чернышова А.Л. Определение сторожевых лимфатических узлов при хирургическом лечении рака шейки матки, А.Л. Чернышова А.Ю. Ляпунов, Л.А. Коломиец, В.И. Чернов, И.Г. Синилкин / Сибирский онкологический журнал. - 2012. -№ 3 (51). – с. 5-10

4. Акопов А. Л. Интраоперационное определение "сторожевых" лимфатических узлов при раке легкого (обзор) / А. Л. Акопов, Г. В. Папаян, И. В. Чистяков // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2015. – Т. 174. – № 1. – С. 96 - 102.
5. Пак Д. Д. Исследование сторожевых лимфатических узлов у больных с меланомой кожи /Д. Д. Пак, Е. А. Белова, Т. Н. Лазутина // Российский онкологический журнал. – 2008. – № 4. – С.10 - 17.
6. Чернышова А.Л. Выбор объема хирургического лечения у больных раком шейки матки / Чернышова А.Л., Коломиец Л.А., Синилкин И.Г., Чернов В.И., Ляпунов А.Ю. // Злокачественные опухоли. – 2015. – № 2 (13). – С. 64 - 70.
7. Lin Y. Preparation and radiolabeling of antimony sulfide nanocolloids with two different particle sizes / Lin Y., Zhang X., Li J. [et al.] // Appl. Radiat. Isot. – 2003. – Vol. 58 (3). – P. 347 - 352.