АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ИНСТИТУТ ЯДЕРНОЙ ФИЗИКИ

На правах рукописи
УДК 543.544; 543.062: 621.039

ХАЖИЕВ ЛАЗИЗБЕК ОЗОДОВИЧ

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК МОНИТОРИНГА КАЧЕСТВА РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЙОДА-125, ЙОДА-131, ЛЮТЕЦИЯ-177 И ИХ ВАЛИДАЦИЯ

01.04.01 – Приборы и методы экспериментальной физики

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по техническим наукам

Научный руководитель: И.И. САДИКОВ
доктор технических наук, профессор

Ташкент - 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ…… 5

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА И ПРИМЕНЕНИЯ РАДИОНУКЛИДОВ ЙОДА-125, ЙОДА-131 И ЛЮТЕЦИЯ-177 (Литературный обзор)…… 14

§ 1.1. Использование радиофармацевтических препаратов в ядерной медицине..... 14

§ 1.2. Методы очистки и мониторинга чистоты радиофармацевтических препаратов на основе ^{125}I, ^{131}I и ^{177}Lu..... 16

§ 1.3. Область применения ^{125}I, ^{131}I и ^{177}Lu..... 20

§ 1.4. Методы получения РФП на основе ^{125}I, ^{131}I и ^{177}Lu..... 24

Выводы по первой главе..... 31

ГЛАВА 2. МЕТОДЫ И ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ…….. 32

§ 2.1. Методы исследования, определения, материалы и реактивы.... 32

§ 2.2. Приборы и измерительная аппаратура..... 36

§ 2.3. Расчетные формулы..... 36

§ 2.4. Валидация методик определения радиохимической чистоты препаратов на основе йода-125, йода-131 и лютеция-177..... 38

§ 2.4.1. Проверка соответствия повторяемости и внутрилабораторной прецизионности результатов анализа требованиям методики с использованием одной однородной рабочей пробы……... 40

§ 2.4.2.Точность (Правильность)..... 41

§ 2.4.3. Неопределенность измерения…….. 42

§ 2.4.4. Гарантия качества продукции..... 43

Выводы по второй главе..... 43

ГЛАВА 3. АНАЛИТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ РАДИОНУКЛИДОВ ЙОД-125 И ЙОД-131……..... 44

§ 3.1. Радиохимическая чистота препарата..... 44

§ 3.1.1. Тонкослойная хроматография..... 44
§ 3.1.1.1. Определение радиохимической чистоты препарата на основе йод-125 тонкослойной хроматографией…….. 45
§ 3.1.1.2. Определение радиохимической чистоты препарата на основе йод-131 тонкослойной хроматографией…….. 46
§ 3.1.2. Бумажная хроматография..... 48
§ 3.1.2.1. Определение радиохимической чистоты препарата на основе йод-125 бумажной хроматографией…… 48
§ 3.1.2.2. Определение радиохимической чистоты препарата на основе йод-131 бумажной хроматографией……. 49
§ 3.1.3. Электрофоретическое определение радиохимической чистоты препарата на основе йод-125 и йод-131..... 51
§ 3.1.4. Валидация методики определения радиохимической чистоты препарата йодида натрия с йодом-125, без носителя..... 57
§ 3.1.5. Валидация методики определения радиохимической чистоты препарата йодида натрия с йодом-131, без носителя…….. 65
§ 3.2. Определение удельной активности радиофармацевтического препарата на основе радионуклида йод-125 и йод-131……... 71
§ 3.2.1. Теоретическое расчет удельной активности..... 71
§ 3.2.2. Спектрофотометрическое определение удельной активности препарата на основе радионуклида йод-125……..... 72
§ 3.2.3. Спектрофотометрическое определение удельной активности препарата на основе радионуклида йод-131…… 76
§ 3.3. Определение степени мечения различных биологических макромолекул радионуклидом йод-125..... 80
Выводы по третьей главе..... 82
ГЛАВА 4. АНАЛИТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ РАДИОНУКЛИДА ЛЮТЕЦИЯ-177…….. 83

§ 4.1. Определение радиохимической чистоты препарата…….. 83
§ 4.1.1. Валидация методики определения радиохимической чистоты препарата хлорида лютеций-177, без носителя…… 88
§ 4.2. Определение удельной активности радиофармацевтического препарата на основе радионуклида лютеция-177…….. 94
§ 4.2.1. Определение степени мечения диэтилентриаминпента-ацетатом радионуклида ^{177}Lu методом тонкослойной хроматографии. 99
Выводы по четвертой главе..... 101
ЗАКЛЮЧЕНИЕ..... 102
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ..... 104
СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ, СИМВОЛОВ И ТЕРМИНОВ…… 116
ПРИЛОЖЕНИЕ А (к главе II)……..... 118
ПРИЛОЖЕНИЕ Б (к главе III)……..... 119
ПРИЛОЖЕНИЕ В (к главе IV)…….. 133

ВВЕДЕНИЕ (АННОТАЦИЯ ДИССЕРТАЦИИ)

Актуальность и востребованность темы диссертации. В настоящее время во всем мире большое внимание уделяется производству радиоактивных препаратов высокой чистоты и изучению их свойств. Развитие современной науки и техники во многом связано с последними достижениями в технологии получения и изучения свойств радиоактивных препаратов высокой чистоты. Поэтому методы получения таких радиоактивных препаратов и изучения их качества требуют постоянного совершенствования. В настоящее время невозможно представить современную диагностику различных заболеваний, особенно в области онкологии без использования радиоизотопов. Современная ядерная медицина отличается разнообразием диагностических и терапевтических методов, которые предоставляют врачу уникальную возможность объективно оценить состояние того или иного органа с помощью радиофармпрепаратов (РФП). Об этом свидетельствует статистический ежегодный рост потребления радиофармпрепаратов в мировой ядерной медицине на 10-15%. На сегодняшний день рынок радиофармацевтических препаратов составляет более 20 млрд. долларов США в год.

В мире на сегодняшний день каждый четвертый пациент, посещающий клиники, направляется на диагностические и терапевтические процедуры с использованием радиофармацевтических препаратов на основе различных радиоактивных нуклидов. К таким важным и актуальным радионуклидам относятся йод-125, йод-131 и лютеций-177. Радиофармацевтические препараты (РФП) на основе этих радионуклидов успешно применяются для лечения различных заболеваний простаты и щитовидной железы. Радионуклидная и радиохимическая чистота РФП определяет эффективность лечения и снижает необоснованное облучение пациента. Также важным фактором при использовании РФП является удельная активность радионуклида, которая определяет количество применяемого РФП для

получения необходимой эффективности лечения и высокого разрешения при диагностике. Поэтому разработка методов контроля качества этих радионуклидов и на этой основе определение качества радиофармпрепаратов, а также определение их удельной активности в соответствии с современными требованиями ядерной медицины является актуальной проблемой.

Узбекистан - один из ведущих мировых производителей радиоактивных препаратов. В стране производится ряд уникальных и широко используемых радионуклидов, около 60 РФП на основе более 10 радионуклидов, включая йод-125, йод-131 и лютеций-177. Препараты на основе этих радионуклидов экспортируются в 14 стран мира, при этом особое внимание уделяется их качеству по чистоте. В связи с этим аналитический контроль чистоты получаемых радионуклидов, наблюдение за составом и активностью радиоактивных препаратов с использованием надежных, достоверных и высокочувствительных аналитических методов является актуальной задачей.

Исследования, проведенные в данной диссертационной работе, соответствуют задачам, предусмотренным в Указах Президента Республики Узбекистан № УП-60 «О Стратегии развития нового Узбекистана на 2022–2026 гг.» от 28 января 2022 года, УП-5229 «О мерах по кардинальному совершенствованию системы управления фармацевтической отраслью» от 7 ноября 2017 года, Постановлении Кабинета Министров РУз №ПП-4526 «О мерах по поддержке научно-исследовательской деятельности Института ядерной физики» от 21 ноября 2019 г., а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Диссертационное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий республики VII. «Химия, химические технологии и нанотехнологии».

Степень изученности проблемы. Разработкой методик мониторинга качества радиофармацевтических препаратов занимаются многие ведущие ученые мира, в том числе египетские (А.Э. Мохаммед, С.Ф. Амаль, Т.И.

Исмаил, О.С. Мона, Ф.И. Магда), российские (И.В. Целищев, Ю.П. Савочкин, М.Я. Мельник, Т.Ф. Трепалина), иранские (Х. Юсефния, А.Р. Рецензии, Джалиляна, Ф. Аббаси-Давани), американские (С. Золгадри, А. Бахрами-Самани, М. Ганнади-Мараге, М. Мазиди), узбекистанские (С. Хужаев, С.А. Байтелесов) и другие специалисты.

Ими разработаны методы определения радиохимической чистоты и содержания радиохимических примесей в радиофармпрепаратах на основе йода-125, йода-131 и лютеция-177 с использованием тонкослойной хроматографии, бумажной хроматографии и электрофореза. Однако, в этих работах авторы в основном определяли РХЧ препаратов, а на измерение удельной активности и связывание радионуклидов с органическими веществами практически не обращали внимания.

Несмотря на их надежность, экспресность и простоту использования, результаты, полученные этими методами в большей части, не соответствуют нормативным требованиям. Они отличаются невысокой точностью и чувствительностью. Поэтому необходима разработка новых методик с использованием более совершенных и перспективных реагентов в качестве подвижных фаз, позволяющих увеличить их точность и чувствительность.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках научно-иследовательской программы ГП «Радиопрепарат» «Создание новых технологий и совершенствование существующих технологий на период 2017-2021 гг.»: технические задания № 04/17 от 14 марта 2017 г. «Разработка методики определения радиохимической чистоты и удельной активности субстанций на основе радионуклидов Йода-125 и Йода-131», № 06/18 от 16 мая 2018 г. «Разработка методики определения радиохимической чистоты и удельной активности субстанции на основе радионуклида лютеция-177» и № 09/21 от 7 сентября 2021 года «Валидация методик определения

радиохимической чистоты и удельной активности субстанций «Раствор натрия йодида с йодом-131, без носителя»; «Раствор натрия йодида с йодом-125, без носителя»; «Лютеция хлорид ($^{177}LuCI_3$) с лютецием-177, без носителя».

Целью исследования является разработка и валидация экспрессных, высокочувствительных и достоверных методик измерения радиохимической чистоты и удельной активности радиофармацевтических препаратов на основе йода-125, йода-131 и лютеция-177.

Задачи исследования:

анализ существующих методов измерения радиохимической чистоты радиофармацевтических препаратов на основе йода-125, йода-131 и лютеция-177;

выбор чувствительных и экономичных методов аналитического контроля радионуклидов ^{125}I, ^{131}I и ^{177}Lu;

разработка методик определения радиохимической чистоты радиофармпрепаратов на основе йода-125, йода-131 и лютеция-177 с использованием методов электрофореза, тонкослойной и бумажной хроматографии;

определение микроколичеств радионуклидов йода-125, йода-131 и лютеция-177 в препаратах спектрофотометрическим методом;

разработка методики определения удельной активности радионуклида лютеций-177.

Объектом исследования являются радионуклиды ^{125}I, ^{131}I и ^{177}Lu.

Предметом исследования являются радиохимическая чистота и удельная активность радионуклидов ^{125}I, ^{131}I и ^{177}Lu.

Методы исследований: методы экспериментальной ядерной физики, радиохимии и ядерной аналитики, в том числе тонкослойная хроматография, бумажная хроматография, электрофорез и ультрафиолетовая спектрофотометрия.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

разработана методика электрофоретического определения радиохимической чистоты радионуклида йод-125 в виде йодида натрия, с использованием фосфатного буфера и раствора карбоната натрия, позволяющая уменьшить время анализа бумажной хроматографией от 4-6 часов до 40-50 мин и увеличить степень определения чистоты до 99,5 %;

разработана новая спектрофотометрическая методика определения удельной активности радионуклидов йод-125 и йод-131, позволяющая исключить влияние продуктов побочных реакций и получить результаты близкие к теоретически расчитанным значениям удельной активности с погрешностью 2,2% для йод-125 и 2,72 % для йод-131;

разработана методика определения радиохимической чистоты радионуклида йод-131 в вида йодида натрия с использованием бумажной хроматографии, позволяющая увеличить верхнюю границу определения чистоты продукции по сравнению с существующими от 92,5% до 99,2%;

впервые разработаны методики определения радиохимической чистоты лютеция-177 в виде хлорида лютеция тонкослойной и бумажной хроматографией, позволяющие определить радиохимическую чистоту препарата до 99,7 % с относительной погрешностью 0,048% и суммарной неопределенностью 0,09 %;

разработана спектрофотометрическая методика определения удельной активности радионуклида лютеция-177 с использованием реагента Арсеназо III, позволившая определить удельную активность препарата на уровне 106,1 Ки/мг со смещением на 3,28 %.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

впервые использование реактива Болтона-Хантера, растворов адренокортикотропингипоталамуса и лактопероксидазы для определения радиохимической чистоты йода-125 в виде йодида натрия позволило исключить влияние молекул холодного йода на результаты анализа и определить степень сшивания йодид-иона с органическими макромолекулами;

выявлена зависимость приборной составляющей неопределенности измерения радиохимической чистоты от статистической скорости счета на интервалы и точностные характеристики радиометра и показана возможность достижения неопределенности измерений менее 0,5 %.

Достоверность результатов исследования подтверждается тем, что все разработанные методики исследования метрологических характеристик получаемых радионуклидов прошли валидацию по методике, предложенной Государственным унитарным предприятием «Узбекский центр аккредитации» при Агентстве по техническому урегулированию.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов заключается в совершенствовании методов изучения и контроля качества, метрологических характеристик радиофармацевтических препаратов, которые позволяют экспрессно, достоверно и с высокой чувствительностью определять их радиохимическую чистоту и удельную активность.

Практическая значимость результатов заключается в том, что разработанные методики аналитического контроля качества радиофармацевтических препаратов позволяют поднять качественные показатели радиофармацевтических препаратов на основе йода-125, йода-131, лютеция-177, увеличить степень определения чистоты и могут быть использованы при производстве новых радиофармацевтических препаратов.

Внедрение результатов исследования. Основные полученные результаты по разработке методик мониторинга качества радиофармацевтических препаратов внедрены в ГП «Радиопрепарат» при производстве радиофармацевтических препаратов и субстанций на основе радионуклидов йод-125, йод-131 и лютеций-177 (Письмо Академии наук РУз № 2/1255-1450 от 7 июля 2023 года и акт внедрения ГП «Радиопрепарат» от 01 марта 2023 года), а именно:

методика электрофоретического определения радиохимической чистоты радионуклида йод-125 в виде йодида натрия, с использованием фосфатного буфера и раствора карбоната натрия;

спектрофотометрическая методика определения удельной активности радионуклидов йод-125 и йод-131;

методика определения радиохимической чистоты радионуклида йода-131 в вида йодида натрия с использованием бумажной хроматографии;

методики определения радиохимической чистоты лютеция-177 в виде хлорида лютеция тонкослойной и бумажной хроматографией;

спектрофотометрическая методика определения удельной активности радионуклида лютеция-177 с использованием реагента Арсеназо III.

Использование разработанных методик позволило обеспечить производство качественных и готовых к применению радиофармацевтических препаратов и радиоактивных субстанций для использования в клиниках Республики Узбекистан, а также реализации на экспорт.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований обсуждались на 6 международных и республиканских конференциях.

Опубликованность результатов. По теме диссертации опубликованы 11 научных работ, в том числе 4 научные статьи в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией для публикации основных научных результатов диссертаций, из них 2 – в зарубежных научных журналах.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, списка использованной литературы и приложений. Основной объем диссертации составляет 117 страниц.

Список опубликованных работ:

1. Khajiev L.O., Sadikov I.I., Abdukayumov A.M., Rikhsiev A.Z. Method for Determining the Radiochemical Purity of Radiopharmaceuticals Based on Iodine-125, Iodine-131 and Samarium-153-oxabifor // *International Journal of*

Emerging Trends in Engineering Research. - EverScience Publications (India), 2021. – Vol. 9, No. 3. – pp. 217-220 (№ 41. SCImago; IF=0,218).

2. Хажиев Л.О., Садиков И.И., Абдукаюмов А.М., Усаров З.О. Изучение степени связывания радионуклида йод-125 с различными биологическими макромолекулами // *Universum: химия и биология.* – Москва: Международный центр науки и образования (Россия), 2021. – №11(89). – С.57-60 (02.00.00. №2)
3. Khajiev L.O., Sadikov I.I., Abdukayumov A.M., Usarov Z.O. Determination of radiochemical purity and specific activity of radionuclide lutetium-177 chloride without carrier/ *Uzbek Journal of Physics.* – Tashkent: Institute of Ion-Plasma and Laser Technologies Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 2022. – Vol.24. – №1. – pp.55-61 (01.00.00. № 5).
4. Хажиев Л.О., Садиков И.И., Абдукаюмов А.М., Рустамов Н.М. Определение радиохимической чистоты и радионуклидной чистоты йодида натрия, меченого радионуклидом I-125 без носителя // *Доклады Академии наук Республики Узбекистан*. – Ташкент: Академия наук РУз, 2022. – №2. – С. 55-60 (01.00.00. № 7).
5. Хажиев Л.О., Садиков И.И., Абдукаюмов А.М., Рихсиев А.З. Определение радиохимической чистоты и удельной активности Радионуклида I-125 без носителя в виде йодида натрия // Вестник молодых ученых. – Ташкент, 2020. – №3-4 (4). – С.127-131
6. Khajiev L.O., Abdukayumov A.M., Rikhsiev A.Z., Usarov Z.O., Nishonov Sh.J. Method for Determination the Specific Activity of Sodium Iodide Labelled by No-Carrier-Added I-125 Radionuclide // “Modern Problems of Nuclear Physics and Nuclear Technologies”: Book of abstracts of 9th International Conference September 24-27, 2019. – Tashkent: Institute of Nuclear Physics, 2019. – pp. 147-149
7. Хажиев Л.О., Садиков И.И., Абдукаюмов А.М., Рихсиев А.З, Усаров З.О. Способ определения радиохимической чистоты натрия йодида, меченого радионуклидом I-125 // Кимёнинг долзарб муаммолари: Республика илмий-

амалий анжумани, 4-5 февраль 2021. – Тошкент: Ўзбекистон миллий университети, 2021. – С.38

8. Хажиев Л.О., Садиков И.И., Абдукаюмов А.М., Рихсиев А.З., Усаров З.О. Определение радиохимической чистоты радионуклида хлорида Лютеция-177, применяемого в ядерной медицине // «Атом. Наука. Технологии»: I Международная научная школа-конференция, 14-16 апреля 2021: Сборник тезисов. - Алматы (Казахстан), 2021. – С.69
9. Хажиев Л.О., Садиков И.И., Усаров З.О., Нишонов Ш.Ж. Исследование мечения радионуклида йода-125, без носителя с различными биологическими макромолекулами // «Ядерная наука и технологии»: III Международный научный форум, 20 - 24 сентября 2021: Сборник тезисов. – Алматы (Казахстан), 2021. – С.199
10. Khajiev L.O., Sadikov I.I., Abdukayumov A.M., Usarov Z.O. Determining the Radiochemical Purity of Lutetium-177 Radiopharmaceutical Preparations by Thin-Layer and Paper Chromatography / “Modern Problems of Nuclear Energetics and Nuclear Technologies”: Book of Abstracts of International Conference, November 23-25, 2021. - Tashkent: Institute of Nuclear Physics, 2021. – pp.202-203
11. Хажиев Л.О., Садиков И.И., Абдукаюмов А.М., Рихсиев А.З., Усаров З.О. Определение радиохимической чистоты и удельной активности йодида натрия с йодом-131 // «Ядерная наука и технологии»: IV Международный научный форум, 26 - 30 сентября 2022: Сборник тезисов. – Алматы (Казахстан), 2022. – С.244

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА И ПРИМЕНЕНИЯ РАДИОНУКЛИДОВ ЙОДА-125, ЙОДА-131 И ЛЮТЕЦИЯ-177 (Литературный обзор)

1.1. Использование радиофармацевтических препаратов в ядерной медицине

Сегодня ядерная медицина стала неотъемлемым и эффективным инструментом в борьбе за здоровье человека, а также одним из высокотехнологичных, инновационных и быстрорастущих секторов мировой экономики. Ядерная медицина – это раздел медицины, где для диагностики и лечения используются радиофармпрепараты. Методом лечебного воздействия на организм больного путем перорального или внутривенного адресного введения радиофармпрепарата, обладающего способностью избирательного накопления в патологических очагах [1], является радионуклидная терапия, наиболее эффективный метод при лечении онкологических заболеваний.

Важнейшим достижением 80-х годов прошлого столетия стало внедрение в клиническую практику однофотонной эмиссионной компьютерной (ОФЭКТ) и позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ). В последние десятилетия бурное развитие ПЭТ/КТ, ОФЭКТ/КТ, комбинированных систем ОФЭКТ/ПЭТ и качество медицинских диагностических изображений на их основе значительно улучшилось [6]. Внедрение высокотехнологичных методов ПЭТ и ОФЭКТ с постоянно появляющимися новыми радиофармпрепаратами расширило ряд диагностических и терапевтических возможностей. Это, в свою очередь, привело к возникновению принципиально нового направления в ядерной медицине – радионуклидной тераностики [7]. Полученные при помощи ПЭТ функциональные данные отображают процессы жизнедеятельности органов и тканей организма человека на молекулярном уровне [8, 9]. Позитронно-эмиссионная томография использует радионуклиды, образующиеся в

циклотронах (^{11}C, ^{13}N, ^{15}O, ^{18}F, ^{64}Cu), и генераторные радионуклиды (^{68}Ga, ^{82}Rb) [10].

В настоящее время самым распространенным радионуклидом для диагностики не онкологических и онкологических заболеваний [2] является технеций (^{99m}Tc). На втором месте – препараты, меченые радиоактивными изотопами йода (^{123}I, ^{125}I, ^{131}I), которые применяются и в диагностике, и в терапии. Например, самым эффективным для лечения тиреотоксикоза и злокачественной опухоли щитовидной железы является изотоп ^{131}I [3, 4]. Он хорошо переносится больными и возможен даже при тяжелом течении заболевания [5]. Эффективность метода составляет 90-95%.

Для визуализации опухолей головного мозга в течение многих лет использовались аминокислоты, меченые ^{123}I [11-14]. Продолжается изучение возможности использования в нейроонкологии и других РФП, в частности 99mTc-ДМСА. Этот препарат может быть использован для дифференциальной диагностики рецидива злокачественных глиом и зон лучевого некроза [15].

Радионуклид ^{124}I получают на основе апробированной технологии в циклотроне, и его период полураспада, сумма всех других критериев, указывает на его применимость в ПЭТ и ОФЭКТ. Однако высокая эффективность комплексного спектрального фальшивого γ-излучения, относительно невысокие значения эффективности излучения позитронов, аннигиляционного излучения и самое главное, тот факт, что лучевая нагрузка на пациента более чем в 20 раз выше по сравнению с другими позитронными радионуклидами, ограничивает потенциал радионуклида ^{124}I [16].

Радиоактивным йодом-131 проводят лечение больных токсическим зобом и раком щитовидной железы с отдаленными метастазами, с использованием микроисточников ^{125}I проводится брахитерапия при раке предстательной железы [5]. Радиофармацевтические препараты на основе радионуклида йода-131 применяются также при диагностике почек и

мочевыделительной системы (о-йодгиппурат), при оценке функциональности печени и гепатобилиарной системы (бенгальская роза).

Наиболее широко используются в радионуклидной терапии в настоящее время препарат ^{177}Lu, ^{177}Lu PSMA и другие аналоги соединения [17]. Радиационно-физические характеристики ^{177}Lu близки к идеальным для β-излучающих терапевтических РФЛП. Невысокая средняя энергия и хороший радиационный выход β-частиц обеспечивают практически локальное облучение метастазов [18]. Так, например, для лечения больных распространёнными нейроэндокринными опухолями желудочно-кишечного тракта используют меченый терапевтический радионуклид лютеция-177 (^{177}Lu) [19, 20].

1.2. Методы очистки и мониторинга чистоты радиофармацевтических препаратов на основе ^{125}I, ^{131}I и ^{177}Lu

Согласно требованиям Государственной фармакопеи, необходимо контролировать радиохимическую чистоту (РХЧ) радиофармпрепарата – это доля активности радионуклида, присутствующего в химической связи с основным веществом, в общей активности препарата [21].

С 1 января 2016 года процедура контроля РХЧ является обязательной для всех отделений радионуклидной диагностики в соответствии с приказом Министерства здравоохранения РУз № 211 от 27.04.2015 «Об утверждении порядка изготовления радиофармацевтических лекарственных препаратов непосредственно в медицинских организациях». Поэтому достоверное определение РХЧ является первостепенной задачей при проведении данных измерений [22].

Определение радиохимической чистоты йодида натрия с радионуклидами йод-125 и йод-131, без носителя. Для определения чистоты препарата на основе йода-125 в качестве источника электролитов авторы [23] использовали лист ватмана (№ 1) (2,5х47 см) и физиологический раствор (0,9%

раствор NaCl). Электрофорез проводили в течение 80 мин при напряжении 300 В. После завершения проявления, высушивали и разрезали на отрезки (2,5 х 1 см). Активность каждого отрезка измеряли на гамма-счетчике. В результате полученное таким образом значение радиохимической чистоты препарата максимально составило 93,7±0,81%. Расстояние от точки наблюдения 125-йодид-ионов 14 см, 125-йодат-ионов – 9 см. Однако при воспроизведении данной методики полученные результаты не соответствовали приведенным данным.

Авторы работы [24] использовали электрофорез для определения радиохимической чистоты препарата на основе йода-125. Электрофорез проводили с использованием полосок из ацетата целлюлозы. Эти полоски смачивали 0,02 М фосфатным буфером с pH=7 и затем помещали в камеру. Образцы по 5 мкл наносили на расстоянии 12 см от катода. Время выдержки и приложенное напряжение продолжались в течение 90 мин. Проявившиеся полоски удаляли, сушили и разрезали на сегменты по 1 см. Их подсчитывали с помощью одноканального γ-счетчика. Полученное таким образом значение радиохимической чистоты препарата составило 95%. Однако результат, полученный при повторении этого метода, не соответствовал требованиям нормативного документа и требовал длительного времени для определения чистоты препарата.

Для определения чистоты препарата на основе йода-125 в качестве источника электролитов в работе [25] использованы бумажные полоски типа Ватман №3 ММ размером 65×3 см, а также боратный буфер концентрации 9 г/л, pH=9 ± 0,1. Электрофорез проводили при потенциале 900 В в течение 50 мин. Результаты, полученные при повторении этого метода, соответствовали представленным данным, но для приготовления боратного буферного раствора добавляются дополнительные вещества (натрий гидроксид NaOH, ортоборная кислота H_3BO_3 и тетраборат натрия $Na_2B_4O_7x10H_2O$). Это повышает стоимость метода и затрудняет работу аналитика.

Для выбора наиболее подходящего растворителя для разделения ^{125}I и $^{125}IO_3$ в работе [26] было испытано несколько растворителей. Радиохимическую чистоту определяли с использованием пластин Merck Silica Gel-60 с алюминиевой подложкой. В качестве проявляющего растворителя использовали свежую смесь н-бутанола : уксусной кислоты : воды (4:1:1, об./об./об.). R_f ^{125}I и $^{125}IO_3$ равны 0,9 и 0 соответственно. Однако результаты, полученные при повторении этого метода, не соответствовали требованиям нормативных документов.

В работе [27] радиохимическую чистоту йода-131определяли методом электрофореза, однако оценка радиохимической чистоты препарата на основе йода-131 показала, что значения R_f ионов йодид и йодат очень близки. Авторы работы [28] использовали хроматографическую бумагу Whatman № 1 размерами 1,5 см х 16 см. После полного высыхания хроматографическую бумагу подвешивали к хроматографической колонке, заполненной 75% метанолом. Ожидалось, что ^{131}I будет находиться в йодидной (I^-) форме и иметь диапазон R_f 0,7–0,9. Результаты показали, что $Na^{131}I$ имеет значение R_f = 0,75, R_f IO_3^- = 0,50, R_f IO_4^- = 0,0. Кроме того, радиохимическая чистота $Na^{131}I$ составляет 99,05 ± 0,13% [28].

В работе [29] радиохимическая чистота определялась методом восходящей бумажной хроматографии, где в качестве подвижной фазы использовалась смесь метанола с водой в соотношении 3:1. При определении радиохимической чистоты препарата [30] методом нисходящей хроматографии на бумаге в системе бензол - уксусная кислота – вода : 2-2-1 на хроматограмме о-йодгиппурату (точнее, аминогруппе) соответствует область с R_f =0,35 ±0,05. Радиохимическая чистота препарата (РХЧ) составила не менее 97 %.

Для определения радиохимической чистоты йодида натрия, меченого радионуклидом йод-125 или йод-131, методом электрофореза [31, 32] в качестве носителя использовали смесь гидрокарбоната натрия, йодида калия и йодноватого кислого калия, а в качестве электролита фосфатный буферный

раствор, содержащий 0,025М K_2HPO_4 и 0,0042М NaH_2PO_4 с pH 7,0±0,2. Процесс электрофореза проводился при напряжении 400 В в течение 50 мин. Радиохимическая чистота препарата (РХЧ) составила не менее 97 %.

<u>Определение радиохимической чистоты лютеция хлорида ($^{177}LuCI_3$) с ^{177}Lu, без носителя.</u> Исследования методом бумажной хроматографии проводили авторы [33] на хроматографической бумаге Whatman 3MM длиной 10 см, проявляли в 10% растворе ацетата аммония в метаноле (30:70 об./об.). Затем полоски сушили и разрезали на сегменты по 1 см. Радиоактивность, связанная с каждым сегментом, измерялась на детекторе колодцевого типа NaI(Tl). В то время как свободная активность остается в точке происхождения, меченый радиоактивным изотопом пептид мигрирует к R_f 0,7–0,8. Однако результаты, полученные при повторении этого метода, не соответствовали представленным данным, потому что ионы Lu^{3+} вышли в рассеянном состоянии, не оставив ни одной точки на хроматограмме. Поэтому радиохимическую чистоту хлорида лютеция-177 оценить не удалось.

Авторы [34] определяли радиохимическую чистоту раствора ^{177}Lu в двух растворителях для тонкослойной хроматографии (ITLC) [A: 10 ммоль/л диэтилентриаминпентауксусной кислоты (DTPA), pH = 5 и B: 10% смеси ацетата аммония : метанола (1:1)]. В 10 ммоль/л водного раствора ДТПА (растворитель 1) свободный катион Lu^{3+} образует комплекс с более лиофильной формой Lu-DTPA и мигрирует к более высоким R_f.

Авторы работы [35] определение радиохимической чистоты ^{177}Lu-ПСМА-617 проводили методом бумажной хроматографии, контроль качества выполнен с использованием смеси ацетонитрил : вода (1:1 по объему) в качестве подвижной фазы, а в работе [36] анализировали с помощью ITLC-SG. Кратковременно 2 мл смеси наносили на полоски ватмана (№ 1, 1x10,5 см) на расстоянии 1,5 см от дна. Растворителю (0,9 % солевой раствор, pH = 7) давали подняться на 10 см от дна полосок. Затем полоски сушили и рассчитывали

радиохимическую чистоту с помощью сканера ТСХ (сканер радио-ТСХ Bioscan B-AR-2000). Радиохимическая чистота составила не менее 98 %.

1.3. Области применения ^{125}I, ^{131}I и ^{177}Lu

Применение радионуклида йод-125 в ядерной медицине. Йод-125 (^{125}I) - изотоп йода, ядро которого состоит из 53 протонов и 72 нейтронов. Это радиоизотоп, распадающийся за счет захвата электрона до ^{125}Te, с периодом полураспада 59,4 дня и гамма-излучением распада ^{125}I/^{125}Te, имеет относительно низкую энергию в рентгеновском спектре, что применяется для метки гормонов, определяемых в сыворотке крови больного in vitro.

Среди радиоактивных изотопов йода самым популярным для исследовательских работ в науке и медицине является йод-125. Это связано с тем, что йод-125 имеет удобный для исследований период полураспада и энергию ядерного излучения. ^{125}I широко используется в ядерной медицине для диагностики и лечения, характеризуется высокой миграционной способностью, его радионуклиды при попадании во внешнюю среду легко включаются в биологические миграционные цепи и становятся источником внешнего и внутреннего облучения человека. Они могут войти в организм через желудочно-кишечный тракт, легкие, кожу, раны и ожоги. Пищевые продукты, такие как овощи, молоко и молочные продукты, являются исключительно важными путями поступления их в организм человека [37].

Радионуклид йод-125, используется для приготовления целого ряда радиофармпрепаратов, применяемых в ядерной медицине [38]. В частности, основная доля производимого радионуклида йод-125 в мире приходится на изготовление микроисточников для терапевтического лечения рака предстательной железы в брахитерапии [39,40]. При использовании в брахитерапии йод-125 инкапсулируется в капсулы (Сид) из титана, и имплантируется в место опухоли, где он будет оставаться на определенное время, а низкая энергия его излучения ограничивает повреждение тканей вдали от области его имплантации [41]. Задача брахитерапии источниками I-

125 сводится к внедрению источников радиоактивного излучения в пораженный орган. Создавая внутри очаг непрерывного облучения ткани, брахитерапия не оставляет никаких шансов для опухолевых клеток, вне зависимости от их биологических характеристик. Для имплантации применяются радиоактивные микроисточники различной конструкции на основе йода-125.

Поверхностный плазмонный резонанс и способность связывать тиоловую и аминогруппу позволили использовать радионуклид йод-125 с наночастицами золота (ЗНЧ) в биологической и медицинской сферах, например, в фотодинамической терапии, терапевтических агентах доставки, диагностических агентах и радиосенсибилизаторах [42-47].

Исследования с йодом-125, в основном, проводятся в присутствии белков и пептидов, которые широко используются для иммунологических, рецепторных, гормональных и др. исследований. Использование ^{125}I в радиоиммунном анализе и радиорецепторном тестировании позволяет определить количество вещества не только в плазме или сыворотке крови, но и в любой биологической жидкости, выяснить его физиологические свойства, иммунореактивность и биологическую активность.

I-125 является полезным для определения скорости клубочковой фильтрации (СКФ) в диагностике или мониторинге пациентов с заболеваниями почек [48]. Радионуклид йод-125 со своими уникальными ядерно-физическими характеристиками очень широко используется в различных областях ядерной медицины, таких как радионуклидная диагностика, брахитерапия, научные исследования в области молекулярной биологии, гормональные исследования, исследования состава крови человека, радио-иммунологические исследования, генная инженерия и т.д.

<u>Применение радионуклида йода-131 в ядерной медицине.</u>

Радионуклид йод-131 широко используется для синтеза радиоактивного фармацевтического препарата и капсул на основе радионуклида йода-131 для

терапии токсического зоба и раковых опухолей щитовидной железы, а также для синтеза различных радиоактивных радиофармпрепаратов, применяемых для диагностики и терапии злокачественных и доброкачественных новообразований различных органов и систем человека.

^{131}I представляет собой бета- и гамма-излучающий радионуклид с физическим периодом полураспада 8,05 дня, благоприятен с точки зрения логистики для отправки радиофармпрепаратов ^{131}I в удаленные места. Основная энергия гамма-излучения 364 кэВ (81%) и β-частиц с максимальной энергией 0,61 МэВ и средней энергией 0,192 МэВ, средний диапазон проникновении в ткани составляет 0,4 мм. В настоящее время радиофармпрепараты меченые радионуклидом йод-131 применяют при диагностике заболеваний почек и мочевыделительной системы с использованием о-йодгиппурата натрия, ^{131}I, при оценке функциональных возможностей печени и гепатобиллиарной системы с помощью бенгальской розы, маркированной йодом-131. По данным [49] радиоактивный изотоп йода-131 используется также при диагностике заболеваний щитовидной железы, при лечении некоторых видов рака щитовидной железы, заболеваний, связанных с гипертиреозом. Он является основой терапии для лечения токсических узлов щитовидной железы, болезни Грейвса, уменьшения объема давнего зоба и дифференцированного рака щитовидной железы [50-57]. Метайодобензилгуанидин (MIBG), меченый ^{131}I, используется не только для лечения хромаффинных опухолей (нейробластома, феохромоцитома и параганглиома), но также стал наиболее распространенным средством функциональной визуализации феохромоцитомы и параганглиом для выявления этих опухолей [58–62].

Большие перспективы открываются для использования препаратов радиоизотоп йода-131 в области лучевой терапии [63]. Среднегодовая потребность радиофармпрепаратов на основе радионуклида ^{131}I в нашей республике составляет около 1200-1300 ГБк с ежегодным приростом 10-15%.

Применение радионуклида лютеция-177 в ядерной медицине. Радионуклид лютеций-177 (^{177}Lu) считается одним из наиболее перспективных для радионуклидной терапии с использованием меченых антител и пептидов [64]. Он обладает оптимальными характеристиками для использования в ядерной медицине: удобный период полураспада ($T_{1/2}$ = 6,71 суток) и приемлемая энергия β-частиц (максимальная энергия 0,497 МэВ), имеет также мягкое сопутствующее γ-излучение (208 кэВ, выход 11%), возможна визуализация с целью биораспределения меченых ^{177}Lu эндорадиотерапевтических агентов [65]. ^{177}Lu обладает химическими свойствами комплексообразования белка бифункциональными хелатирующими агентами, такими как DTPA или DOTA [66].

^{177}Lu с высокой удельной радиоактивностью требуется для разработки лекарственных препаратов направленного действия, таких как DOTA-TOC, DOTA-Lanreotide и Bombesin, для направленной лучевой терапии SSTR-позитивных опухолей и опухолей легких; ДОТА-α-МСГ при меланоме; антитела PSMA-DOTAJ591 и Anti-CD74 для рака предстательной железы и лимфомы соответственно [67]. В настоящее время одной из наиболее перспективных областей применения радиофармпрепаратов, например, ^{177}Lu-RFP, являются гастроэнтеропанкреатические опухоли (гастроэнтеропанкреатические нейроэндокринные опухоли, ГЭП-ГЭТ) [68]. Для их лечения предназначены радиофармацевтические аналоги ^{177}Lu-DOTA-TOC/TATE октреотида [69], имеющие коммерческое значение для лечения. Для лечения рака предстательной железы (РПЖ) в последние годы активно используется ПСМА-617 в качестве таргетного носителя для диагностических и терапевтических радионуклидов [70], т.к. отличается оптимальными физико-химическими характеристиками для присоединения к нему различных радионуклидов.

Лютеций-177-PSMA-617 (ПСМА — простат-специфический мембранно-активный антиген) — это препарат, который все чаще

используется для людей с метастатическим раком простаты, а также при лечении рака поджелудочной железы. Стандартный протокол радионуклидной терапии Лютецием-177-PSMA-617 предусматривает до 4 циклов с 6-недельными интервалами. Средний уровень радиоактивности составляет около 7,5 ГБк за цикл. Примерная стоимость терапии с Лютеций-177 ПСМА-617, включая диагностику и госпитализацию, может составить около $18.000-20.000 (1 цикл) [71].

Из-за оптимальных ядерно-физических характеристик радионуклид лютеций-177 нашел широкое применение в синтезе радиоактивных фармацевтических препаратов меченых антител и белковых структур для целевой радионуклидной терапии злокачественных новообразований первичного и метастатического рака предстательной железы, гастроэнтеропанкреотических нейроэндокринных опухолей, рака молочной железы, лёгких и костной системы. Об этом говорит тот факт, что итоговое собрание авторитетного Общества ядерной медицины и молекулярной визуализации (SNMMI) [72] в 2019 году было полностью посвящено применению целевой (таргетной) терапии первичных и метастатических злокачественных новообразований различных органов и систем человека с лютецием-177.

1.4. Методы получения РФП на основе ^{125}I, ^{131}I и ^{177}Lu

Методы получения радионуклида йод-125. Основной путь получения радионуклида йода-125 – это облучение обогащенного ксенона-124 тепловыми нейтронами в исследовательском реакторе (рис.3). Как видно из схемы ядерной реакции помимо радионуклида йода-125 нарабатывается в качестве радионуклидной примеси радионуклид йод-126 в результате захвата нейтронами реактора образовавшегося йода-125. Только 6,68% йода-125 переходит в стабильный нуклид ^{125}Te. Остальные 93,32% распадаются путем внутренней конверсии. Вследствие наличия электронных вакансий во внутренней оболочке возникает характеристическое рентгеновское излучение,

основная энергия которого составляет 0,028 МэВ. Электронный захват (ЭЗ) - 100%, энергия гамма излучения - 0,03549 МэВ, (6,68%), рентгеновское излучение 0,028 МэВ [73].

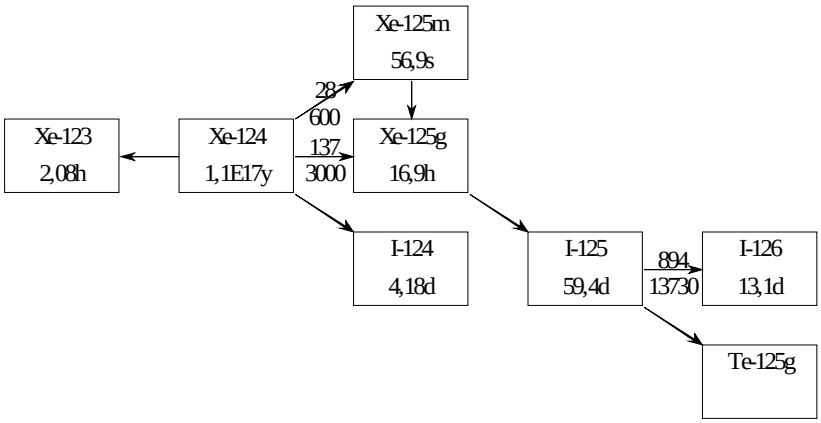

Рис.1.3. Схема получения I-125 облучением нейтронами обогащенного Xe-124

Поскольку мишень природного ксенона содержит только 0,096% изотопа ^{124}Xe, существует два варианта получения высоких выходов ^{125}I: (I) длительное облучение природного ксенона; (II) использование мишени, обогащенной ксеноном-124. В первом случае необходимо рассчитывать по следующей ядерной реакции ^{125}I(n,γ)=^{126}I, так как образующиеся радионуклиды ^{125}I могут также захватывать нейтроны с сечением 900 барн, что приводит к увеличению выхода радионуклидной примеси ^{126}I. После длительного облучения мишени из природного ксенона количество примеси ^{126}I можно уменьшить за счет естественного распада, так как физический период полураспада ^{126}I составляет 13 дней, что намного меньше периода полураспада йода-125. В случае использования мишени, с обогащенным ксеноном-124, короткий период облучения приведет к снижению содержания ^{126}I до низкого уровня. С другой стороны, требуется восстановление дорогостоящей обогащенной ксеноновой мишени.

Согласно Канадской методике [74] ксенон отгоняют после его облучения в контейнере, 10-недельной выдержки и охлаждения сухим льдом

в спирте. После охлаждения контейнера жидким азотом в него заливают раствор сульфита натрия с pH=9,6 и нагревают до комнатной температуры. Йод со стенок контейнера переходит в раствор, который подвергается очистке катионитом дауэкс-50. [74]. В США йод-125 вымывают из контейнера 0,1% раствором едкого натрия и подвергают очистке дистилляцией из раствора серной кислоты [74]. Содержание радионуклидной примеси ^{126}I в препарате составляет менее 1%.

Авторы работы [74] исследовали возможности получения ^{125}I облучением в ядерном реакторе дифторида ксенона в твердом агрегатном состоянии. Преимущество этого метода состоит в том, что работать с твердыми веществами удобнее. Для выделения ^{125}I использовалась дистилляция, чистота продукта составила более 99%. Однако выход процесса активации ксенона и образования ^{125}I невелик.

Таким образом, для получения радионуклида йода-125 без носителя с высокой радионуклидной чистотой и высоким выходом необходимо облучать газообразный ксенон обогащенный изотопом Хе-124 с первичной радиохимической очисткой от образовавшегося йода-126 из ксенона-125 с последующим накоплением йода-125 и отделением йода-125 от материала мишени ксенона-124.

Методы получения радионуклида йод-131. Йод-131 — искусственный радиоактивный изотоп йода. Впервые получен в 1938 году в Беркли. Теоретическая удельная активность составляет ~$4{,}6\cdot10^{15}$ Бк на грамм.

Метод получения радионуклида йод-131 из урана-235. При делении урана-235 образуются разнообразные изотопы – осколки деления. Среди них, наиболее распространенными являются йод-131, цезий-137 и молибден-99, которые легко образуются при делении. В этом методе мишени из порошка или гранул ураната магния (обогащенного по урану-235) облучаются нейтронным потоком ядерного реактора, из урана-235 образуется йод-131 с высокой удельной активностью в виде осколка деления и поглощается гидроксидом натрия [75]. Однако недостатками метода являются

неравномерное распределение делящегося материала по объему и тот факт, что образующийся в процессе облучения йод-131 при вскрытии летит и загрязняет окружающую среду, также при использовании высокообогащенного урана образуется большое количество высокорадиоактивных отходов. В настоящее время со стороны МАГАТЭ настоятельно рекомендуется не использовать высокообогащенный уран-235 для производства радионуклидов.

^{131}I является бета- и гамма-излучателем с периодом полураспада 8,02 суток. Он распадается с испусканием β-частиц с энергией 0,248, 0,334, 0,606 и 0,807 МэВ, а также γ-квантов с энергиями от 0,08 до 0,723 МэВ [76]. ^{131}I распадается в стабильный ^{131}Xe:

$$^{131}_{53}I \rightarrow {}^{131}_{54}Xe + \beta^- + \gamma$$

Йод-131 является дочерним продуктом β^--распада изотопов ^{131}Te и ^{131m}Te, которые распадаются до ^{131}I с периодом полураспада 25 минут и 1,25 дней, соответственно [76]:

$$^{131,131m}_{52}Te \rightarrow {}^{131}_{53}I + \beta^- + \gamma$$

В свою очередь теллур-131 образуется из природного теллура при облучении нейтронами стабильного изотопа теллура-130, концентрация которого в природном теллуре составляет 34,27 %:

$$^{130}_{52}Te + {}^{1}_{0}n \rightarrow {}^{131,131m}_{52}Te$$

Радионуклид ^{131}1 наиболее широко применяется в радионуклидной диагностике и терапии различных заболеваний щитовидной железы и производится в больших количествах. Его можно получать двумя методами: дистилляцией из раствора и сухой отгонкой.

Обычно в производстве ^{131}I в качестве стартового материала используют обогащённый ^{130}Te [77], при котором получается йод-131 с удельной

активностью ближе к теоретической. ^{131}Te подвергается β-распаду и превращается в радиоактивный ^{131}I (рис. 1.4).

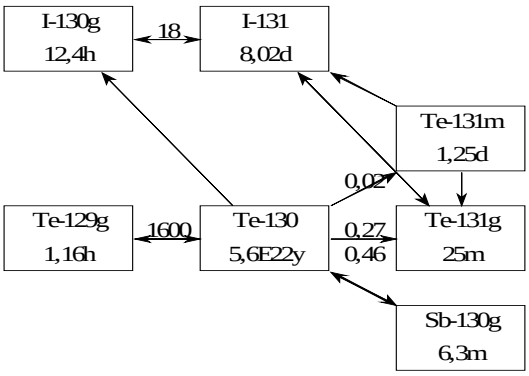

Рис.1.4. Схема получения I-131 облучением нейтронами обогащенного Te-130

Во всем мире (в том числе и в ГП «Радиопрепарат») производство ^{131}I осуществляется методом сухой возгонки облученной мишени Te. Кварцевый сосуд с навеской TeO_2 облучают и помещают в печь, нагретую до 680-700 °C. Одновременно через сосуд пропускают поток чистого кислорода, уносящего ^{131}I, который затем поглощается раствором щелочи. Метод позволяет подвергать TeO_2, повторному облучению после извлечения ^{131}I [78].

<u>Методы получения радионуклида лютеций-177.</u> ^{177}Lu может быть получен прямым и непрямым методом [79]. «Прямой» способ производства ^{177}Lu с носителем – это облучение тепловыми нейтронами реактора природного лютеция (^{176}Lu 2,59 % и ^{175}Lu 97,41%) или обогащенного изотопом лютеция-176 (рис. 1.5).

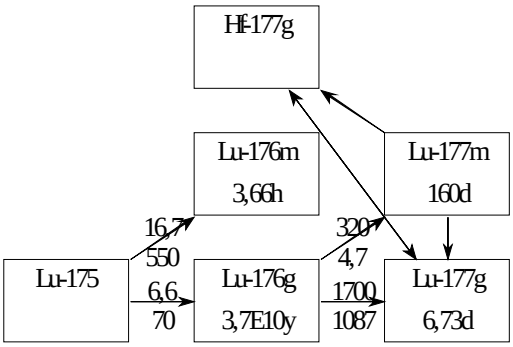

Рис.1.5. Схема получения Lu-177 облучением нейтронами природного лютеция

Путем облучения природного Lu_2O_3 при потоке тепловых нейтронов около $4 \cdot 10^{13}$ н. см$^{-2}$. сек$^{-1}$ в течение 5 дней на реакторе ^{177}Lu был получен с удельной активностью около 70-80 мКи/мг и радионуклидной чистотой 99,98 % [80].

Одним из основных недостатков первого способа является низкое значение удельной активности ^{177}Lu. Кроме этого, неизбежно образование «вредного» долгоживущего радионуклида ^{177m}Lu ($T_{1/2}$= 160 сут), доля (по активности) которого в ^{177}Lu может достигать 3%. Для эффективной реализации этой схемы необходим высокообогащенный ^{176}Lu и высокопоточный реактор (с плотностью потока тепловых нейтронов на уровне ~ 2-5 × 10^{14} н/см$^2 \cdot$с$^{-1}$) [81].

Производство на основе прямого пути дает продукт ^{177}Lu с низкой удельной радиоактивностью, доступный только для ограниченного применения, такого как паллиативное лечение метастатической боли в костях и радиационная синовэктомия суставов [66].

Непрямым альтернативным путем можно получать ^{177}Lu облучением нейтронами ядерного реактора стартового материала, содержащего Yb природного состава или обогащенного по ^{176}Yb по ядерной реакции:

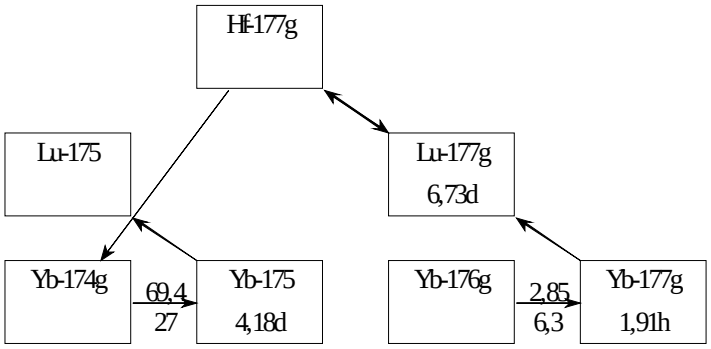

Рис.1.6. Схема получения Lu-177 облучением нейтронами обогащенного Yb-176

При реализации альтернативного метода для нейтронного потока любой интенсивности получается ^{177}Lu с удельной активностью, близкой к

теоретической. Производство ^{177}Lu с использованием данной схемы может быть организовано на базе любого исследовательского ядерного реактора. Для реализации этой схемы необходим обогащенный иттербий и экспрессный метод разделения безносительных количеств ^{177}Lu от материала мишени иттербия. Учитывая преимущества и недостатки обоих способов получения ^{177}Lu более предпочтительным является способ получения ^{177}Lu путем облучения иттербиевых мишеней.

Полученный этим методом ^{177}Lu пригоден для приготовления средств таргетной терапии с участием минимального количества молекул-носителей, способных доставить необходимую дозу облучения к клеткам-мишеням. Кварцевую ампулу с мишенью $^{176}Yb_2O_3$ облучают при потоке тепловых нейтронов $5 \cdot 10^{13}$ н·см$^{-2}$·с$^{-1}$, охлаждают в течение 24 часов, затем облученную мишень растворяют в растворе HCl [77].

Широко применяется ^{177}Lu-РФП для радионуклидной терапии рака простаты и яичников. При производстве таких препаратов обращают внимание на высокую удельную активность и радиохимическую чистоту [82].

Таким образом, для получения радионуклида лютеция-177 с высокой удельной активностью пригодного для синтеза радиофармпрепаратов белкового присхождения оптимальным методом является облучение иттербиевых мишеней, обогащенных иттербием-176 с последующим радиохимическим разделением лютеция-177, без носителя от материала мишени.

Выводы по первой главе

На основе проведенного анализа литературных источников по методам очистки и мониторинга чистоты радиофармацевтических препаратов на основе ^{125}I, ^{131}I и ^{177}Lu следует, что на сегодняшний день характеристики качества производимых по этим методикам радиофармпрепаратов

недостаточно соответствуют нормативным требованиям. Исходя из этого были определены з**адачи исследования** настоящей работы, а именно:

провести анализ существующих методов измерения радиохимической чистоты радиофармацевтических препаратов на основе йод-125, йод-131 и лютеций-177;

выбрать чувствительные и экономичные методы аналитического контроля радионуклидов ^{125}I, ^{131}I и ^{177}Lu;

разработать методики определения радиохимической чистоты радиофармпрепаратов на основе йод-125, йод-131 и лютеций-177 с использованием методов электрофореза, тонкослойной и бумажной хроматографии;

определить микроколичества радионуклидов йода-125, йода-131 и лютеция-177 в препаратах спектрофотометрическим методом;

разработать методики определения удельной активности радионуклида лютеций-177.

ГЛАВА 2. МЕТОДЫ И ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Методы исследования, определения, материалы и реактивы

Поскольку действующим веществом радиоактивных фармацевтических препаратов являются радиоактивные нуклиды, то при контроле качества этих препаратов, в основном, уделяют внимание измерению двух характеристик: удельной активности и радиохимической чистоты. Поэтому мы ниже рассмотрим определение удельной активности, радиохимической чистоты и радиохимической примеси, а также количества дополнительных ингредиентов, входящих в состав радиофармпрепаратов, меченых радионуклидами йода-125, йода-131 и лютеция-177

Радиохимическая чистота - РХЧ (Radiochemical purity) - это процентное (%) отношение активности радионуклида в основном химическом веществе радиофармпрепарата к общей активности радионуклида в этом радиофармпрепарате. Любой радиофармпрепарат не должен содержать других меченых соединений, кроме основного, однако во многих случаях препарат содержит радиохимические примеси (РХП), природа которых часто неизвестна.

Радиохимические примеси (Radiochemical impurities) – это примеси химических соединений отличных от основного вещества, составляющего радиофармпрепарат, но содержащие тот же радионуклид в препарате. Практически радиохимически чистым считается препарат, в котором радиохимическая чистота не менее 98% или радиохимические примеси не более 2%. Однако, чаще всего, при определении РХЧ лекарственного средства указывается РХЧ = 100-РХП (%).

При определении значений РХЧ радиоактивных субстанций и радиофармпрепаратов используются методы тонкослойной хроматографии, бумажной хроматографии и метод электрофореза.

Тонкослойная хроматография (ТСХ). Метод оказался эффективнее благодаря большей скорости эксперимента и более широким возможностям

разделения. В качестве неподвижной фазы используется алюминиевая пластинка (типа Art. 5553 «DC-Alufolien Kieselgel 60», Merck), а в качестве подвижной фазы – н-бутанол, уксусная кислота, метанол, хлороформ, гидроксид аммония, цитрат натрия.

Бумажная хроматография – вид хроматографии, основанный на различии в скорости перемещения компонентов анализируемой смеси по бумаге в потоке растворителя (элюента). Скорость перемещения компонентов зависит от коэффициента их распределения между фазами и от соотношения объемов этих фаз. В качестве неподвижной фазы используется бумага для хроматографии Whatman 3MM, в качестве подвижной фазы – метанол, гидроксид аммония, н-бутанол, уксусная кислота. На рис. 2.1 приведена схема анализа методом тонкослойной и бумажной хроматографии. Здесь: Старт – место нанесения исследуемого вещества, фронт элюента – место до которого дошел элюент. Эффективность разделения с помощью тонкослойной и бумажной хроматографии измеряется величиной R_f. Значение величины R_f рассчитывается отношением расстояния от старта до фронта на расстояние от старта до центра пятна.

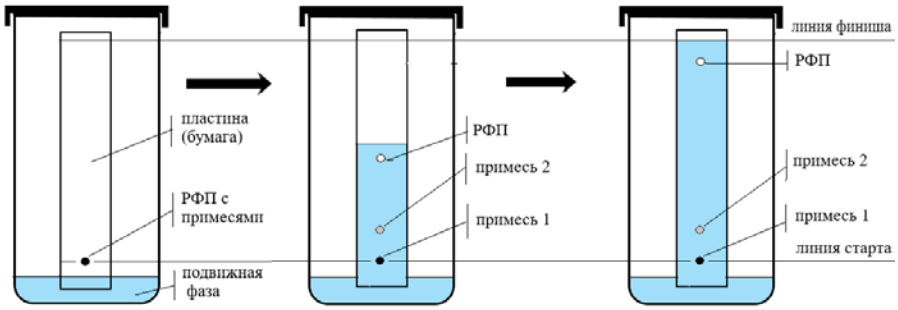

Рис.2.1. Схема анализа методом тонкослойной и бумажной хроматографии

Метод электрофореза. Электрофорез на бумаге основан на разделение радиофармпрепарата и его примесей в соответствии с электрофоретической подвижностью (рис. 2.2). В качестве неподвижной фазы используется бумага для хроматографии марки «С», в качестве подвижной фазы - буферные

растворы – фосфатный буферный раствор с pH 7,0±0,2 и раствор карбоната натрия с pH 10,6±0,2.

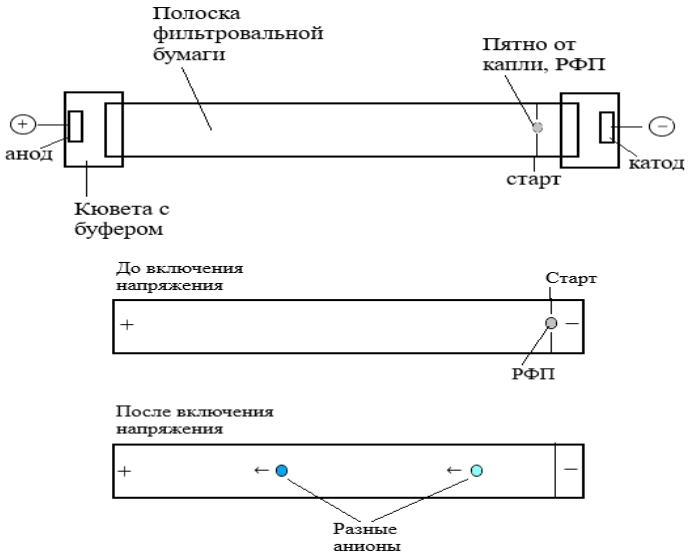

Рис.2.2. Схема электрофореза на бумаге

Методы определения удельной активности.

Удельная активность — это активность, приходящаяся на единицу массы вещества источника. Обычно она выражается в единицах Бк/кг. Другой широко используемой единицей активности является кюри (Ки), позволяющая определять удельную активность в Кюри/г.

а) Теоретическое определение удельной активности

Масса радионуклида определяется выражением

$$m = \frac{N}{N_A}[\text{моль}] \times M[\text{г/мол}] \qquad (2.1.1)$$

где M - молярная масса радионуклида, г/моль; N_A - постоянная Авогадро; N-количество атомов.

Удельная радиоактивность a определяется как радиоактивность на единицу массы радионуклида:

$$a = \left[\frac{\text{Бк}}{\text{г}}\right] = \frac{\lambda N}{MN/N_A} = \frac{\lambda N_A}{M} \qquad (2.1.2)$$

Удельную радиоактивность также можно описать как

$$a = \frac{N_A ln2}{T_{1/2} \times M} \qquad (2.1.3)$$

Это уравнение упрощается до

$$a = \left[\frac{\text{Бк}}{\text{г}}\right] = \frac{4.17\times10^{23}[mol^{-1}]}{T_{1/2}[s]\times M[g/mol]} \quad (2.1.4)$$

Если период полураспада измеряется в днях, а не в секундах:

$$a = \left[\frac{\text{Бк}}{\text{г}}\right] = \frac{4.17\times10^{23}[mol^{-1}]}{T_{1/2}[\text{день}]\times24\times60\times60[\text{с/день}]\times M} = \frac{4.82\times10^{18}[\text{моль}^{-1}\text{с}^{-1}\text{день}]}{T_{1/2}[\text{день}]\times M[\text{г/моль}]} \quad (2.1.5)$$

$$a = \left[\frac{\text{Кюри}}{\text{мг}}\right] = \frac{1.127\times10^{13}[mol^{-1}]}{T_{1/2}[\text{день}]\times24\times60\times60[\text{с/день}]\times M\times1000} = \frac{1.303\times10^{8}[\text{моль}^{-1}\text{с}^{-1}\text{день}]}{T_{1/2}[\text{день}]\times M[\text{мг/моль}]\times1000} \quad (2.1.6)$$

где $T_{1/2}$ – период полураспада радионуклида; М - атомная масса радионуклида; 1000- коэффициент пересчета микрограммов в миллиграммы.

б) Спектрофотометрическое определение концентрации раствора для расчета удельной активности. Для этого радионуклиды в йодид форме переводятся в форму элементного йода. При этом радионуклиды в йодат форме остаются неизменными. Далее концентрация йода определяется измерением оптической плотности калибровочных и анализируемых проб на спектрофотометре MRC UV-11 (Израиль). По калибровочному графику определяется количество элемента соответствующего радионуклида в аликвоте радиофармацевтического препарата (точка m_x).

Используемые реактивы и реагенты в экспериментах: калий фосфорнокислый однозамещенный (KH_2PO_4), натрий фосфорнокислый двузамещенный безводный (Na_2HPO_4), карбонат натрия (Na_2CO_3), гидрокарбонат натрия ($NaHCO_3$), йодид калия (KI), йодновато-кислый калий (KIO_3), гидроксид натрия (NaOH), нитрат серебра ($AgNO_3$), бихромата калия ($K_2Cr_2O_7$), н-бутанол (C_4H_9OH), уксусная кислота (CH_3COOH), хлороформ ($CHCl_3$), метанол (CH_3OH), гидроксид аммония (NH_4OH), ацетат аммония (CH_3COONH_4), цитрат натрия ($Na_3C_6H_5O_7$), серная кислота (H_2SO_4), четыреххлористый углерод (CCl_4), ацетат натрия (CH_3COONa), бромфеноловый красный ($C_{19}H_{12}Br_2O_5S$), хлорамин-Т ($C_7H_7ClNO_2SNa$), Арсеназо III ($C_{22}H_{16}As_2N_4Na_2O_{14}S_2$), хлористоводородная кислота (HCl), хлорид калия (KCl), адренокортикотропингипоталамус (АКТГ), реактив

Болтона-Хантера (Б.Х), лактопероксидаза (ЛП) - (Sigma Aldrich (США)), – квалификации х.ч, бифункциональный хелатирующий агент DTPA (Sigma Aldrich (США)), Оксид лютеция (Lu_2O_3)- квалификация о.с.ч.

2.2. Приборы и измерительная аппаратура

Гамма-спектрометр, состоящий из детектора с кристаллом из высокочистого германия и многоканального анализатора DSA-1000 (фирмы Canberra Ind. Inc., США, энергетическое разрешение 1,7 кэВ по линии 1332,5 кэВ, относительная эффективность регистрации для линии 1332,5 кэВ 20 %, отношение пик: комптон 44:1) [83].

Рентгеновский спектрометр X-Ray-123 – (Amptek, США), оптимальный энергетический диапазон от 1 кэВ до 40 кэВ.

Электрофорезная горизонтальная камера Mini-Sub Cell GT System (Bio Rad - США).

Гамма-спектрометр четырехканальный NP-424L (Венгрия) и Ludlum 2200 (США) с сцинтилляционным детектором с кристаллом NaJ(Tl), позволяющий увеличить геометрию измерения до 4р. Диапазон измерения активности 50-10^4Бк и энергий 20-3000 КэВ.

pH-метр Mettler Toledo Seven Easy (Швейцария) - для измерения и корректировки pH анализируемых растворов препаратов и буферных растворов.

Аналитические весы AND-200 (Япония) – для взвешивания реактивов при приготовлении буферных и стандартных растворов.

Для обеспечения однотипной геометрии измерения активности жидких проб объемы проб при относительных измерениях были одинаковыми. Измерение проводилось в стандартных мишенях.

2.3 Расчетные формулы

Расчеты радиохимической чистоты (РХЧ) радионуклидов в исследуемых системах проводились по формуле:

$$РХЧ = \frac{\sum A_{осн.вещ}}{\sum A_{хр.}} \cdot 100\% \quad (2.3.1)$$

где $\sum A_{осн.вещ.}$ – сумма скорости счета активности зоны основного вещества (лиганда); $\sum A_{хр.}$ – сумма скорости счета активности для всей хроматограммы; РХЧ – радиохимическая чистота.

Удельная активность рассчитывалась по формуле в кюри на мг:

$$УА = \frac{Av \times V}{\mu * 1000 * n} (Ки / мг) \quad (2.3.2)$$

где A_v – объемная активность аликвоты препарата, Ки/мл; V - объем аликвоты препарата, мл; n- количество радиоактивного радионуклида, моль; μ — молярная масса радиоактивного радионуклида, мг/моль; 1000- коэффициент пересчета микрограммов в миллиграммы.

Значение R_f (коэффициента замедления) рассчитывалось по следующей формуле:

$$R_f = А/Б \quad (2.3.3)$$

где А - расстояние (см) от линии старта до положения пика радиоактивности; Б - расстояние (см) от линии старта до фронта растворителя.

Различные химические вещества, содержащие радионуклиды, проявляются на разном расстоянии от старта. Положение пятен и участков можно химически идентифицировать путём сравнения с соответствующими растворами такого же химического вещества (нерадиоактивного «свидетеля»), используя соответствующий метод детектирования. Совпадение величин R_f «свидетеля» и одного из пятен на хроматограммах позволяет сделать предварительное заключение о химической природе идентифицируемого соединения.

Включение определяемого радионуклида ^{125}I к различным биологическим макромолекулам рассчитывается по формуле в %:

$$D_{св} = \frac{\sum_{пик}}{\sum_{общ}} \times 100\% \quad (2.3.4)$$

где $\Sigma_{пик}$ – сумма импульсов ^{xx}P-макромолекулы в пике; $\Sigma_{общ}$ – общая сумма импульсов; $D_{св}$ – степень связывания.

2.4. Валидация методики определения радиохимической чистоты препаратов на основе йода-125, йода-131 и лютеция-177

Валидация – документированная процедура, дающая высокую степень уверенности в том, что конкретный процесс, метод или система будут последовательно приводить к результатам, отвечающим установленным критериям приемлемости.

Оцениваемые характеристики.

Перечень характеристик количественного определения радиохимической чистоты согласно требованиям ОФС.1.1.0012.1515 в сравнении с рекомендациями Руководства EDQM16, приведен в таблице 2.1.

Селективность – это способность аналитической методики однозначно оценивать определяемое вещество в присутствии сопутствующих компонентов.

Линейность аналитического метода — это наличие линейной зависимости аналитического сигнала от концентрации или количества определяемого вещества в анализируемой пробе в пределах аналитической области методики.

При проведении теста должна быть установлена линейная зависимость аналитического сигнала от радиохимической чистоты в анализируемой пробе. Выполнение этого теста связано с оценкой линейности детектора регистрации радиоактивности в диапазоне применения аналитической методики.

Таблица 2.1

Характеристики, оцениваемые при валидации методики определения радиохимической чистоты

№	Характеристика методики	Радиохимическая чистота
1	Селективность	+
2	Предел обнаружения	+
3	Предел количественного определения	+
4	Линейность	+
5	Правильность (точность)	+
6	Прецизионность:	
	- повторяемость (сходимость)	(+)
	-промежуточная (внутрилабораторная прецизионность)	(+)
7	Диапазон применения	+

Примечание."+"- определение предусмотрено; "-"- определение не предусмотрено; "(+)"- определение не всегда возможно

Прецизионность (повторяемость и Внутрилабораторная воспроизводимость), как правило, зависит от радиохимической чистоты аналита, и поэтому ее необходимо определять в нескольких точках во всем исследуемом диапазоне. Этими точками могут быть некоторая заданная радиохимическая чистота (например, регуляторный предел) и пределы интервала измерения. При необходимости нужно установить соотношение между прецизионностью и радиохимической чистотой аналита. Если измеренная радиохимическая чистота существенно превышает предел обнаружения, прецизионность часто бывает пропорциональна радиохимической чистоте аналита. В таких случаях прецизионность целесообразно выражать через относительное стандартное отклонение,

поскольку оно будет приблизительно постоянным во всем исследуемом диапазоне.

Оценка прецизионности требует проведения достаточного количества многократных измерений на подходящих образцах. Образцы должны быть близки к исследуемым пробам по матрице, радиохимической чистоте аналита, однородности и стабильности, но это не обязательно должны быть аттестованные стандартные образцы. Многократные измерения должны быть независимыми, т.е. должен быть повторен полный процесс измерения, в том числе все этапы подготовки пробы.

Обычно при разработке оригинальной методики определяется повторяемость результатов, получаемых с ее использованием. При необходимости включения разработанной методики в нормативную документацию дополнительно определяется ее Внутрилабораторная (прецизионность) воспроизводимость.

Повторяемость – выполняется одним аналитиком путем анализа 10 частей одного и того же образца с 5 различными нанесенными активностями.

Внутрилабораторная воспроизводимость – оценивается по результатам 3-х анализов, выполняемых параллельно двумя аналитиками.

2.4.1. Проверка соответствия повторяемости и внутрилабораторной прецизионности результатов анализа требованиям методики с использованием одной однородной рабочей пробы

Отбор рабочей пробы проводится в количестве, достаточном для получения N результатов единичного анализа ($N \geq 16$). Содержание определяемого компонента в рабочей пробе должно находиться в проверяемом поддиапазоне (диапазоне) измерений. В условиях повторяемости получаются N результатов единичного анализа (параллельных определений) пробы.

Среднеарифметическое $\bar{X}$ и среднеквадратичное отклонение (СКО)- $S_{r_л}$ результатов параллельных определений рассчитываются по формулам:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^{N} X_i}{N} \qquad (2.4.1)$$

$$S_{r_л} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N} (X_i - \bar{X})^2}{N-1}} \qquad (2.4.2)$$

где $\{X_i, i = 1, N\}$– результаты параллельных определений рабочей пробы; N – число результатов параллельных определений пробы.

Значение критерия Кохрена $G_{m(max)}$ рассчитывается по формуле:

$$G_{m(\max)} = \frac{(S^2{}_r)_{\max}}{\sum_{l=1}^{L} S^2{}_r} \qquad (2.4.3)$$

Значение $G_{m(max)}$ сравнивается с табличным $G_{табл}$ (см. *таблицу А2.1, Приложение А*). Если $G_{m(max)} > G_{табл}$, то соответствующее $(S^2{}_r)_{\max}$ исключается из дальнейших расчетов.

2.4.2. Точность (Правильность)

Правильность методики характеризуется отклонением среднего результата определений, выполненных с ее использованием, от значения, принимаемого за истинное. Точность оценивается измерением стандартного образца с использованием применяемой методики измерения, либо сравнением полученных результатов с результатами независимой, аккредитованной в данной области лаборатории, либо сравнением результатов двух аналитиков, имеющих многолетний опыт работы в данной области. В связи с неимением двух первых методов нами был использован последний. Измерение точности методики было выполнено двумя опытными аналитиками: Аналитик-1 и Аналитик-2. Дополнительно правильность подтверждается путем межлабораторного сличения хотя бы 1 раз в течение года.

Показатель точности результатов анализа – это значение неопределенности или характеристики погрешности, установленное для любого результата анализа, полученного при соблюдении требований и правил данной методики при ее реализации в конкретной лаборатории.

Оценка показателя точности может быть проведена с использованием экспериментальных исследований, а также на основе априорной информации о составляющих бюджета неопределенности (характеристиках погрешности), влияющих на результат измерений. Экспериментальные исследования проводятся с использованием образцов веществ, материалов, объектов (в том числе стандартных образцов или аттестованных смесей) или образцов, имитирующих вещества, материалы, объекты, необходимых для установления показателей качества методики анализа. На основе экспериментальных исследований может быть проведена оценка показателя воспроизводимости, показателя повторяемости, показателя правильности (смещения и его неопределенности – неисключенных остатков систематической погрешности).

2.4.3. Неопределенность измерения

На правильность метода влияет погрешность спектрометра, температура окружающей среды, погрешность дозатора, погрешность весов. Учитывая все эти средства измерения, рассчитывается неопределенность метода.

Критерий приемлемости: полученные значения результатов исследования не должны превышать или снижаться от максимально допустимого уровня, на величину меньшую или большую значения, чем расширенная неопределённость.

Суммарная стандартная неопределенность *некоррелированных* величин рассчитывается по формуле:

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^{N} \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \cdot u^2(x_i)}, \qquad (2.4.4)$$

где $u(x_i)$ – стандартная неопределенность; $c_i = \partial f / \partial x_i$ -коэффициент чувствительности.

Расширенная неопределенность *U* [84] получается путем умножения суммарной стандартной неопределенности выходной величины $u_c(y)$ на коэффициент охвата *k (см. таблицу А2.2, Приложение А)*:

$$U = k \times u_c(y) \quad (2.4.5)$$

2.4.4. Гарантия качества продукции

Предположим, что качество продукции регламентируется предельными значениями $РХЧ_{min}$ и $РХЧ_{max}$ величины РХЧ, которая определяется на основании результатов анализа.

$$РХЧ_{min} < РХЧ < РХЧ_{max} \quad РХЧ_{min} = РХЧ - \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{n}} \quad (2.4.6)$$

$$РХЧ_{max} = РХЧ + \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{n}} \quad (2.4.7)$$

где РХЧ- радиохимическая чистота; *U*- коэффициент для вероятности;
P- вероятность 95%; s- стандарт отклонения; *n*- количество образцов.
Значение коэффициента *U* для вероятности *P* = 95 % соответственно равно 1,65 [85].

Выводы по второй главе

В данной главе диссертации приведены перечень, описание, характеристики и классификация реактивов, расходных материалов и основного оборудования, использованных в исследованиях по контролю качества радиофармпрепаратов на основе йода-125, йода-131 и лютеция-177.

Представлены техника выполнения экспериментов, методики измерений, формулы расчетов, использованные для определения радиохимической чистоты и удельной активности радиофармпрепаратов на основе йода-125, йода-131 и лютеция-177.

Приведены методы и параметры, по которым проводилась валидация разработанных методик, методики выполнения оценки точности измерений, неопределенности полученных результатов, гарантии качества продукции и др. параметров.

ГЛАВА 3. АНАЛИТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ РАДИОНУКЛИДА ЙОД-125 И ЙОД-131

Аналитический контроль радиофармацевтических препаратов включает в себя определение радиохимической чистоты и удельной активности конечной продукции. Обычно радиохимическая чистота препарата (или радионуклидная чистота) показывает наличие или отсутствие, вернее, концентрацию основного радионуклида по отношении к другим примесным радионуклидам.

3.1. Радиохимическая чистота препарата

Для определения радиохимической чистоты радионуклидов йода нами были использованы различные вариации тонкослойной и бумажной хроматографии, электрофореза.

3.1.1. Тонкослойная хроматография

Техника выполнения экспериментов примерно одинакова. Отличительной чертой различных методик анализа является использование комбинации разных растворов в качестве подвижной фазы и разных пластинок, в качестве неподвижной фазы, в которых используются различные носители (силикагель, кизильгель, окись алюминия и др.) и различные материалы оснований (стекло, алюминиевая пластина и различные полимерные пластины). В наших экспериментах с использованием тонкослойной хроматографии в качестве неподвижной фазы использовали пластинки DC-Alufolien Kieselgel 60, а в качестве подвижной фазы смесь различных растворов в зависимости от радионуклидов йода.

3.1.1.1. Определение радиохимической чистоты препарата на основе йод-125 тонкослойной хроматографией

Определение радиохимической чистоты препарата натрия йодида с йодом-125 тонкослойной хроматографией проводилось в соответствии с методикой авторов работы [26; с. 62-64]. Ими была использована пластина Merck Silica Gel-60 с алюминиевой подложкой. Исследуемый нами препарат йодида натрия с йодом-125 разбавлялся до объемной активности 370 МБк/мл, отбирались 6 аликвот с активностью $3{,}7 \cdot 10^5$ Бк и наносились на пластину. На листе длиной 13 см и шириной 5 см, предварительно пропитанной $Na_2S_2O_3$ (20 мг/мл) для ингибирования окисления радиоактивного йода до летучей формы, карандашом на расстоянии 2 см от нижнего конца аккуратно наносилась стартовая линия. 1-2 мкл реакционной смеси наносились микропипеткой в виде небольшого пятна посередине стартовой линии. Пятно сушилось под инфракрасной лампой. Проявляющий растворитель помещался на дно герметичной хроматографической банки. Пластина для ТСХ подвешивалась в сосуде с другого конца и погружалась в растворитель. После полного развития фронта растворителя почти до 10 см (45-60 мин) лист высушивался и разрезался на сегменты по 1 см. Полученные сегменты подсчитывались на гамма-счетчике. Для выбора наиболее подходящего растворителя для разделения $^{125}I^-$ и $^{125}IO_3^-$ было испытано несколько растворителей. В работе [26] в качестве проявляющего растворителя использовали свежую смесь н-бутанола : уксусной кислоты : воды (4:1:1). R_f равны 0,9 и 0,2 соответственно. По результатам авторов работы [26] радиохимическая чистота препарата составила не менее 98,0%. Результаты измерений представлены в *таблице Б3.1 (Приложение Б)* и на рис. 3.1. Для каждой хроматографической пластины (ХП) значение РХЧ определялось по формуле (2.3.1). Относительная погрешность составила $\bar{\varepsilon}$=0,38% при среднем значении РХЧ = 92,5±0,85%. Расширенная неопределенность составила u_p=0,85%, а суммарная – u_c=0,425 %.

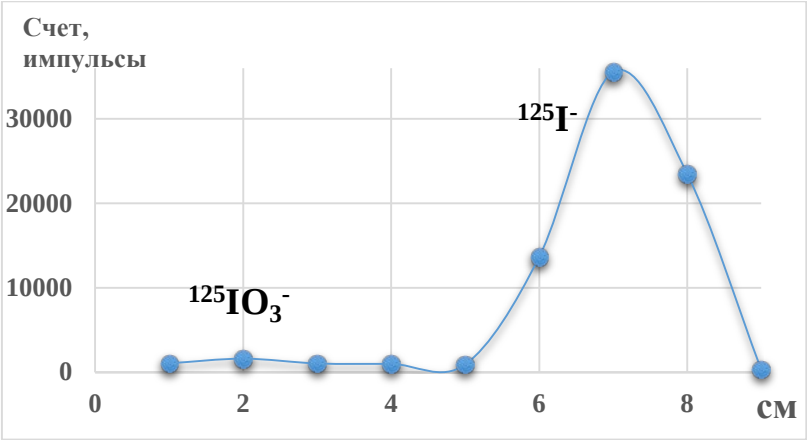

Рис.3.1. Хроматограмма препарата натрия йодида с йодом-125

Согласно нормативным требованиям РХЧ составляет 98 %, а среднее значение РХЧ в наблюдаемом эксперименте составило 92,5 %, что невозможно применить даже при уровне требований с точностью 5 %.

Результаты измерений пятикратной тонкослойной хроматографии показали, что число импульсов в участках не соответствующих формам $^{125}I^-$ и $^{125}IO_3^-$ намного превышало фоновые значения. Это подтверждает то, что ионы йода $^{125}I^-$ передвигаются неравномерно в одной точке хроматограммы, что привело к повышению фоновых значений свободных участков хроматограмм. Полученное таким образом значение радиохимической чистоты препарата не превышало 92,5 ± 0,85%. Результаты, полученные этим методом, также не соответствовали требованиям нормативных документов. Требовалось разработать воспроизводимую методику определения радиохимической чистоты.

3.1.1.2. Определение радиохимической чистоты препарата на основе йод-131 тонкослойной хроматографией

Определение РХЧ препарата проводили следующим образом. Из раствора с объемной активностью 100 МБк/мл отбирали 6 аликвот с активностью $5 \cdot 10^4$ Бк и наносили на хроматографические полоски. Для этого использовали хроматографические тонкослойные пластинки Merck Silica Gel-

60. Пластинку разрезали на полоски длиной 100 и шириной 15 мм. Небольшой объем (0,5 мкл) препарата (^{131}I) наносили микропипеткой на линию старта (10 мм от одного конца тонкослойной пластинки) и давали высохнуть. Пластинки стартовой стороной погружали в закрытую хроматографическую камеру, содержащую 10 мл подвижной фазы, состоящей из смеси хлороформ : метанол : гидроксид аммония в соотношении 6:3,5:0,5. Хроматографическое разделение проводили в течение 30 мин, пока фронт подвижной фазы не дойдет до уровня 90-95 мм от стартовой линии. Пластинки извлекали, высушивали при комнатной температуре и разрезали на сегменты по 1 см. Гамма активность полученных сегментов измеряли на одноканальном γ - счетчике. Разница значений R_f йод-131 в йодид ($^{131}I^-$) и йодат форме ($^{131}IO_3^-$) составила 0,7 и 0,1±0,02.

Полученные результаты хроматограммы представлены в *таблице Б3.2* (*Приложение Б)* и на рисунке 3.2. РХЧ, рассчитанная по формуле 2.3.1, составила 99,2±0,2%, относительная погрешность $\bar{\varepsilon}$=0,031%. Расширенная неопределенность составила u_p=0,2%, суммарная неопределенность u_c=0,1 %.

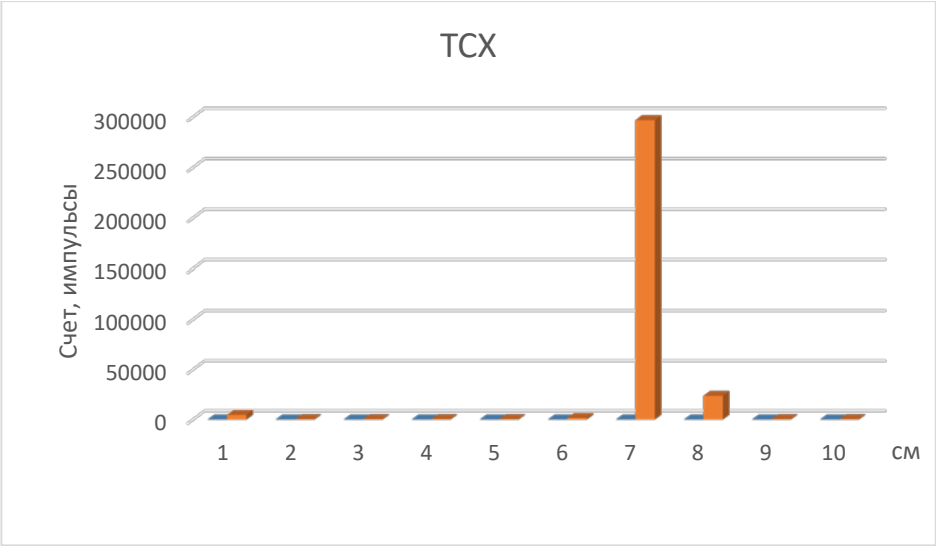

Рис.3.2. Радиохроматограмма препарата йодида натрия с йодом-131

Как видно из гистограммы, минимальное расстояние между пиком $^{131}I^-$ (основной) и $^{131}IO_3^-$ (побочный) составляет 4 см, поэтому их взаимное влияние исключено. Соответственно методика дает достоверный результат.

3.1.2. Бумажная хроматография

3.1.2.1. Определение радиохимической чистоты препарата на основе йод-125 бумажной хроматографией

Объемная активность исследуемого препарата для нанесения на ХП, составляла 100 МБк/мл, при этом активность каждой ХП составляла $1\cdot 10^5$ Бк.

При определении радиохимической чистоты с применением метода бумажной хроматографии использовался метод восходящей бумажной хроматографии согласно предложенной методике [29]. В качестве носителя использовался раствор из смеси йодида, йодата и карбоната натрия, а в качестве подвижной фазы - смесь метанола с водой. В качестве неподвижной фазы использовалась хроматографическая бумага марки Ватман №1, которая готовилась следующим образом: бумага разрезалась на полоски длиной 40 см и шириной 2 см, которые пропитывались раствором метанола в воде (в соотношении 3:1) и подсушивались в вытяжном шкафу. Носитель объемом 10-20 мкл и проба препарата объемом 1-2 мкл наносились на ХП в виде пятна на расстоянии 2 см от ее края. Хроматографический процесс проводился в закрытой камере в течение 4-6 ч, пока фронт подвижной фазы не дошёл до уровня 28-30 см от стартовой линии [29]. Затем полоски хроматографической бумаги вынимались из хроматографической камеры, высушивались, обклеивались с двух сторон полиэтиленовой пленкой с липким слоем, разрезались на отрезки по 1,0 см и поочередно измерялось γ-излучение каждого отрезка.

Из проявленной хроматограммы определялось распределение активности химических форм йодида ($^{125}I^-$), йодата ($^{125}IO_3^-$) в препарате. Значения (R_f) различных форм ионов йода следующие: основного йодида $^{125}I^-$ -R_f=0,8; примесного йодата $^{125}IO_3^-$ - R_f=0,4. Полученная в результате хроматограмма представлена на рисунке 3.3. Для каждой ХП определялось значение РХЧ по формуле (2.3.1). При среднем значении РХЧ =99,0$\pm\mathbf{0,45}$ %

относительная погрешность составила $\bar{\varepsilon}$=0,15% Расширенная неопределенность – u_p=0,45%. Суммарная неопределенность – u_c=0,225 %.

$$\text{РХЧ} = \frac{\mathbf{22021}}{\mathbf{22235}} \times \mathbf{100\%} = \mathbf{99 \pm 0,45}\ \%$$

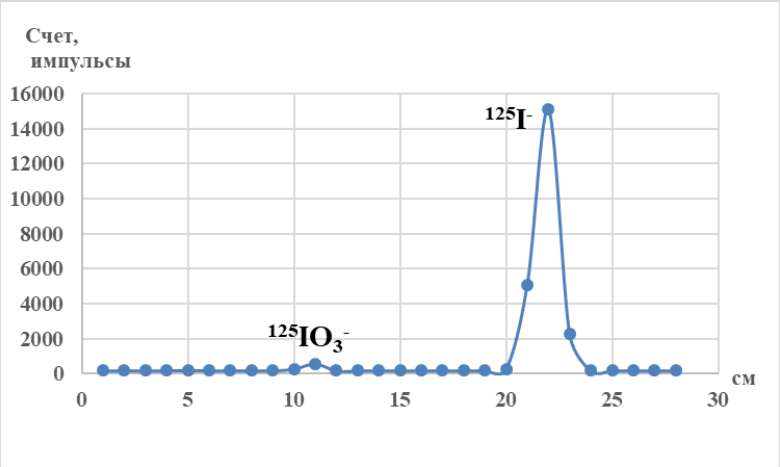

Рис.3.3. Хроматограммы и результаты, полученные для препарата натрия йодида с йодом-125 (n=6, P=0.95)

При этом радиохимическая чистота препарата йодида натрия с йодом-125 составила 99,0%±0,45%, но время хроматографирования не менее 5 часов, а это является одним из сдерживающих факторов применения этой методики в процессе производства радиоактивных субстанций и радиоактивных фармацевтических препаратов, что требует разработки экспрессно-доступных, точных и воспроизводимых методик анализа радиохимической чистоты препаратов.

3.1.2.2. Определение радиохимической чистоты препарата на основе йод-131 бумажной хроматографией

Для определения радиохимической чистоты препарата из раствора с объемной активностью100 МБк/мл отбирали 6 аликвот с активностью $5 \cdot 10^4$ Бк и наносили хроматографическую полоску, приготовленную следующим образом. Хроматографическую бумагу марки Whatman 3ММ разрезали на полоски длиной 100 и шириной 15 мм, линию старта устанавливали отступив

от одного из краев на 10 мм. Пробу препарата объемом 0,5 мкл наносили на линию старта. После высушивания пятна проводили хроматографирование. В качестве подвижной фазы использовали раствор н-бутанол : уксусная кислота : вода в объемном соотношении 7,5:3:1,5. Хроматографический процесс проводили в течение 40 мин в закрытой камере, фронт подвижной фазы должен быть до уровня 90-95 мм от стартовой линии. Полученную хроматограмму высушивали при комнатной температуре и разрезали на полоски шириной 1 см, после чего γ-активность каждой полоски измеряли на γ-счетчике. Суммарная радиоактивность йодид ($^{131}I^-$) ионов должна быть не менее 95,0% от общей радиоактивности. Значения R_f: основного продукта, йодид ^{131}I ионов 0,7±0,02; побочного продукта, йодат ионов ($^{131}IO_3^-$) 0,1±0,02. Эксперименты показали, что измеренная данным методом РХЧ препарата составила 99,2±0,2% (см. *таблицу Б3.3, Приложение Б*).

Расчет РХЧ проводили по формуле (2.3.1). Относительная погрешность составила $\bar{\varepsilon}$=0,038% при среднем значении РХЧ =99,2%. Расширенная неопределенность составила u_p=0,2%. Суммарная неопределенность составила u_c=0,1 %. Гистограмма, полученная по данным распределения ^{131}I по длине радиохроматограммы при измерении на радиометрическом приборе каждого отрезка (1 см), приведена на рис.3.4.

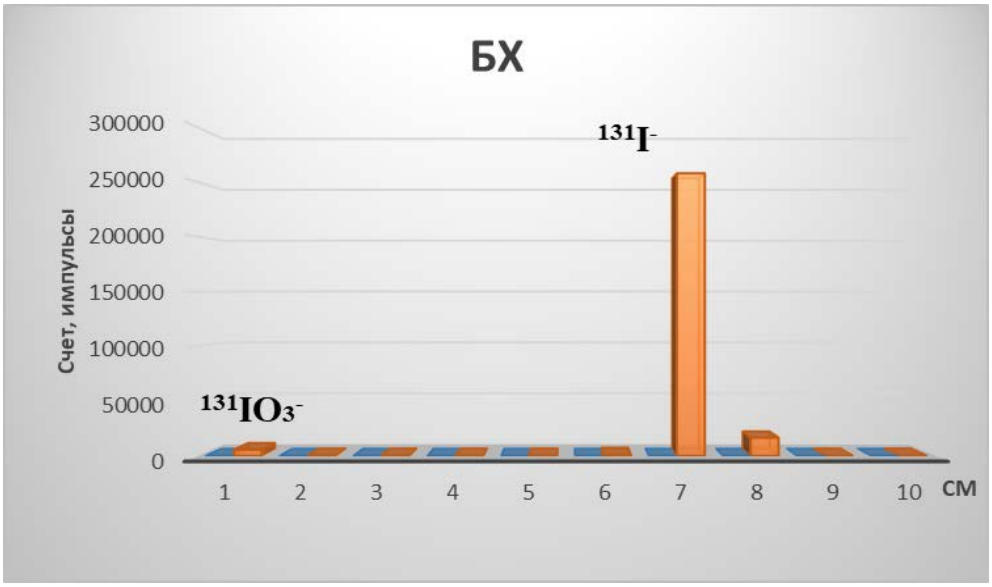

Рис.3.4. Радиохроматограмма препарата йодида натрия с йодом-131

Как видно из гистограммы, минимальное расстояние между пиком $^{131}I^-$ (основной) и $^{131}IO_3^-$ (побочный) составляет 4 см, поэтому взаимное влияние исключено. Результаты измерений бумажной хроматографии показали, что разница R_f йодид ($^{131}I^-$) и йодат ($^{131}IO_3^-$) ионов составляет 0,6. Кроме этого число импульсов в участках, не соответствующих формам йодида ($^{131}I^-$) и йодата ($^{131}IO_3^-$), не превышало уровни фоновых значений, что исключает влияние помех на результат радиохимической чистоты готовой продукции. Об этом говорит и тот факт, что разделение ионов йодида ($^{131}I^-$) и йодата ($^{131}IO_3^-$) в указанных условиях четкое и воспроизводимое. В результате полученное таким образом значение радиохимической чистоты препарата составило 99,2±0,2%.

3.1.3. Электрофоретическое определение радиохимической чистоты препарата на основе йод-125 и йод-131

Радиохимическую чистоту препаратов на основе радионуклидов йод-125 и йод-131 можно определить методом жидкостного электрофореза. В этом случае в качестве электролитов используется фосфатный буферный раствор с pH = 7,0±0,2 и буферный раствор карбоната натрия с pH = 10,6±0,2.

1. В случае электролита фосфатного буферного раствора с pH = 7,0±0,2 в качестве носителя использовалась смесь гидрокарбоната натрия, йодида калия и йодноватого кислого калия, приготовленная путем поочередного растворения в 100 мл бидистиллированной воды 1,0 г $NaHCO_3$, 0,2 г KIO_3 и 0,1г KI, а приготовление электролита фосфатного буферного раствора осуществлялось растворением 3,3 г калия фосфорнокислого однозамещенного и 6,0 г натрия фосфорнокислого двузамещенного безводного в 1 л бидистиллированной воды. Для определения распределения активности ^{125}I и ^{131}I по электрофореграмме использовалось γ-радиометрическое устройство. Анализируемый препарат разбавлялся до объемной активности 370 МБк/мл,

из которого отбирались 6 аликвот для проведения электрофореза, активность каждой ХП $3{,}7 \cdot 10^5$ Бк [86].

Хроматографическая бумага марки «С» готовилась следующим образом: бумага разрезалась на полоски размером 15 х 250 мм, отступив от одного из краев на 50 мм (стартовая линия) наносился носитель объемом 10-20 мкл. После высушивания на воздухе на то же место наносилась проба препарата объемом 1-2 мкл. Полоска увлажнялась фосфатным буферным раствором с pH =7,0 + 0,2. Бумажная полоска с нанесенной пробой помещалась в камеру прибора для электрофореза так, чтобы линия старта располагалась со стороны катода, и проводилось разделение при охлаждении камеры электрофореза со льдом в течение 50 мин при градиенте потенциала 16 В/см, в качестве электролита использовался фосфатный буферный раствор с pH = 7,0±0,2. После проявления полоску высушивали под вытяжным шкафом, обклеивали с двух сторон полиэтиленовой лентой с липким слоем, разрезали на куски длиной по 1,0 см и измеряли скорость счета этих кусков на счетной установке с детектором гамма излучения.

Из проявленной хроматограммы определялось распределение активности химических форм йодида ($^{125}I^-$ и $^{131}I^-$) и йодата ($^{125}IO_3^-$ и $^{131}IO_3^-$) по длине хроматограммы и по соотношению площадей пиков, соответствующих основной и примесным химическим формах йодида, и вычислялась радиохимическая чистота препарата. Значения R_f ионов йода следующие: $^{125}I^-$; $^{131}I^-$ - R_f=0,7-0,9 и $^{125}IO_3^-$;$^{131}IO_3^-$ - R_f=0,3-0,4. Полученные результаты электрофореграммы представлены на рис.3.5 и 3.6. Для каждой ХП определялось значение РХЧ по формуле (2.3.1).

Относительные погрешности составили $\bar{\varepsilon}$=0,03% (йод-125) и $\bar{\varepsilon}$=0,044% (йод-131) при среднем значении РХЧ=99,5±0,4% (йод-125) и 99,5±0,2% (йод-131). Расширенные неопределенности составили u_p=0,4% (йод-125) и u_p=0,2% (йод-131). Суммарная неопределенность составила u_c=0,2 % (йод-125) и u_c=0,1 % (йод-131).

Для сравнения, измерение разрезанных кусков электрофореграммы проводилось на другом рентгеновском спектрометре X-123(Amptek). Значение РХЧ составило 99,4±0,35%. Полученные в результате электрофореграммы представлены на рис. 3.5. Результаты измерений электрофоретическим методом приведены в *таблице Б3.4* (*Приложение Б).*

Гистограммы, полученные по результатам, приведенным в *таблицах Б3.4 и Б3.5 (Приложение Б)*, распределения ^{125}I и ^{131}I по длине электрофореграммы при измерении на радиометрических приборах каждого отрезка, приведены на рис.3.5 и рис.3.6.

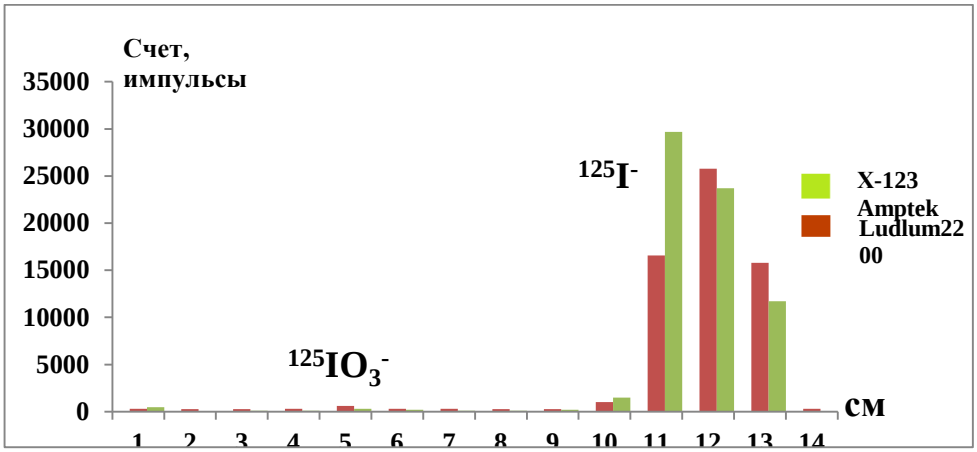

Рис.3.5. Распределение основного ($^{125}I^-$) и побочного ($^{125}IO_3^-$) продукта по длине электрофореграммы (для варианта 1)

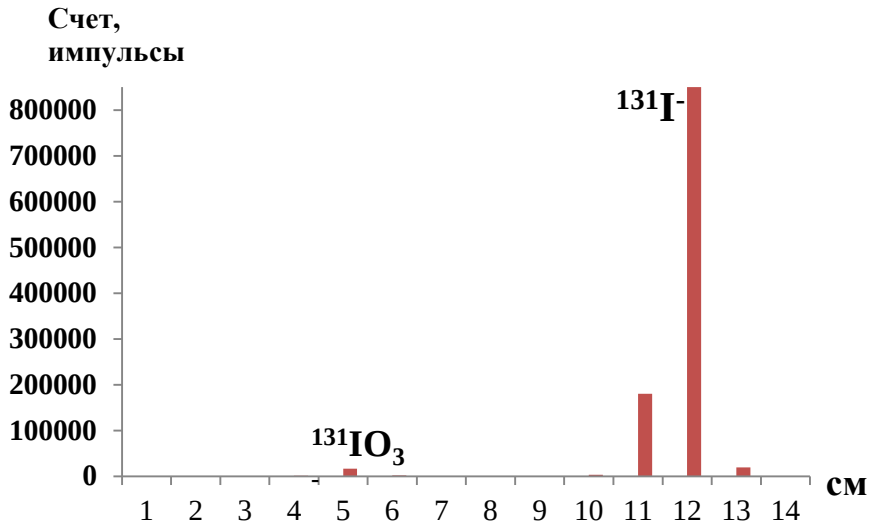

Рис.3.6. Гистограмма распределения активности йода-131 по длине электрофореграммы

Как видно из гистограммы, минимальное расстояние между пиком $^{125}I^-$ и $^{131}I^-$ (основной) и $^{125}IO_3^-$ и $^{131}IO_3^-$ (примесь) составляет 4 см, поэтому взаимное влияние исключено. Соответственно методика дает достоверный результат.

Для препаратов йодида натрия с йодом-125 и йодида натрия с йодом-131 характерно высокое значение РХЧ, т.е. хорошее разделение компоненты при электрофорезе. Рассчитанное значение радиохимической чистоты препарата на двух приборах составило 99,5±0,4% и 99,4±0,35% соответственно, что подтверждает правильность измерений.

Гарантия качества продукции. Реальный средний результат анализа РХЧ образца испытуемого продукта РХЧ = 99,5% (при n=6). Тогда определение пределов $РХЧ_{min}$ и $РХЧ_{max}$, гарантированно характеризующих качество данного образца с заданной доверительной вероятностью $\overline{P}$, проводим, исходя из уравнений (2.4.6) и (2.4.7). При $\overline{P} = 95\%$:

$$РХЧ_{min} = 99.5 - \frac{1,65 \cdot 0,024}{\sqrt{6}} = 99,484 \qquad РХЧ_{max} = 99.5 + \frac{1,65 \cdot 0,024}{\sqrt{6}} = 99,516$$

$$99,484 < РХЧ < 99,516$$

2. В случае использования электролита карбонатного буферного раствора, содержащего 0,05М Na_2CO_3, pH =10,6±0,2, в качестве носителя брали смесь гидрокарбоната натрия, содержащего йодид калия, и йодновато кислый калий. Для определения распределения различных химических форм по активности йода-125 по электрофореграмме использовали γ-радиометрическое устройство.

Для проведения анализа анализируемый препарат разбавляли до объемной активности 370 МБк/мл, из которого отбирали 3 аликвоты для проведения электрофореза, активность каждой полоски $3,7 \cdot 10^5$ Бк. Хроматографическую бумагу марки «С» готовили следующим образом. Бумагу разрезали на полоски размером 15 х 250 мм, отступив от одного из краев на 50 мм (стартовая линия), наносили носитель объемом 10-20 мкл, содержащий в 100 мл раствора 100 мг йодида калия, 200 мг йодата калия и 1 г

бикарбоната натрия. После высушивания пятна на воздухе на то же месте наносили раствор йодида натрия с йодом-125 объемом 1 мкл [87].

При установлении хроматографической полоски на электрофоретическую камеру линию старта полоски установили на катод. Проявляли хроматографическую полоску в камере электрофореза при напряжения 300 вольт в течение 40 мин. По окончании хроматографирования проявленную электрофореграмму снимали и высушивали на воздухе и определяли распределение радиоактивных веществ путем измерения каждого отрезка в течение 10 секунд с помощью γ-радиометра. Значение R_f основного иона йода-125 составило 0,7-0,9, в то время как значение R_f примесных ионов $^{125}IO_3^-$ составило 0,3-0,4. Перед каждым измерением 3 раза измеряли фон, по 10 с. Результат усреднялся. Хроматографические пластинки (ХП) разрезали на сегменты по 1 см. Полученные в результате электрофореграммы представлены на рис.3.7. Для каждой ХП определяли значение РХЧ по формуле (2.3.1). Относительная погрешность составила $\bar{\varepsilon}$=0,062% при среднем значении РХЧ=99,5±0,4%. Расширенная неопределенность составила u_p=0,4%, а суммарная неопределенность – u_c=0,2 %. Результаты измерений электрофоретическим методом и гистограмма распределения ^{125}I по длине электрофореграммы, полученная по приведенным данным в таблице Б3.6 (*Приложение Б*), приведена на рис.3.7.

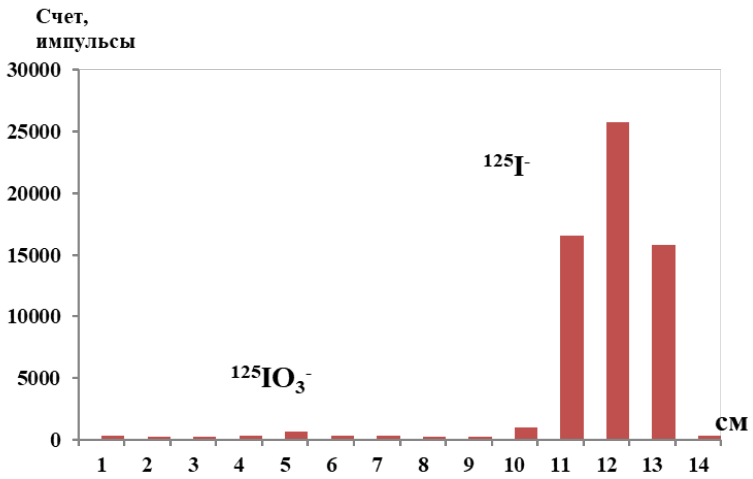

Рис.3.7. Распределение основного ($^{125}I^-$) и побочного ($^{125}IO_3^-$) продукта по длине электрофореграммы (для варианта 2)

Как и в случае с вариантом 1, во втором варианте $^{125}I^-$ и $^{125}IO_3^-$ также четко разделяются с расстоянием на электрофореграмме 4 см. Рассчитанное значение радиохимической чистоты препарата составило 99,5±0,4% соответственно, что подтверждает пригодность методики для определения радиохимической чистоты препарата йодида натрия с йодом-125. В таблице 3.7 приведено среднеквадратичное отклонение (СКО) результатов анализов препарата натрия йодид-125 одной и той же серии разными методами: электрофоретическим, БХ и ТСХ.

По хроматограммам, полученным при проведении анализов различными методами, была оценена воспроизводимость результатов, где отклонения при электрофоретическом, БХ, ТСХ методах составили не более 0,035%, 0,12% и 0,28% соответственно. Это показывает, что при электрофоретическом методе определения радиохимической чистоты воспроизводимость наивысшая.

Таблица 3.7

Определение РХЧ препарата различными методами

Препарат		Методы		
		Электрофоретический	БХ	ТСХ
Натрия йодид с йодом-125	РХЧ, %	**99,5**	**99,0**	**92,5**
	СКО	**0,024**	**0,12**	**0,28**
Натрия йодид с йодом-131	РХЧ, %	**99,5**	**99,2**	**99,2**
	СКО	**0,035**	**0,03**	**0,025**

Исходя из результатов экспериментов по определению радиохимической чистоты нами сделан вывод о том, что самым точным и воспроизводимым методом определения радиохимической чистоты является электрофоретический метод. Для внедрения этой методики для серийного анализа готовой продукции препаратов йодида натрия с йодом-125 без носителя необходимо было её валидировать.

3.1.4. Валидация методики определения радиохимической чистоты препарата йодида натрия с йодом-125, без носителя

Валидация – документированная процедура, дающая высокую степень уверенности в том, что конкретный процесс, метод или система будут последовательно приводить к результатам, отвечающим установленным критериям приемлемости.

Селективность. Определение селективности метода осуществлялось установлением влияния раствора соляной кислоты на результаты измерений радиохимической чистоты препарата йодида натрия с йодом – 125. Проводилось измерение РХЧ $Na^{125}I$ при стандартном условии (pH=10,5) и после добавления соляной кислоты до pH=8,5.

Результаты анализа

Препарат был приготовлен с активностью (A= 1,85 МБк, Av=51800 МБк/мл). Результаты измерений приведены в таблице *Б3.8* (*Приложение Б).*

Среднеквадратное отклонение определения РХЧ препаратов разных pH 10,5 и 8,5:

$$scomb = \sqrt{\frac{s12*(n1-1)+s22*(n2-1)}{n1+n2-2}} = \sqrt{\frac{0{,}109747^2\cdot 9+0{,}164722^2\cdot 9}{10+10-2}} = 0{,}13996 \qquad (3.1.4.1)$$

Вычисления критерия Стьюдента:

$$ttest = \frac{|\bar{x}1-\bar{x}2|}{scomb*\sqrt{\frac{1}{n1}+\frac{1}{n2}}} = \frac{|99{,}6-99{,}48|}{0{,}13996\sqrt{\frac{1}{10}+\frac{1}{10}}} = \frac{0{,}12}{0{,}13996\sqrt{0{,}2}} = \frac{0{,}12}{0{,}0626} = 1{,}92 \quad (3.1.4.2)$$

t Стьюдент при 18 степ. своб. = 2,15 (*таблица Б3.9, Приложение Б).*

$$t_{test} < t_{table}$$

Показано, что при определении селективности измерения РХЧ «Йодида натрия с йодом-125, без носителя» аналитическим методом изменение pH в диапазоне 10,5 и 8,5 не оказывает существенного влияния на РХЧ.

Как приведено в рекомендациях по межгосударственной стандартизации (РМГ 61-2010), если $t_m \leq t_{табл}$, то оценка систематической погрешности незначима на фоне случайного разброса, её принимают равной нулю, t_m=1,92, $t_{таб}$ =2,15 (P=0,9545, *f*=18)

Линейность. При выполнении этого теста строился график зависимости измеренной радиоактивности (аналитический сигнал) участка хроматографической полоски, на который нанесена активность раствора препарата, в интервале от 0,37 до 1,85 МБк, т.е. фактически от расчетной величины нанесенной радиоактивности. Графики зависимости представлены на рисунке 3.8. Анализ приготовленных растворов проведен по методике измерения радиохимической чистоты препаратов с йодом-125 (см. *таблицу Б3.10, Приложение Б*). На основании полученных результатов построен график зависимости радиохимической чистоты от активности, который имеет линейный характер с коэффициентом корреляции, превышающим значение 0,998.

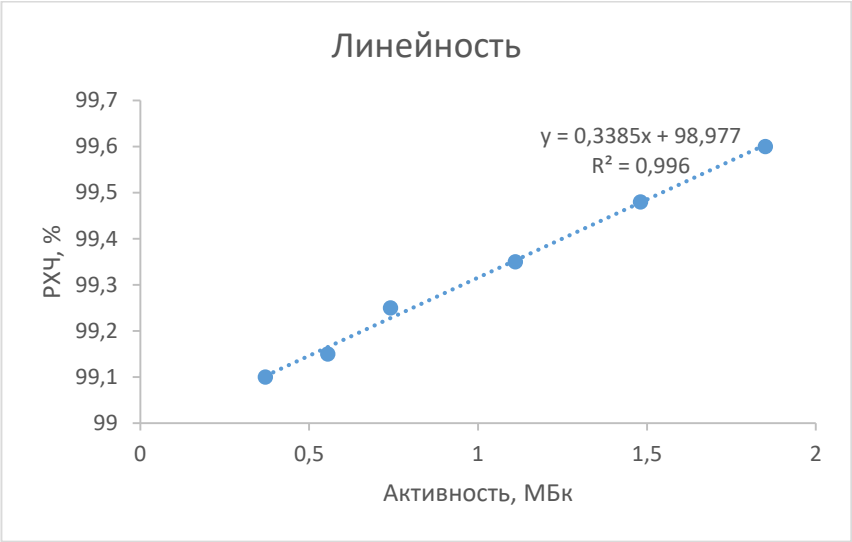

Рис. 3.8. Зависимость значения РХЧ от активности препарата

Критерий приемлемости. Коэффициент корреляции при линейной взаимосвязи переменных должен отличатся от нуля (*r=0 нет линейности, r≠0 есть линейная взаимосвязь между переменными «Радиохимическая чистота/активность»).* Коэффициент корреляции при линейной регрессии

анализа должен быть r≥0,99. Экспериментально показано, что в диапазоне активности от 0,37 до 1,85 МБк существует линейная зависимость аналитического сигнала (РХЧ) от активности определяемого вещества. Точность подбора уравнения регрессии – 99,6 %.

Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность валидируемой методики оценивалась в условиях работы двух аналитиков. Промежуток времени каждого измерения составлял 3 дня (*таблица Б3.11, Приложение Б*).

$$S_r^2 = \frac{\Sigma(X_1 - X_2)^2}{2n} = \frac{0{,}0288}{2 \cdot 8} = 0{,}0018 \qquad (3.1.4.3)$$

$$S_L^2 = \left|\frac{nX_{ср}^2 - (X_2)^2}{n(n-1)} - \frac{S_r^2}{2}\right| = \left|\frac{8 \cdot 79178{,}181 - (795{,}880)^2}{8(8-1)} - \frac{0{,}0018}{2}\right| = \left|\frac{0{,}474}{56} - 0{,}0009\right| = 0{,}0076$$

(3.1.4.4)

$$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2 = 0.0018 + 0.0076 = 0{,}0094 \qquad (3.1.4.5)$$

Предел повторяемости рассчитывался по формуле:

$$r = 2{,}8 \cdot S_r = 0{,}12\ \% \qquad (3.1.4.6)$$

Предел промежуточной прецизионности рассчитывался по формуле:

$$R = 2{,}8 \cdot S_R = 0{,}274226184\ \% \qquad (3.1.4.7)$$

Вычисления значений критерия Кохрена проводились по формуле:

$$G_{m(\max)} = \frac{(S^2{}_r)_{\max}}{\sum_{l=1}^{L} S^2{}_r} = \frac{0.005}{0.0144} = 0{,}3472 \qquad (3.1.4.8)$$

Разница максимального и минимального значения данных, полученных при длительном промежутке времени, не должна превышать предел воспроизводимости. В данном случае разница значений не превышает предела воспроизводимости. Показатели $G_{m(max)}$ меньше табличного $G_{m(таб)}$ значения ($G_{m(max)}$ 0,3472<0,68 $G_{m(таб)}$). Поэтому в дальнейшем рассчитывались все выборки.

Предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО).

Объем наносимой аликвоты раствора должен быть таким, чтобы можно было, используя выбранное средство измерения, статистически достоверно зарегистрировать по крайней мере 0,5% от нанесенной радиоактивности. Исходя из этого, был сделан следующий вывод: всегда можно определить достоверно содержание РХЧ в препаратах, зная ее объемную активность. Для этого тестировалось количество активности йода-125 наносимой аликвоты из раствора йодида натрия с йодом-125 без носителя, которое может быть от 0,37 до 1,85 МБк, а эти факторы зависят от чувствительности детектора.

Расчет активности наносимой пробы раствора йодида натрия с йодом-125 без носителя, в зависимости от объемной активности препаратов, объема наносимой аликвоты, проводился по формуле:

$$A_{ал} = A_v \times V_{ал}, \qquad (3.1.4.9)$$

где $A_{ал}$ — активность нанесенной пробы, МБк; A_v — объемная активность препарата, МБк/мл; $V_{ал}$—объем нанесенной пробы, мкл.

Результаты расчета, выполненные по формуле (3.1.4.9), представлены в *таблице Б3.12* (*Приложение Б).*

Таким образом, если при измерении радиохимической чистоты значения предела обнаружения и предела количественного определения будут составлять 0,126 и 0,42 МБк, то для достоверного определения РХЧ в препаратах с объемной активностью 1850 МБк/мл (минимальное нормированное значение) необходимо наносить на хроматографическую полоску не менее 0,23 мкл анализируемого препарата (*таблица Б3.12, Приложение Б*).

Результаты анализа.

Критерий приемлемости. Определение радиохимической чистоты йода-125 не должно превышать значения рабочего диапазона методики.

$$SKO=\sqrt{\frac{f_1s_1^2+f_2s_2^2+f_3s_3^2+f_4s_4^2+f_5s_5^2+f_6s_6^2}{6\cdot f}}=$$

$$\sqrt{\frac{9\cdot 0{,}02^2+9\cdot 0{,}0125^2+9\cdot 0{,}017^2+9\cdot 0{,}00943^2+9\cdot 0{,}01155^2+9\cdot 0{,}0125^2}{6\cdot 9}}=0{,}0142$$

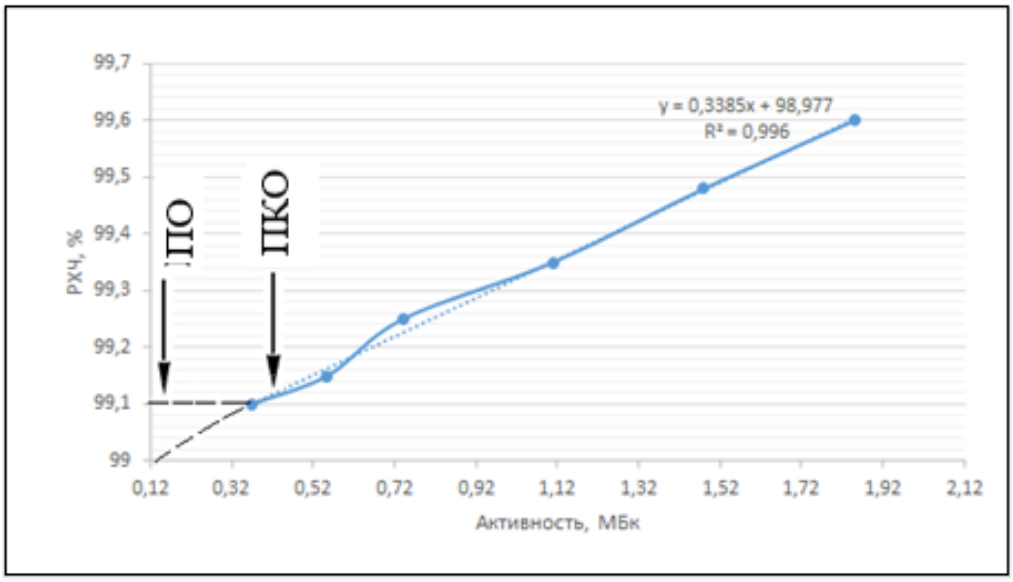

Рис.3.9. Предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО)

Определение предела обнаружения и предела количественного определения:

а) по величине стандартного отклонения сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика

Предел обнаружения (ПО) находили по уравнению:

$$b=\alpha=0{,}3385$$

$$ПО = 3\cdot S/b = 3*\frac{0{,}0142}{0{,}3385}=0{,}126\ \text{МБк}$$

Предел количественного определения (ПКО) находили по уравнению:

$$b=\alpha=0{,}3385$$

$$ПКО = 10\cdot S/b = 10*\frac{0{,}0142}{0{,}3385}=0{,}42\ \text{МБк} \qquad (3.1.4.10)$$

где S – стандартное отклонение аналитического сигнала (в данном случае радиохимическая чистота препарата «Раствор натрий йодид с йодом – 125, без носителя);

b – коэффициент чувствительности, представляющий собой отношение аналитического сигнала (A_v) к определяемой величине (РХЧ) (тангенс угла наклона калибровочной кривой).

Для линейного калибровочного графика значение S принимается равным стандартному отклонению S_r свободного члена уравнения этого графика. Полученное значение предела обнаружения при необходимости может быть подтверждено прямым экспериментом при количествах (концентрациях) определяемого вещества, близких к найденному значению предела количественного определения.

Следовательно:

а) в графике зависимости РХЧ от количества нанесенной активности на хроматографической полоске при визуальной проверке, выбросов, не выявленных регрессией, не имеется. Это доказывает, что рабочий диапазон является линейным;

б) в диапазоне нанесенной активности препарата на хроматографическую полоску в интервале от 0,37 до 1,85 МБк существует линейная зависимость аналитического сигнала от РХЧ определяемого вещества. Точность подбора уравнения регрессии – 99,6%;

с) установлен предел обнаружения (ПО) аналитической методики измерения радиохимической чистоты препарата «Раствор йодида натрия с йодом-125, без носителя», нанесенного на хроматографическую полоску в интервале от 0,37 до 1,85 МБк, который составляет 0,126 МБк;

д) установлен предел количественного определения аналитической методики измерения радиохимической чистоты препарата «Раствор йодида натрия с йодом-125, без носителя», нанесенного на хроматографическую полоску в интервале от 0,37 до 1,85 МБк, который составляет 0,42 МБк.

Точность (Правильность)

Результаты анализа. Результаты измерения Аналитика-2 получены через 30 минут после измерений Аналитика-1 (см. *таблицу Б3.13, Приложение Б*).

Среднеквадратное отклонение измерений двух аналитиков составило:

$$S_c = \sqrt{\frac{0{,}0125^2 \cdot 9 + 0{,}08^2 \cdot 9}{10+10-2}} = 0{,}0573 \qquad (3.1.4.11)$$

Критерий Стьюдента:

$$t_m = \frac{|99{,}6-99{,}55|}{0{,}0573\sqrt{\frac{1}{10}+\frac{1}{10}}} = \frac{0{,}05}{0{,}0573\sqrt{0{,}2}} = \frac{0{,}05}{0{,}025625} = 1{,}95 \qquad (3.1.4.12)$$

В соответствии с РМГ 61-2010, если $t_m \leq t_{табл}$, то оценка систематической погрешности незначима на фоне случайного разброса, ее принимают равной нулю. t_m=1,95, $t_{таб}$ =2,1 (P=0,95, *f*=18).

Диапазон применения. «Рабочий диапазон» - это интервал, в пределах которого метод обеспечивает результаты с приемлемой неопределенностью, представлен на рис. 3.10, результаты анализа приведены в *таблице Б3.14* (*Приложение Б*).

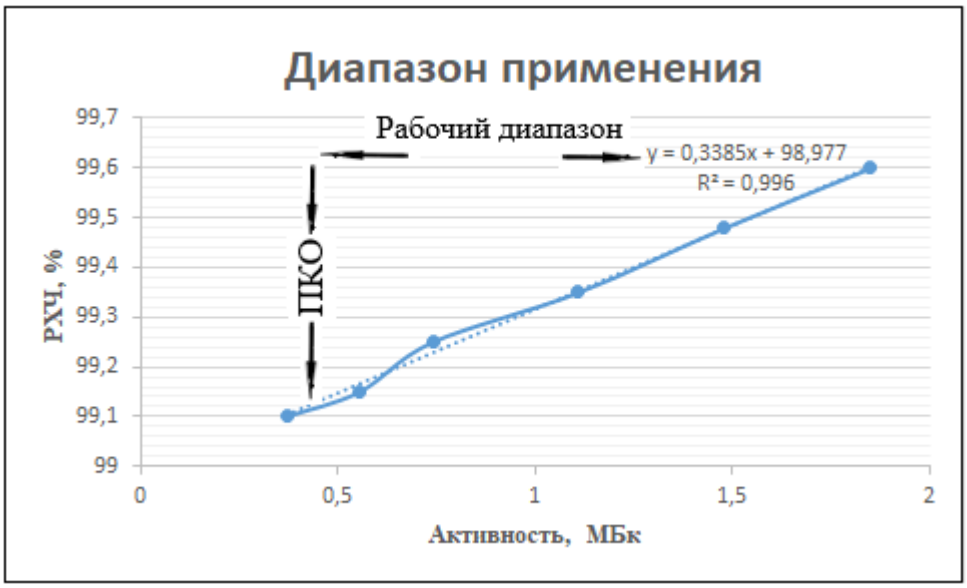

Рис.3.10. Диапазон применения

В диапазоне активности наносимой пробы от 0,37 до 1,85 МБк существует линейная зависимость аналитического сигнала (РХЧ) от примеси

определяемого вещества. Рабочий диапазон методики охватывает интервал от 99,1% до 99,6%, в этом диапазоне доверительный интервал составляет ±0,06 при доверительном уровне P=0,95 с коэффициентом охвата k=2. Точность подбора уравнения регрессии - 99,6%.

Неопределенность измерения. Результаты расчета неопределенности представлены в таблице *Б3.15* (*Приложение Б*).

Рассчитанное значение суммарной стандартной неопределенности составило:

$$u_{c_{\text{рхч}}} = \sqrt{\text{СУММКВ}(0{,}00998 : 0{,}00596)} = 0{,}03$$

Расширенная неопределенность

Для доверительного уровня P=95% коэффициент охвата равен k=2

$$u_p = k \cdot u_c = 2 \cdot 0{,}03 = 0{,}06\ \%$$

3.1.5. Валидация методики определения радиохимической чистоты препарата йодида натрия с йодом-131, без носителя

Селективность. Измерение РХЧ $Na^{131}I$ проводилось при стандартном условии (pH=11) и после добавления соляной кислоты до pH=8,5 (см. *таблицу Б3.16, Приложение Б)*. Абсолютная и объемная активность препарата составляли A= 1,85 МБк и Av=3700 МБк/мл соответственно.

Среднеквадратное отклонение определения РХЧ препаратов разных pH 11 и 8,5:

$$scomb = \sqrt{\frac{s_1^2 * (n_1 - 1) + s_2^2 * (n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}} = \sqrt{\frac{0{,}921135^2 \cdot 9 + 0{,}06307^2 \cdot 9}{10 + 10 - 2}} = 0{,}07894$$

Критерий Стьюдента:

$$ttest = \frac{|\bar{x}1 - \bar{x}2|}{scomb * \sqrt{\frac{1}{n1} + \frac{1}{n2}}} = \frac{|99{,}5 - 99{,}44|}{0{,}07894\sqrt{\frac{1}{10} + \frac{1}{10}}} = \frac{0{,}06}{0{,}07894\sqrt{0{,}2}} = \frac{0{,}06}{0{,}0353} = 1{,}7$$

t Стьюдент при 18 степ. своб. = 2,15

$$t_{test} < t_{table}$$

При определении селективности измерения РХЧ аналитическим методом «Йодид натрия с йодом-131, без носителя» изменение pH в диапазоне 11 и 8,5 не оказывает существенного влияния на РХЧ. При $t_m \leq t_{\text{табл}}$ оценка

систематической погрешности незначима на фоне случайного разброса, ее принимают равной нулю. t_m=1,7, $t_{таб}$ =2,15 (P=0,9545, *f*=18).

Линейность. При выполнении этого теста строился график зависимости измеренной радиоактивности (аналитический сигнал) участка хроматографической полоски, на который нанесена аликвота раствора препарата, в интервале от 0,37 до 1,85 МБк, т.е. фактически от расчетной величины нанесенной радиоактивности.

Анализ приготовленных растворов проводился по методике измерения радиохимической чистоты препаратов с йодом-131 (*таблица Б3.17, Приложение Б*). Построенный график зависимости радиохимической чистоты от активности (см. рис. 3.11) имеет линейный характер с коэффициентом корреляции, превышающим значение 0,997.

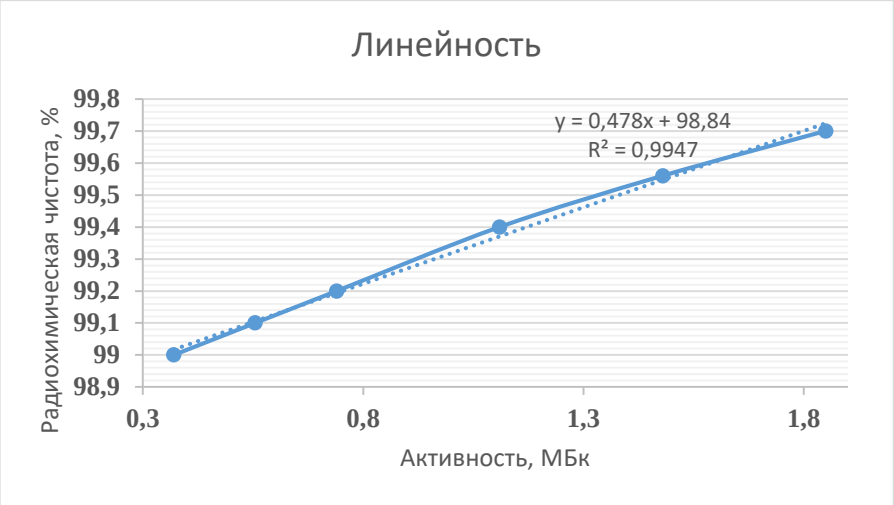

Рис 3.11. Зависимость значения РХЧ от активности препарата

Критерий приемлемости. Экспериментально показано, что в диапазоне активности от 0,37 до 1,85 МБк существует линейная зависимость аналитического сигнала (РХЧ) от активности определяемого вещества. Точность подбора уравнения регрессии – 99,47 %.

Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность оценивалась в условиях работы двух аналитиков (см. *таблицу Б3.18, Приложение Б).*

$$S_r^2 = \frac{\Sigma(X_1 - X_2)^2}{2n} = \frac{0{,}0191}{2 \cdot 6} = 0{,}0015917 \ (6)$$

$$S_L^2 = \left|\frac{nX_{ср}^2-(X_2)^2}{n(n-1)} - \frac{S_r^2}{2}\right| = \left|\frac{6\cdot 59418,433-(597,085)^2}{6(6-1)} - \frac{0,001592}{2}\right| = \left|\frac{0,100775}{30} - 0,000796\right| = 0,002638 \ (7)$$

$$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2 = 0.001592 + 0.002638 = 0,00423 \ (8)$$

Предел повторяемости рассчитывали по формуле:

$$r = 2,8 \cdot S_r = 0,112\ \%\ (9)$$

Предел промежуточной прецизионности рассчитывали по формуле:

$$R = 2,8 \cdot S_R = 0,182\ \%\ (10)$$

Значение критерия Кохрена:

$$G_{m(\max)} = \frac{(S^2{}_r)_{\max}}{\sum_{l=1}^{L} S^2{}_r} = \frac{0.0032}{0.00955} = 0,335$$

Разница максимального и минимального значений, полученных при длительном промежутке времени, не должна превышать предела воспроизводимости. Показатели $G_{m(max)}$ меньше табличного $G_{m(таб)}$ значения ($G_{m(max)}$ 0,335<0,781 $G_{m(таб)}$). Поэтому в дальнейших расчетах рассчитывали все выборки.

Предел обнаружения (ПО) и Предел количественного определения (ПКО). Объем наносимой аликвоты раствора должен быть таким, чтобы можно было, используя выбранное средство измерения, статистически достоверно зарегистрировать по крайней мере 0,5% от нанесенной радиоактивности. Поэтому всегда можно определить достоверно содержание РХЧ в препаратах, зная ее объемную активность. Для этого тестировали количество активности йода-131 наносимой аликвоты из раствора йодида натрия с йодом-131, без носителя, которое может быть от 0,37 до 1,85 МБк. Эти факторы зависят от чувствительности детектора.

Расчет активности наносимой пробы раствора йодида натрия с йодом-131, без носителя, в зависимости от объемной активности препаратов, объема наносимой аликвоты, проводился по формуле:

$$A_{ал} = A_v \times V_{ал},$$

где $A_{ал}$ — активность нанесенной пробы, МБк; A_v — объемная активность препаратов, МБк/мл; $V_{ал}$—объем нанесенной пробы, мкл. Результаты расчета представлены в *таблице Б3.19 (Приложение Б)* и на рис.3.12.

Таким образом, если при измерении радиохимической чистоты значения предела обнаружения и предела количественного определения составляют 0,138 и 0,46 МБк, то для достоверного определения РХЧ в препарате с объемной активностью 4033 МБк/мл (минимальное нормированное значение) необходимо наносить на хроматографическую полоску не менее 0,1 мкл анализируемого препарата.

Результаты анализа

Критерий приемлемости. Определение радиохимической чистоты йода-131 не должно превышать значения рабочего диапазона методики.

$$SKO=\sqrt{\frac{f_1 s_1^2+f_2 s_2^2+f_3 s_3^2+f_4 s_4^2+f_5 s_5^2+f_6 s_6^2}{6\cdot f}} =$$

$$\sqrt{\frac{9\cdot 0{,}0184^2+9\cdot 0{,}02173^2+9\cdot 0{,}0187^2+9\cdot 0{,}015635^2+9\cdot 0{,}02667^2+9\cdot 0{,}029^2}{6\cdot 9}} = 0{,}022$$

Определение предела обнаружения и предела количественного определения

а) по величине стандартного отклонения сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика

Предел обнаружения (ПО) находится по уравнению:

$$b=\alpha=0{,}478$$

$$ПО = 3 \cdot S/b = 3 * \frac{0{,}022}{0{,}478} = 0{,}138 \text{ МБк}$$

Предел количественного определения (ПКО) находится по уравнению:

$$b=\alpha=0{,}478$$

$$ПКО = 10 \cdot S/b = 10 * \frac{0{,}022}{0{,}478} = 0{,}46 \text{ МБк}$$

где S – стандартное отклонение аналитического сигнала (в данном случае радиохимическая чистота препарата «Раствор йодид натрий с йодом – 131, без носителя); b – коэффициент чувствительности, представляющий собой отношение аналитического сигнала (A_v) к определяемой величине (РХЧ) (тангенс угла наклона калибровочной кривой).

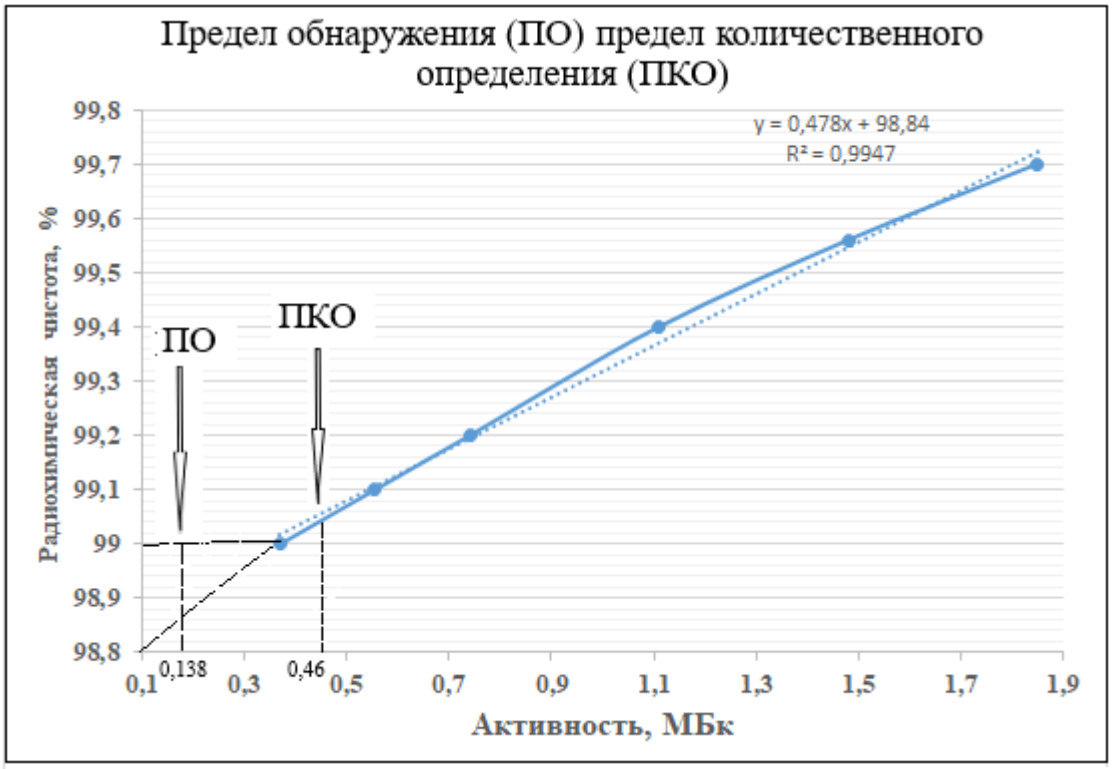

Рис.3.12. Предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО)

Для линейного калибровочного графика значение S принимают равным стандартному отклонению S_r свободного члена уравнения этого графика. Полученное значение предела обнаружения при необходимости может быть подтверждено прямым экспериментом при количествах (концентрациях) определяемого вещества, близких к найденному значению предела количественного определения.

Таким образом:

а) на графике зависимости РХЧ от количества нанесенной активности на хроматографической полоске при визуальной проверке выбросов, не выявленных регрессией, не имеется. Это доказывает линейность рабочего диапазона;

б) в интервале от 0,37 до 1,85 МБк нанесенной активности препарата на хроматографическую полоску существует линейная зависимость аналитического сигнала от РХЧ определяемого вещества. Точность подбора уравнения регрессии – 99,47%;

с) предел обнаружения (ПО) аналитической методики измерения радиохимической чистоты препарата «Раствор йодида натрия с йодом-131, без носителя», нанесенной на хроматографическую полоску в интервале от 0,37 до 1,85 МБк, составляет 0,138 МБк.

д) предел количественного определения (ПКО) аналитической методики измерения радиохимической чистоты препарата «Раствор йодида натрия с йодом-131, без носителя», нанесенной на хроматографическую полоску в интервале от 0,37 до 1,85 МБк, составляет 0,46 МБк.

Точность (Правильность) (см. *таблицу Б3.20, Приложение Б)*

Среднеквадратное отклонение измерений разных приборов:

$$S_c = \sqrt{\frac{0{,}0476^2 \cdot 9 + 0{,}057155^2 \cdot 9}{10+10-2}} = 0{,}0526$$

Вычисления критерии Стьюдента:

$$ttest = \frac{|\bar{x}1 - \bar{x}2|}{scomb * \sqrt{\frac{1}{n1} + \frac{1}{n2}}} = \frac{|99{,}58 - 99{,}55|}{0{,}0526\sqrt{\frac{1}{10} + \frac{1}{10}}} = \frac{0{,}03}{0{,}0526\sqrt{0{,}2}} = \frac{0{,}03}{0{,}02352} = 1{,}3$$

t Стьюдент при 18 степ. своб. = 2,15

$$t_{test} < t_{table}$$

В соответствии с РМГ 61-2010, если $t_m \leq t_{табл}$, то оценка систематической погрешности незначима на фоне случайного разброса, ее принимают равной нулю. t_m=1,3, $t_{таб}$ =2,1 (P=0,95, *f*=18)

Диапазон применения. «Рабочий диапазон» - это интервал, в пределах которого метод обеспечивает результаты с приемлемой неопределенностью *(см. таблицу Б3.21, Приложение Б)* и рис.3.13.

В диапазоне активности наносимой пробы от 0,37 до 1,85 МБк существует линейная зависимость аналитического сигнала (РХЧ) от примеси определяемого вещества. Рабочий диапазон методики охватывает интервал от 99,0 % до 99,7 %, в этом диапазоне доверительный интервал составляет ± 0,14 при доверительном уровне P=0,95 с коэффициентом охвата k=2. Точность подбора уравнения регрессии - 99,38 %.

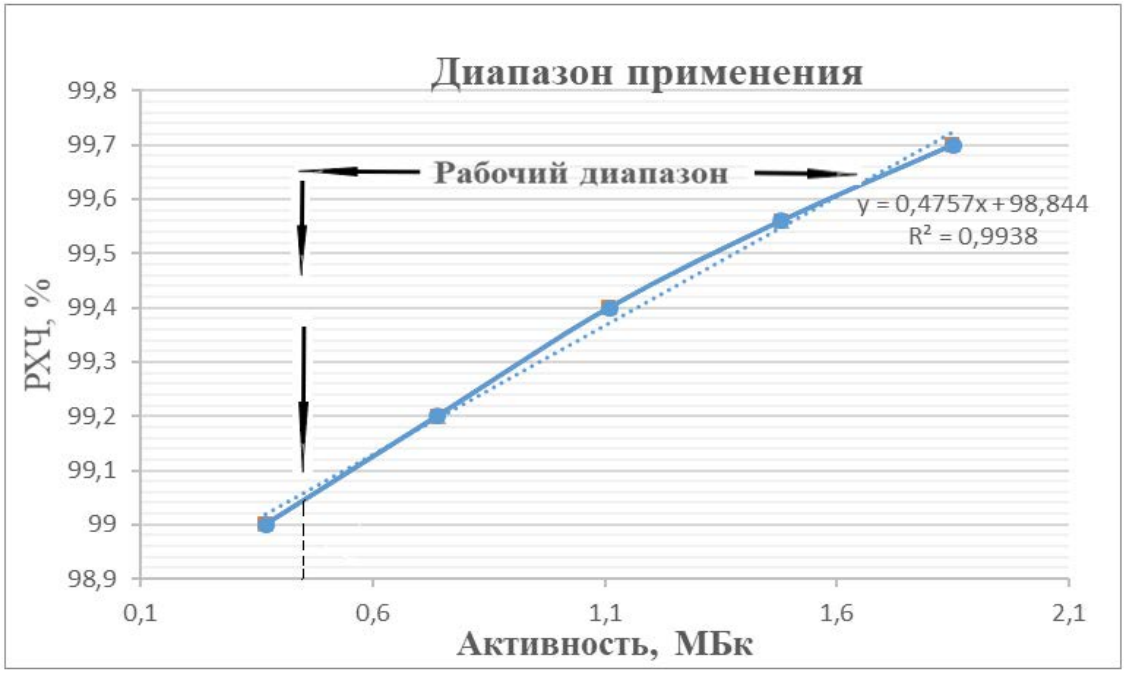

Рис.3.13. Диапазон применения

Неопределенность измерения *(см. таблицу Б3.22, Приложение Б).* Рассчитанное значение суммарной стандартной неопределенности составило:

$$u_{c_{рхч}} = \sqrt{СУММКВ(0{,}01948: 0{,}00303)} = 0{,}07$$

Расширенная неопределенность. Для доверительного уровня P=95% коэффициент охвата равен k=2

$$u_p = k \cdot u_c = 2 \cdot 0{,}07 = 0{,}14\ \%$$

Все проведенные для валидации анализы дали приемлемые результаты, то есть для метода подтверждены повторяемость, воспроизводимость и правильность. Также оба эксперта, владеющие этой стандартной методикой дали приемлемые результаты.

3.2. Определение удельной активности радиофармацевтического препарата на основе радионуклида йод-125 и йод-131

3.2.1. Теоретический расчет удельной активности

Теоретическая удельная активность рассчитывалась по формуле (2.1.6). Удельная активность радионуклида йода-125 с периодом полураспада 59,8 дней составила 17,4 Кюри/мг

$$\text{УА} = \left[\frac{\text{Ки}}{\text{мг}}\right] = \frac{1.303 \times 10^8}{59{,}8 \times 125 \times 1000} = 17{,}4 \text{ Кюри/мг}$$

Удельная активность радионуклида йода-131 с периодом полураспада 8,05 дней составила 123,56 Кюри/мг

$$\text{УА} = \left[\frac{\text{Ки}}{\text{мг}}\right] = \frac{1.303 \times 10^8}{8{,}05 \times 131 \times 1000} = 123{,}56 \text{ Кюри/мг}$$

3.2.2. Спектрофотометрическое определение удельной активности препарата на основе радионуклид йода-125

В мировой практике практическую удельную активность радионуклидов измеряют масс-спектрометрическим методом. Из-за дороговизны оборудования, запасных частей и стандартов, не все лаборатории имеют доступ к такому оборудованию. В связи с этим необходимость разработки доступных методик определения удельной активности радионуклидов йода-125, йода-131 и лютеция-177 остается еще актуальной задачей.

Определение удельной активности йода-125 и йода-131 проводилось спектрофотометрическим методом. Для этого натрия йодид-125 и йодид-131 окисляли йодатом калия до молекулярного состояния в присутствии серной кислоты с последующей экстракцией четыреххлористым углеродом и измерением оптической плотности окисленного молекулярного йода-125 в четыреххлористом углероде. Химическая реакция $CCl_4 + I_2 = I_2[CCl_4]$.

Ход анализа следующий:

Исходный $1 \cdot 10^{-4}$ М раствор йодида калия готовился растворением навески соли KI в бидистиллированной воде. Рабочие растворы йодида получали в день эксперимента разбавлением исходного раствора бидистиллированной водой. Все измерения проводились при температуре 22 ± 1 ºС. Спектры поглощения и оптические плотности йодида измеряли на спектрофотометре MRC UV–1100 в стеклянных кюветах с толщиной слоя раствора ℓ = 1,0 см. Для определения максимального спектра поглощения раствора молекулярного йода в четыреххлористом углероде, измеряли оптическую плотность и коэффициент экстинкции при различной длине волны. Величина молярного коэффициента поглощения установлена расчетным путем для каждого измерения раствора молекулярного йода в четыреххлористом углероде и в качестве раствора сравнения с четыреххлористым углеродом в диапазоне длин волн 400-600 нм с шагом измерений 40 нм. В области максимума светопоглощения проводилось уточненное сканирование спектра с шагом измерений 10 нм. Полученная зависимость показала, что максимум спектра поглощения для молекулярного йода в четыреххлористом углероде достигался в области 520 нм. Результаты исследования представлены на рисунке 3.14. Видно, что для исследованных концентраций йода максимальный спектр поглощения составлял 0,052 при длине волны 520 нм.

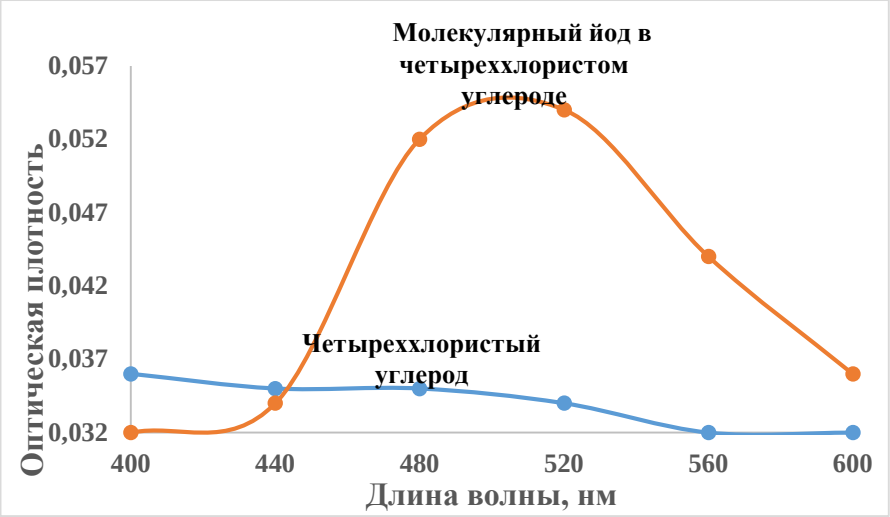

Рис. 3.14. Кривые светопоглощения четыреххлористого углерода и молекулярного йода в четыреххлористом углероде. Концентрации I^-, мкг/л-1,2 ($C_{KI} = 1 \cdot 10^{-4}$М, $C_{H2SO4} = 0.03\ M$, $C_{KIO3} = 0.025\ M$, выдержка при $t_{ком} = 5$ минут)

Составление калибровочного графика. Калибровочные пробы готовили в шести пронумерованных мерных колбах с притертыми пробками вместимостью 25 мл. В мерные колбы вносили определенное количество (см. *таблицу Б3.23, Приложение Б*) стандартного раствора йодида калия ($1x10^{-4}$ М). В шестой колбе находился контрольный раствор сравнения. В каждую из шести колб приливали по 1 мл раствора серной кислоты (0,03 М, H_2SO_4), по 5 мл четыреххлористого углерода (CCl_4) и по 0,4 мл раствора KIO_3 (0,025 М.) [88]. Колбы закрывали пробками и энергично встряхивали в течении 1 мин и через 5 мин сливали окрашенный четыреххлористый экстракт в пробирки с притертыми пробками для анализа. Оптическую плотность каждого раствора измеряли при длине волны 520 нм по отношению к эталонному раствору. Снимали спектры поглощения четыреххлористого углерода и растворенного в нем йода-125. Результаты определения приведены в *таблице Б3.23 (Приложение Б)*.

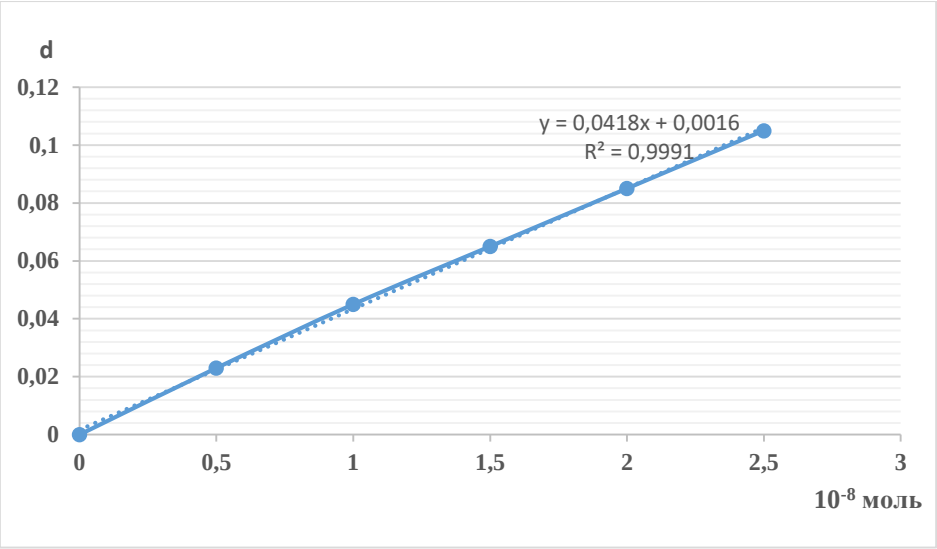

Рис.3.15. Градуировочный график зависимости оптической плотности раствора от концентрации йода

В *таблице Б3.22* (*Приложение Б)* приведены результаты экспериментов - значения оптической плотности калибровочного графика. Видно, что оптическая плотность линейно возрастает в области концентраций йода от $0{,}5\times10^{-8}$ до $2{,}5\times10^{-8}$ моль. На рисунке 3.15 приведена зависимость оптической плотности от концентрации йода в растворе.

Определение предела обнаружения (ПО). ПО определялся по величине стандартного отклонения сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика (рис.3.15) и находился по уравнению:

$$b=\alpha=0{,}041$$

$$ПО = 3{,}3 \cdot S/b = 3{,}3 * \frac{0{,}00236}{0{,}041} = 1{,}9 \text{ нмоль}$$

где S – стандартное отклонение аналитического сигнала (в данном случае оптическая плотность йода в четыреххлористом углероде); b – коэффициент чувствительности, представляющий собой отношение аналитического сигнала (d) к определяемой величине (n) (тангенс угла наклона калибровочной кривой).

Следовательно, разработанный метод позволяет проводить определение йодид-иона с чувствительностью 0,24 мкг/см^3 и суммарной погрешностью измерения не более ±11,7% при доверительной вероятности 0,95, что

обеспечивает определение удельной активности йода-125 в количестве 4,08 мКюри/мл.

Согласно требованиям нормативно-технической документации (НТД) субстанции «Натрия йодида с йодом-125, без носителя», используемая в медицинской практике для изготовления микроисточников и синтеза меченых радиофармпрепаратов удельная активность йода-125 должна составлять не менее 17 Кюри/мг.

Измерение оптической плотности анализируемого раствора препарата йодида натрия, меченого йодом-125, проводится параллельно с измерением оптической плотности калибровочных проб.

Ход анализа:

В две мерные колбы с притертыми пробками, вместимостью 25 мл, вносится 10-20 мКи препарата йодида натрия, меченого йодом-125 и проводятся операции для измерения оптической плотности, как и в случае для калибровочных проб. По калибровочному графику определяется количество йодид ионов в аликвоте препарата с йодом-125 (точка m_x).

Удельная активность рассчитывается по формуле (2.3.2):

$$\text{УА} = \frac{1{,}3 \times 0{,}01}{125 \times 1000 \times 0{,}611 \times 10^{-8}} = 17{,}02 \text{ Кюри/мг}$$

Исследования показали, что спектрофотометрическим методом можно определить удельную активность йода в препарате йодида натрия, меченого радионуклидом ^{125}I без носителя с высокой точностью (*таблица Б3.24, Приложение Б).*

Определение смещения рассчитывается по формуле

$$d = \frac{\left|\bar{x} - x_{ref}\right|}{x_{ref}} \cdot 100\% = \frac{|17{,}02 - 17{,}4|}{17{,}4} \cdot 100\% = 2{,}2\ \%$$

где d- смещения; $\bar{x}$ — средне арифметическое значение УА раствора йодида натрия с йодом-125, без носителя; x_{ref} — опорное значение удельной активности йода-125 стандартного образца.

3.2.3. Спектрофотометрическое определение удельной активности препарата на основе радионуклида йод-131

Для определения удельной активности йода-131 спектрофотометрическим методом натрия йодид-131 окисляли йодатом калия до молекулярного состояния в присутствии хлорамин-Т с последующим связыванием бромфеноловым красным и измерением оптической плотности связанного йода-131 с бромфенольным красным.

Ход анализа. Исходный раствор йодида в воде (с = $5{,}0 \cdot 10^{-5}$ моль/л). 0,0083 г йодистого калия вносили в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводили дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивали. Все измерения проводились при температуре 22 ± 1 ºС. Спектры поглощения и оптические плотности йодида измерялись на спектрофотометре MRC UV–11 в кюветах с толщиной слоя ℓ = 1,0 см. Для определения максимального спектра поглощения раствора комплексного йода в бромфеноле, измеряли оптическую плотность и коэффициент экстинкции при различной длине волны. Величина молярного коэффициента поглощения была установлена расчетным путем для каждого измерения связанного йода в бромфенольном красном и в качестве раствора сравнения с бромфенольным красным в диапазоне длин волн 450-700 нм·с шагом измерений 50 нм. В области максимума светопоглощения проводилось уточненное сканирование спектра с шагом измерений 10 нм. Полученные зависимости показали, что максимум спектра поглощения для связанного йода в бромфенольном красном достигалась в области 582 нм. Результаты исследования представлены на рисунке 3.16. Для исследованных концентраций йода максимальный спектр поглощения составил 0,646 при длине волны 582 нм.

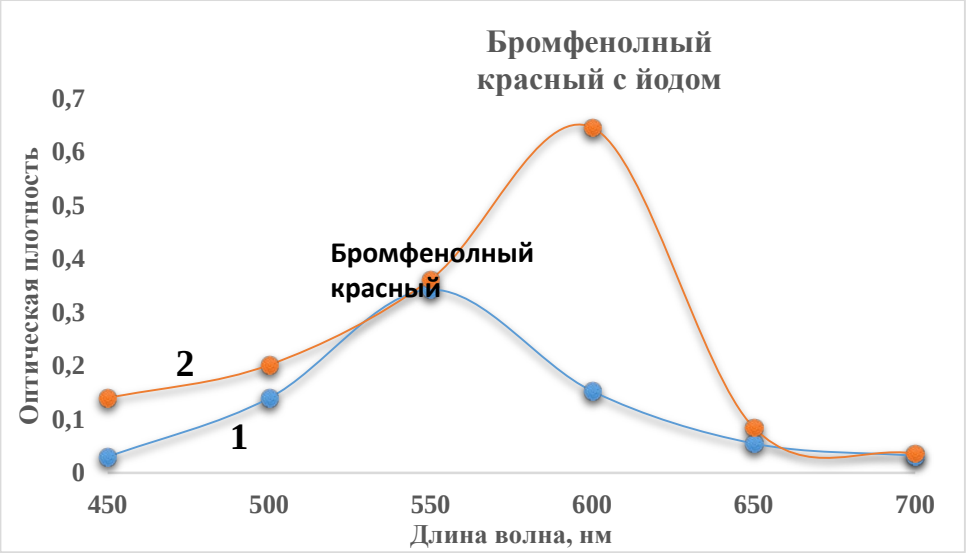

Рис. 3.16. Кривые светопоглощения бромфенольного красного и бромфенольного красного с йодом. Количество I^-, мг: 1-0; 2-0,02 ($C_{KI} = 5 \cdot 10^{-5}$, $C_{ацетат.буфер} = 6,8$ %, $C_{Br.фенол.красный} = 0,012$ %, $t_{конт} = 30$ минут)

Калибровочные пробы готовили в пяти нумерованных мерных колбах с притертыми пробками вместимостью 25 мл. В колбы вносили определенные количества раствора KI ($5 \cdot 10^{-5}$ М) (*таблица Б3.25*, *Приложение Б*). В мерные колбы на 25 мл помещали 100; 200; 400; 600; 800 мкл стандартного раствора KI с концентрацией $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л, добавляли 2 мл ацетатного буферного раствора (6,8 г ацетата натрия и 3 мл ледяной уксусной кислоты в 100 мл) и 1,25 мл раствора бромфенолового красного (12 мг красителя и 1,2 мл 0,1N NaOH в 100 мл), а затем при взбалтывании вводили 0,3 мл 0,15% -ного свежеприготовленного раствора хлорамина Т. Смесь разбавляли до 25 мл, через 30 мин измеряли оптическую плотность раствора при 582 нм по отношению к эталонному раствору в кюветах шириной 1 см. Снимали спектры поглощения бромфенольного красного со связанным в нем йодом-131. Результаты определения приведены в *таблице Б3.25 (Приложение Б)* и на рисунке 3.17. Видно, что оптическая плотность линейно возрастает в области концентраций йода от $0,5 \times 10^{-8}$ до $4,0 \times 10^{-8}$ моль.

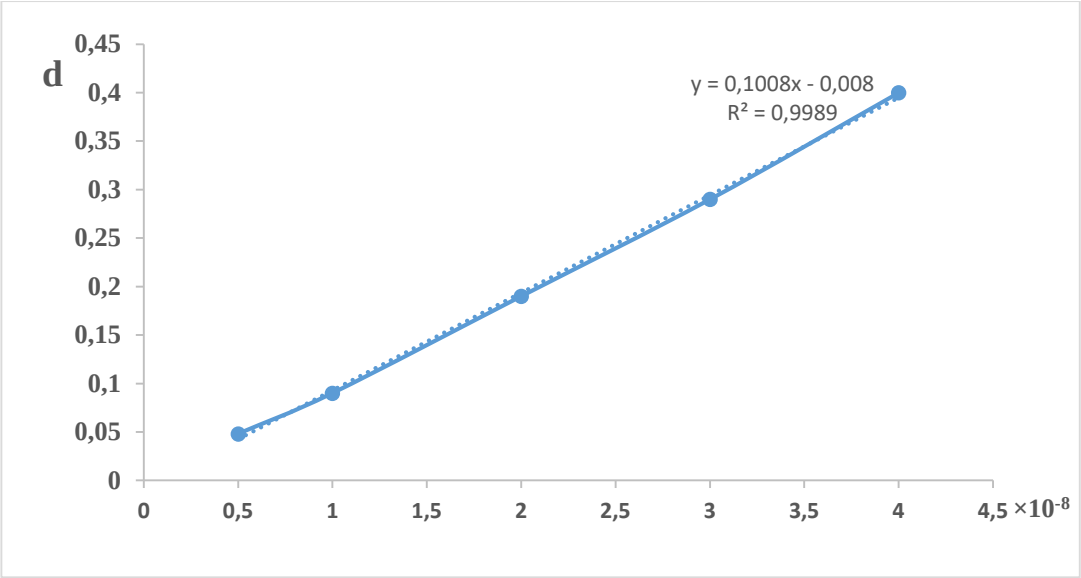

Рис.3.17. Градуировочный график зависимости оптической плотности раствора от концентрации йода

Определение предела обнаружения. По величине стандартного отклонения сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика (рис. 3.17) предел обнаружения (ПО) находился по уравнению:

$$b=\alpha=0,1$$

$$ПО = 3,3 \cdot S/b = 3,3 * \frac{0,00585}{0,1} = 1,93 \text{ нмоль}$$

где S – стандартное отклонение аналитического сигнала (в данном случае оптическая плотность йода в бромфенольном красном); b – коэффициент чувствительности, представляющий собой отношение аналитического сигнала (d) к определяемой величине (n) (тангенс угла наклона калибровочной кривой).

Исходя из полученных результатов можно сделать вывод, что разработанный метод позволил проводить определение иодид-иона с чувствительностью 0,245 мкг/см3 и суммарной погрешностью измерения не более ±1,38% при доверительной вероятности 0,95, что обеспечивает определение удельной активности йода-131 на уровне 30,3 мКюри/мл.

Согласно требованиям НТД субстанции «Натрия йодид с йодом-131, без носителя», используемая в медицинской практике для изготовления

микроисточников и синтеза меченых радиофармпрепаратов удельная активность йода-131 должна составлять не менее 12 Кюри/мг.

Ход анализа: к 100 мКи анализируемого раствора добавляли 2 мл ацетатного буферного раствора и 1,25 мл раствора бромфенолового красного, а затем при взбалтывании вводили 0,3 мл 0,15% ного свежеприготовленного раствора хлорамина-Т. Через 60 сек. разрушали непрореагировавший окислитель, добавляя 0,5 мл 2,5% -ного раствора тиосульфата натрия. Смесь разбавляли до 25 мл, через 30 мин измеряли оптическую плотность раствора при 582 нм и по калибровочному графику определяли количество йодид ионов в аликвоте препарата с йодом-131 (точка m_x).

Удельная активность рассчитывалась по формуле (2.3.2):

$$УА = \frac{8{,}0 \cdot 0{,}0125}{131 \cdot 1000 \cdot 0{,}635 \cdot 10^{-8}} = 120{,}2 \text{ Кюри/мг}$$

Исследования показали, что спектрофотометрическим методом можно определить удельную активность йода в препарате йодида натрия, меченого радионуклидом ^{131}I без носителя с высокой точностью (*таблица Б3.26, Приложение Б).*

Смещение рассчитывалось по формуле

$$d = \frac{|\bar{x} - x_{ref}|}{x_{ref}} \cdot 100\% = \frac{|120{,}2 - 123{,}56|}{123{,}56} \cdot 100\% = 2{,}72\ \%$$

где d- смещение, $\bar{x}$ – средняя арифметическая значения УА раствора йодид натрия с йодом-131, без носителя; x_{ref} – опорное значение удельная активность йода-131 стандартного образца.

3.3. Определение степени мечения различных биологических макромолекул радионуклидом йод-125

Определение степени мечения радионуклидом йод-125 осуществлялось введением метки в структуру различных биологических макромолекул. Степень связывания радионуклида йода-125 с биологическими макромолекулами определялась методом электрофореза. В качестве носителя

использовалась смесь йодида калия, йодат калия и гидрокарбоната натрия, а в качестве электролита фосфатный буферный раствор с pH = 7,0±0,2. Измерение распределения активности ^{125}I по длине хроматографической полоски проводилось на четырехканальном γ-радиометрическом устройстве.

Для анализа связывания радионуклида йод-125 с биологическими макромолекулами в три конические пробирки Эппендорфа (объем 0,5 мл) вносили по 5 мКи субстанции йодида натрия, меченого йодом-125. В первую и вторую пробирки вносили по 10 мкл раствора хлорамина-Т (ХЛТ), а в третью пробирку 15 мкл раствора лактопероксидазы (ЛП) (2 мг/мл) и хорошо перемешивали. Через 2-3 мин в первую пробирку добавили 15 мкл раствора адренокортикотропингипоталамуса (АКТГ) (2 мг/мл), во вторую пробирку 20 мкл реактива Болтона-Хантера (Б-Х) (2 мг/мл) и в третью пробирку 15 мкл раствора АКТГ (2 мг/мл) и вновь тщательно перемешали. Реакционную смесь поместили в термостат с температурой 37ºС на 15 мин. Затем в каждую реакционную смесь добавили 250 мкл дистиллированной воды [89].

Полоски хроматографической бумаги готовили следующим образом. Бумагу марки «С» разрезали на полоски размером 15 х 250 мм. Отступив от одного края на 50 мм (стартовая линия), наносили 10-20 мкл раствора носителя (состав носителя - 100 мг йодида калия, 200 мг йодат калия и 1г бикарбоната натрия в 100 мл бидистиллированной воды). После высушивания раствора на воздухе, на то же место наносили 1 мкл раствора макромолекулы меченой с ^{125}I (активность 0,74 МБк). Полоску увлажняли фосфатным буферным раствором с pH 7,0 $\pm$ 0,2 и помещали в камеру прибора для электрофореза так, чтобы линия старта располагалась со стороны катода. Разделение проводили в течение 50 мин в охлажденной камере при градиенте потенциала 16 В/см. В качестве электролита использовали фосфатный буферный раствор с pH 7,0 $\pm$ 0,2 [89].

Полученную электрофореграмму высушивали при комнатной температуре, обклеивали с двух сторон полиэтиленовой пленкой с липким слоем (ГОСТ 20477-86) и измеряли скорость счета отдельных участков

электрофореграммы шириной по 1 см, начиная от линии старта к финишу радиометрическим методом.

По проявленной электрофореграмме определяли степень связывания ^{125}I в макромолекуле с помощью γ-радиометрического устройства в течение 10 с. Доля макромолекулы, меченой йодом-125 в реакционной смеси должна быть не менее 85,0 % от общей радиоактивности, а значение R_f в пределах 0,0-0,4, в то время как значение R_f не связанных ионов йода-125 в пределах 0,9±0,02. Перед измерениями гамма активности измеряли фон 3 раза по 10 с. Результат усреднялся. По соотношению площадей пиков, соответствующих основной ^{125}I-макромолекуле и примесным формам ионов йода-125 вычисляли степень связывания по формуле (2.3.1). Результаты приведены в *таб. Б3.27 (Приложение Б)* и на рисунке 3.18.

Таким образом, степень связывания для всех исследованных макромолекул методами жидкостного электрофореза и гамма-радиометрии по разработанным нами методикам при n=6 и P=0,95 составляет более 90 %.

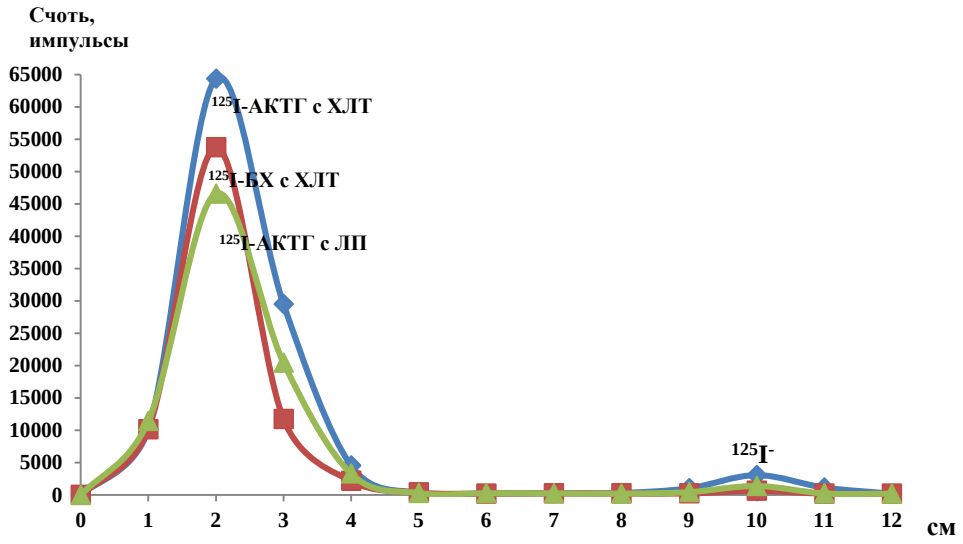

Рис.3.18. График распределения ^{125}I-макромолекулы по длине электрофореграммы

Выводы по третьей главе

Результаты экспериментов по определению радиохимической чистоты показали, что самым точным и воспроизводимым методом определения радиохимической чистоты является электрофоретический метод, который в был внедрен для анализа готовой продукции при серийном производстве препаратов на основе йода-125, и проведена его валидация.

Методами жидкостного электрофореза и гамма-радиометрии показано, что степень связывания радионуклида йод-125 при мечении трех макромолекул белков и пептидов составляет более 90%.

Установлено, что использованная для определения удельной активности радионуклидов йода спектрофотометрическая методика позволила исключить влияние побочных продуктов и получить результаты близкие к теоретически рассчитанным значениям удельной активности 17,02 Кюри/мг для йод-125 и 120,2 Кюри/мг для йод-131.

ГЛАВА 4. АНАЛИТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ РАДИОНУКЛИДА ЛЮТЕЦИЯ-177

Аналитический контроль качества радиофармацевтического препарата лютеций-177 сводится к определению радиохимической чистоты и его удельной активности. Радиохимическая чистота определяется тонкослойной и бумажной хроматографией.

4.1. Определение радиохимической чистоты препарата

Тонкослойная хроматография. Испытуемый исходный препарат хлорида лютеция-177, без носителя в 0,04 М растворе HCI разбавляли до объемной активности 740 МБк/мл, отбирали 6 аликвот для проведения хроматографирования, активность препарата на каждой ХП составляла 7,4· 10^5 Бк.

Пластинку с тонким слоем силикагеля (ТСХ) готовили следующим образом: отрезали 3 полоски размером 15×140 мм, на линию старта (15 мм от края полоски) наносили пробу раствора препарата объемом 1,0-1,5 мкл. Пятна препарата на пластинке высушивали на воздухе. Затем пластины переносили в камеру для ТСХ в вертикальном положении и один её конец со стартовой линией погружали в подвижную фазу (раствор цитрата натрия концентрацией 0,1 моль/л и pH = 5,1-5,2) [90]. Под воздействием капиллярных сил растворитель движется по пластинке вверх, увлекая за собой компоненты вещества. Различные компоненты вещества по-разному поддаются восхождению, поэтому происходит их разделение, то есть хроматографирование восходящим методом. По достижении фронта подвижной фазы уровня 120-130 мм от стартовой линии (60 минут) пластины вынимали и высушивали в вытяжном шкафу. В планарной тонкослойной хроматографии компоненты вещества различаются по их относительному положению на полоске после хроматографирования (рис.4.1).

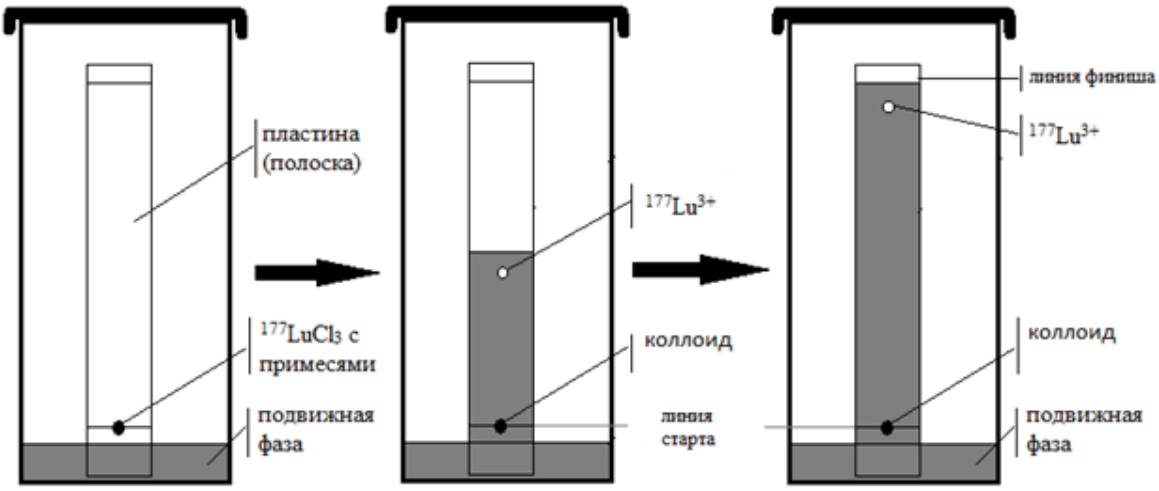

Рис.4.1. Схема процесса анализа РХЧ методом тонкослойной хроматографии

Пластинки высушивали при комнатной температуре, обклеивали с двух сторон полиэтиленовой пленкой с липким слоем. Далее число импульсов каждого очередного отрезка хроматограммы измеряли в γ-радиометрическом устройстве. Свободные $^{177}Lu^{3+}$ ионы уходят с фронтом растворителя R_f=0,9-1,0, остальные радиохимические примеси (коллоидные частицы) остаются на месте нанесения препарата с R_f=0. Радиохимическая чистота должна быть не менее 98%.

Для измерения, хроматографическую пластинку (ХП) разрезали на сегменты по 1 см. Полученные в результаты представлены на рисунке 4.2. Для каждой ХП определялось значение РХЧ по формуле (2.3.1).

При среднем значении РХЧ =99,7±0,18% относительная погрешность составила $\bar{\varepsilon}$=0,048%, расширенная неопределенность u_p=0,18%, а суммарная неопределенность (u_c) 0,09 %.

Результаты измерений методом ТСХ представлены в *таблице В4.1 (Приложение В).*

Как видно (рис. 4.2), на графике отмечены зоны разных химических форм:$^{177}Lu^{3+}$ ионов, коллоида ^{177}Lu. Из результатов экспериментов видно, что радиохимическая чистота препарата лютеция хлорида с лютеций-177 составляет 99,7%±0,18%.

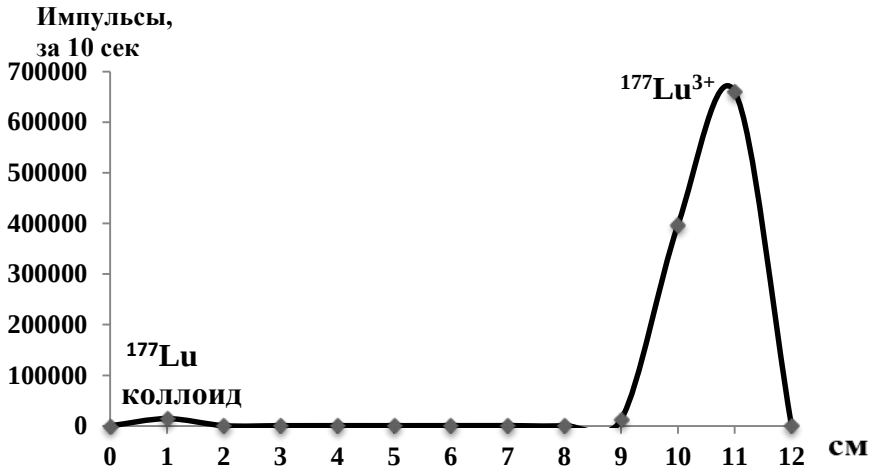

Рис.4.2. График распределения активности компонентов лютеция-177 по длине радиохроматограммы

Гарантия качества продукции. Реальный средний результат анализа образца испытуемого продукта РХЧ=99,7% (при n=6). Тогда определение пределов $РХЧ_{min}$ и $РХЧ_{max}$, гарантированно характеризующих качество данного образца с заданной доверительной вероятностью $\overline{P}$, проводим согласно уравнениям (2.4.6) и (2.4.7). При $\overline{P}$ = 95%:

$$РХЧ_{min} = 99{,}7 - \frac{1{,}65 \cdot 0{,}03}{\sqrt{6}} = 99{,}68 \qquad a_{max} = 99{,}7 + \frac{1{,}65 \cdot 0{,}03}{\sqrt{6}} = 99{,}72$$

$$99{,}68 < РХЧ < 99{,}72$$

Бумажная хроматография. Для проведения анализа анализируемый препарата хлорида лютеция-177, без носителя разбавляли объемной активностью до 740 МБк/мл, из которого отбирали 6 аликвот для проведения БХ, активность каждой пластины составляла $3{,}7 \cdot 10^5$ Бк.

Для бумажной хроматографии использовали хроматографическую бумагу марки Whatman 3MM размером 15х100 мм. На линию старта, на расстоянии 10 мм от одного из краев полосок наносили 0,0005 мл аликвоты радиофармпрепарата. После высушивания пятна на воздухе проводили хроматографирование восходящим методом до достижения растворителем отмеченной линии фронта (ориентировочно 30-35 мин), используя в качестве

растворителя смесь (гидроксид аммония (NH_4OH, 25%): метанол (CH_3OH, 100%): вода) в соотношении 0,2:1:2 [90]. В указанном режиме хроматографирования R_f иона $^{177}Lu^{3+}$ остается на линии старта со значением 0-0,1, а ^{177}Lu-коллоид передвигается с растворителем в сторону линии финиша и значение R_f составляет 0,8-0,9. После проявления полоски хроматограммы высушивали на воздухе, обклеивали с двух сторон полиэтиленовой лентой с липким слоем, разрезали на куски длиной 1,0 см и измеряли скорость счета этих кусков на счетной установке с детектором гамма излучения. Полученные в результате хроматограммы представлены на рисунке 4.3. Значение РХЧ определяли по формуле (2.3.1). Результаты измерений РХЧ препарата хлорида лютеция-177, без носителя методом БХ приведены в *таблице В4.2* (*Приложение В*). Относительная погрешность измерения при среднем значении РХЧ =99,7±0,26% составила $\bar{\varepsilon}$=0,048%. Расширенная неопределенность – up=0,26%, а суммарная неопределенность – 0,13 %.

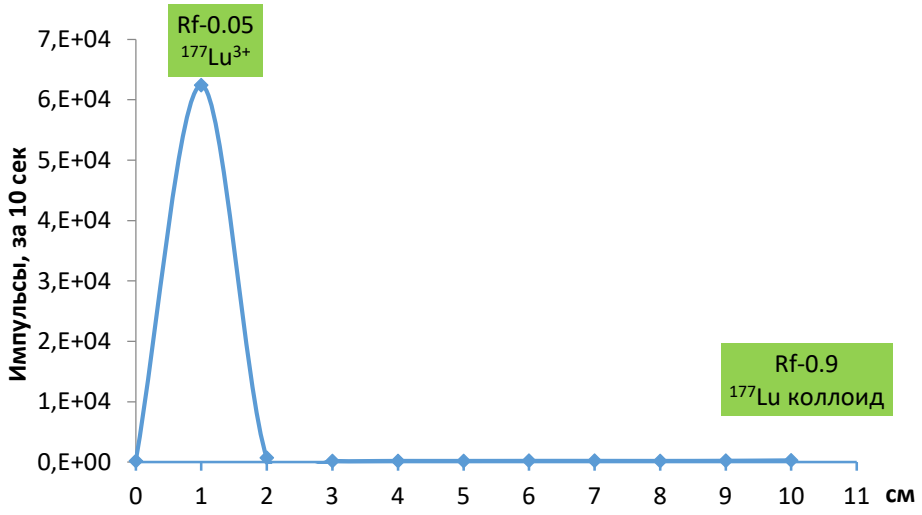

Рис.4.3. БХ хроматограммы для $^{177}LuCl_3$, элюированного смесью NH_4OH (25%): метанол (100%): вода (100%) (0,4: 2: 4; об/об/об), хроматография на Whatman 3MM

Как видно из графика, минимальное расстояние между пиком $^{177}Lu^{3+}$ (основной формы) и ^{177}Lu коллоидной формы (побочный) составляет 6 см, поэтому взаимное влияние исключено.

Гарантия качества продукции. Реальный средний результат анализа образца испытуемого продукта РХЧ=99,7% (при n=6). По уравнениям (2.4.6) и (2.4.7) определили пределы $РХЧ_{min}$ и $РХЧ_{max}$, гарантированно характеризующих качество данного образца с заданной доверительной вероятностью $\overline{P} = 95\%$:

$$РХЧ_{min} = 99{,}7 - \frac{1{,}65 \cdot 0{,}03}{\sqrt{6}} = 99{,}68 \qquad a_{max} = 99{,}7 + \frac{1{,}65 \cdot 0{,}03}{\sqrt{6}} = 99{,}72$$

$$99{,}68 < РХЧ < 99{,}72$$

В таблице 4.3 приведено стандартное квадратичное отклонение результатов анализов препарата лютеция-177 хлорида одной и те же серии методами БХ и ТСХ.

Таблица 4.3

Стандартное квадратичное отклонение результатов анализов препарата лютеция-177 хлорида одной и те же серии методами БХ и ТСХ

Метод	ТСХ	БХ
РХЧ, %	**99,7**	**99,7**
СКО	**0,03**	**0,03**

Как видно из результатов, приведенных по хроматограммам, полученным при проведении различных методов была оценена воспроизводимость результатов, где отклонения обеих методов, при БХ и ТСХ составили не более 0,03%.

Таким образом, приведенные в данной главе результаты свидетельствуют о том, что аналитический контроль препарата позволяет получать радионуклид лютеция-177 с высокой радиохимической чистотой (99,7±0,18 %).

4.1.1. Валидация методики определения радиохимической чистоты препарата хлорида лютеций-177, без носителя

Селективность. Селективность метода осуществлялась определением влияния раствора гидроксида натрия на результаты измерений радиохимической чистоты препарата хлорида лютеция-177. Измерение РХЧ $^{177}LuCl_3$ проводили при стандартных условиях (pH=1,5) и после добавления гидроксида натрия до pH=2,5 (см. *таблицу В4.4, Приложение В).*

Приготовление раствора хлорида лютеция с лютеций-177, без носителя ($k_{раз}$= 40 мКи/мл)

Среднеквадратичное отклонение определения РХЧ препаратов при разных pH 1,5 и 2,5:

$$scomb = \sqrt{\frac{s12*(n1-1)+s22*(n2-1)}{n1+n2-2}} = \sqrt{\frac{0{,}062716^2\cdot 9+0{,}063944^2\cdot 9}{10+10-2}} = 0{,}06333$$

Критерий Стьюдента:

$$ttest = \frac{|\bar{x}1 - \bar{x}2|}{scomb * \sqrt{\frac{1}{n1}+\frac{1}{n2}}}$$

$$t_m = \frac{|99{,}7 - 99{,}65|}{0{,}06333\sqrt{\frac{1}{10}+\frac{1}{10}}} = \frac{0{,}05}{0{,}06333\sqrt{0{,}2}} = \frac{0{,}05}{0{,}02832} = 1{,}765$$

t Стьюдент при 18 степ. своб. = 2,15: $t_{test} < t_{table}$

Показано, что при определении селективности измерения РХЧ аналитическим методом «Лютеция хлорид с лютеций-177, без носителя» изменение pH в диапазоне 1,5 и 2,5 не оказывает существенного влияния на РХЧ. В соответствии с РМГ 61-2010, если $t_m \leq t_{табл}$, то оценка систематической погрешности незначима на фоне случайного разброса, ее принимают равной нулю. t_m=1,765, $t_{таб}$ =2,15 (P=0,9545, *f*=18)

Линейность. При выполнении этого теста строится график зависимости измеренной радиоактивности (аналитический сигнал) участка

хроматографической полоски, на которую нанесена аликвота раствора препарата, в интервале от 0,01 до 0,05 мКи, т.е. фактически от расчетной величины нанесенной радиоактивности. Графики зависимости представлены на рисунке 4.4.

Проведен анализ приготовленных растворов по методике измерения радиохимической чистоты препаратов хлорида лютеция-177 (см. *таблицу В4.5, Приложение В*). На основании полученных результатов построен график зависимости радиохимической чистоты от активности, который имеет линейный характер с коэффициентом корреляции, превышающим значение 0,998.

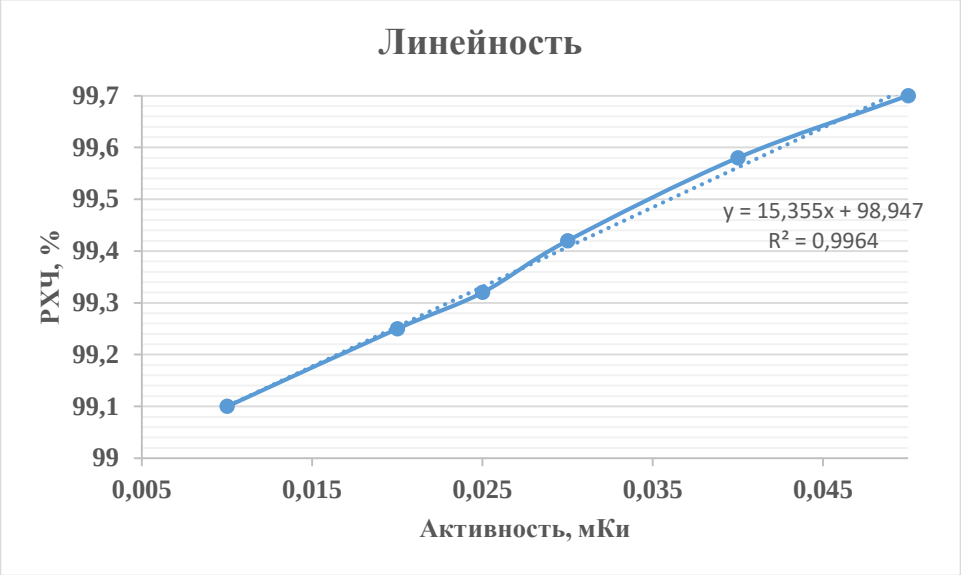

Рис 4.4. Зависимость значения РХЧ от активности препарата

Критерий приемлемости: Коэффициент корреляции при линейной взаимосвязи переменных должен отличаться от нуля (*r=0 нет линейности, r≠0 есть линейная взаимосвязь между переменными «Радиохимическая чистота/активность»).* Коэффициент корреляции при линейной регрессии анализа должен быть r≥0,99.

Экспериментально показано, что в диапазоне активности от 0,01 до 0,05 мКи существует линейная зависимость аналитического сигнала (РХЧ) от активности определяемого вещества. Точность подбора уравнения регрессии – 99,64 %.

Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность валидируемой методики оценивалась в условиях работы двух аналитиков. Каждое измерение проводилось в промежутке 3 дней (см. *таблицу В4.6, Приложение В*).

$$S_r^2 = \frac{\Sigma(X_1 - X_2)^2}{2n} = \frac{0{,}0074}{2 \cdot 6} = 0{,}000617$$

$$S_L^2 = \left|\frac{nX_{ср}^2 - (X_2)^2}{n(n-1)} - \frac{S_r^2}{2}\right| = \left|\frac{6 \cdot 59554{,}837 - (597{,}77)^2}{6(6-1)} - \frac{0{,}000617}{2}\right| = \left|\frac{0{,}049}{30} - 0{,}0003085\right| = 0{,}001418$$

$$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2 = 0.000617 + 0.001418 = 0{,}002035$$

Предел повторяемости рассчитывался по формуле:

$$r = 2{,}8 \cdot S_r = 0{,}06955\ \%$$

Предел промежуточной прецизионности рассчитывался по формуле:

$$R = 2{,}8 \cdot S_R = 0{,}3994\ \%$$

Значение критерия Кохрена:

$$G_{m(\max)} = \frac{(S^2{}_r)_{\max}}{\sum_{l=1}^{L} S^2{}_r} = \frac{0.0025}{0.0074} = 0{,}337838$$

Разница максимального и минимального значения полученных при длительном промежутке времени не превышает предела воспроизводимости. Показатели $G_{m(max)}$ меньше табличного $G_{m(таб)}$ значения ($G_{m(max)}$ 0,337838<0,781 $G_{m(таб)}$). Поэтому в дальнейших расчетах рассчитывались все выборки.

Предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО). Объем наносимой аликвоты раствора должен быть таким, чтобы можно было, используя выбранное средство измерения, статистически достоверно зарегистрировать по крайней мере 0,5% от нанесенной радиоактивности. Исходя из этого, был сделан следующий вывод: всегда можно определить достоверно содержание РХЧ в препаратах, зная ее объемную активность. Для этого тестировалось количество активности лютеция-177 в наносимой аликвоте раствора "Лютеция хлорид с лютеций-177, без носителя", которое может быть от 0,01 до 0,05 мКи, и эти факторы зависят

от чувствительности детектора. Расчет активности наносимой пробы раствора "Лютеция хлорид с лютеций-177, без носителя", в зависимости от объемной активности препаратов проводился по формуле:

$$A_{ал} = A_v \times V_{ал}$$

где $A_{ал}$ — активность нанесенной пробы, мКи; A_v — разбавленая объемная активность препарата, мКи/мл; $V_{ал}$—объем нанесенной пробы, мкл.

Результаты расчета представлены в *таблице В4.7* (*Приложение В)* и на рис.4.5.

Таким образом, если при измерении радиохимической чистоты значение предела обнаружения и предела количественного определения будет составлять 0,003 и 0,01 мКи, то для достоверного определения РХЧ в препарате с объемной активностью 40 мКи/мл (минимальное нормированное значение) необходимо отобрать на анализ не менее 0,25 мкл анализируемого препарата.

Результаты анализа

Критерий приемлемости. Определение радиохимической чистоты лютеция-177 не должно превышать значения рабочего диапазона методики.

$$s^2 = \frac{\sum(X_i - X_c)^2}{n-2} = \frac{0{,}000859}{4} = 0{,}000215$$

$$s = \sqrt{s^2} = \sqrt{0{,}000215} = 0{,}014654$$

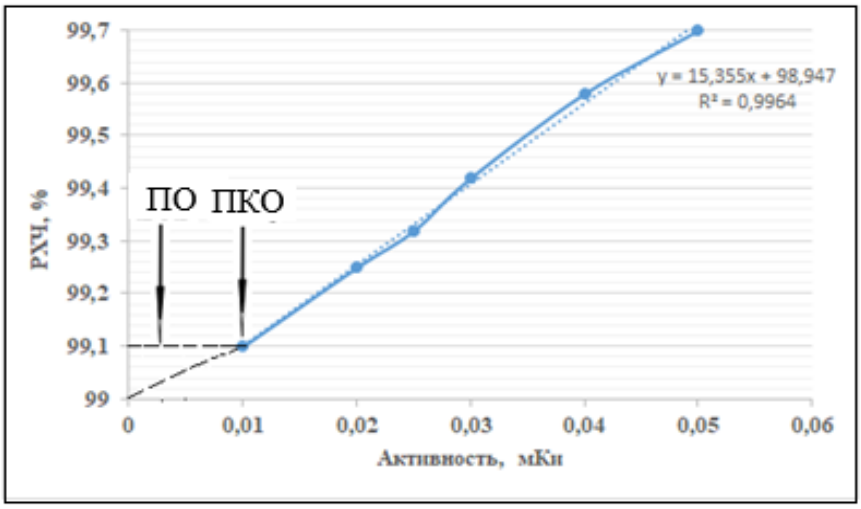

Рис.4.5. Предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО)

Определение предела обнаружения и предела количественного определения.

а) По величине стандартного отклонения сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика предел обнаружения (ПО) находится по уравнению:

b=α=15,355

ПО = $3 \cdot S/b = 3 * \frac{0{,}01465}{15{,}355} = 0{,}003$ мКи

Предел количественного определения ПКО) находится по уравнению:

b=α=15,355

ПКО = $10 \cdot S/b = 10 * \frac{0{,}01465}{15{,}355} = 0{,}01$ мКи

где S – стандартное отклонение аналитического сигнала (в данном случае радиохимическая чистота препарата "Лютеция хлорид с лютеций-177, без носителя"; b – коэффициент чувствительности, представляющий собой отношение аналитического сигнала (A_v) к определяемой величине (РХЧ) (тангенс угла наклона калибровочной кривой).

Для линейного калибровочного графика значение S принимается равным стандартному отклонению S_r свободного члена уравнения этого графика. Полученное значение предела обнаружения при необходимости может быть подтверждено прямым экспериментом при количествах (концентрациях) определяемого вещества, близких к найденному значению предела количественного определения.

Заключая можно сказать, что:

а) на графике зависимости РХЧ от количества нанесенной активности на хроматографической полоске при визуальной проверке не выявленных регрессией выбросов не имеется. Это доказывает, что рабочий диапазон является линейным;

б) в диапазоне нанесенной активности препарата на хроматографическую полоску в интервале от 0,01 до 0,05 мКи существует

линейная зависимость аналитического сигнала от РХЧ определяемого вещества. Точность подбора уравнения регрессии – 99,64%;

с) предел обнаружения аналитической методики измерения радиохимической чистоты препарата "Лютеция хлорид с лютеций-177, без носителя", нанесенной активности препарата на хроматографическую полоску в интервале от 0,01 до 0,05 мКи, установлен в пределе 0,003 мКи;

д) предел количественного определения аналитической методики измерения радиохимической чистоты препарата "Лютеция хлорид с лютеций-177, без носителя", нанесенной активности препарата на хроматографическую полоску в интервале от 0,01 до 0,05 мКи, установлен в пределе 0,01 мКи.

Точность (Правильность) *(таблица В4.8, Приложение В)*

Среднеквадратное отклонение измерений разных приборов:

$$S_c = \sqrt{\frac{0{,}04967^2 \cdot 9 + 0{,}045216^2 \cdot 9}{10+10-2}} = 0{,}0475$$

Критерий Стьюдента:

$$t_m = \frac{|99{,}7 - 99{,}66|}{0{,}0475\sqrt{\frac{1}{10}+\frac{1}{10}}} = \frac{0{,}04}{0{,}0475\sqrt{0{,}2}} = \frac{0{,}04}{0{,}021243} = 1{,}88$$

При $t_m \leq t_{табл}$ оценка систематической погрешности незначима на фоне случайного разброса, ее принимают равной нулю: t_m=1,88, $t_{таб}$ =2,1 (P=0,95, *f*=18)

Диапазон применения. В диапазоне активности наносимой пробы от 0,01 до 0,05 мКи существует линейная зависимость аналитического сигнала (РХЧ) от примеси определяемого вещества. Рабочий диапазон методики охватывает интервал от 99,1% до 99,7%, в этом диапазоне доверительный интервал составляет ±0,046 при доверительном уровне P=0,95 с коэффициентом охвата k=2. Точность подбора уравнения регрессии-99,64%. Результаты приведены в таблице В4.10 (Приложение В) и на рисунке 4.6.

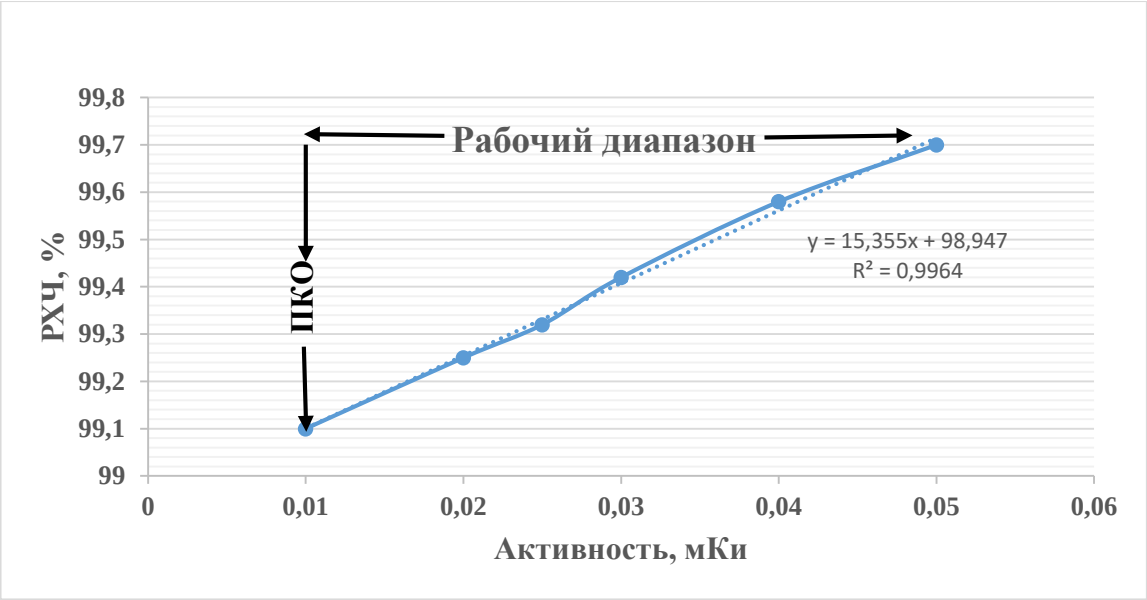

Рис. 4.6. Диапазон применения

Неопределенность измерения (см. *таблицу В4.10, Приложение В).* Рассчитанное значение суммарной стандартной неопределенности составило:

$$u_{c_{\text{рхч}}} = \sqrt{\text{СУММКВ}(0{,}01586 : 0{,}00524)} = 0{,}023$$

Расширенная неопределенность. Для доверительного уровня P=95% коэффициент охвата равен k=2

$$u_p = k \cdot u_c = 2 \cdot 0{,}023 = 0{,}046$$

Все проведенные для валидации анализы дали приемлемые результаты, то есть для метода подтверждены повторяемость, воспроизводимость и правильность; также оба эксперта, владеющие этой стандартной методикой дали приемлемые результаты.

4.2. Определение удельной активности радиофармацевтического препарата на основе радионуклида лютеция-177

Теоретическую удельную активность рассчитывали по формуле (2.1.6):

$$\text{УА} = \left[\frac{\text{Ки}}{\text{мг}}\right] = \frac{1.303 \times 10^8}{6{,}71 \times 177 \times 1000} = 109{,}7 \text{ Ки/мг}$$

Удельная активность радионуклида лютеция-177 с периодом полураспада 6,71 дней составляет 109,7 Кюри на мг.

Спектрофотометрическое определение удельной активности хлорида лютеция с радионуклидом ^{177}Lu. Для определения удельной активности лютеция-177 спектрофотометрическим методом использовали реакцию комплексообразования $^{177}Lu^{3+}$ с реагентом Арсеназо III и измеряли оптическую плотность этого комплекса.

Ход анализа. Концентрация исходного раствора лютеция в соляной кислоте с = 0,02 мг/мл. 0,0023 г оксида лютеция насыпали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили дистиллированной водой до метки, тщательно перемешивали и измеряли его оптическую плотность. Все измерения проводили при температуре 22 ±1 ^{0}С. Спектры поглощения и оптические плотности лютеция измеряли на спектрофотометре MRC UV-1100 в стеклянных кюветах с толщиной слоя l= 1,0 см. Для определения максимального спектра поглощения раствора лютеция в Арсеназо III, измеряли оптическую плотность и коэффициент экстинкции при различной длине волны. Величина молярного коэффициента поглощения установлена расчетным путем для каждого измерения комплекса лютеция с Арсеназо III и в качестве раствора сравнения с Арсеназо III в диапазоне длин волн 505-705 нм с шагом измерений 50 нм. В области максимума светопоглощения проводили уточненное сканирование спектра с шагом измерений 10 нм. Полученные зависимости показали, что максимум спектр поглощения для комплекса лютеция в Арсеназо III достигался в области 655 нм, при которой оптическая плотность и коэффициент экстинкции достигают максимального значения. Полученные зависимости показали, что наибольший спектр поглощения для всех исследованных образцов лютеция в Арсеназо III достигался в области 655 нм. Результаты исследования представлены на рисунке 4.7. Для исследованных количеств лютеция максимальный спектр поглощения составил 0,56 при длине волны 655 нм.

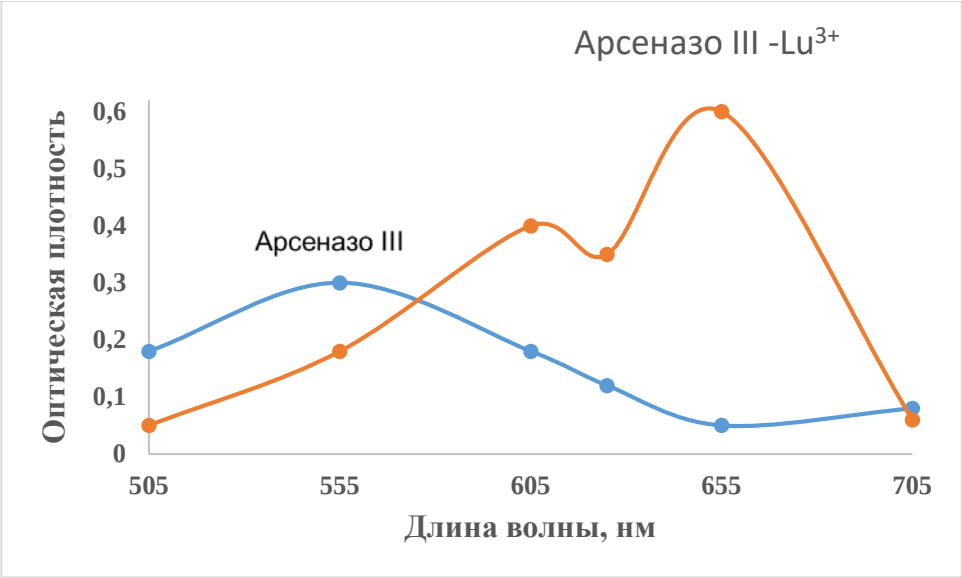

Рис.4.7. Кривые светопоглощения Арсеназо III и его комплекса с лютецием. Количество Lu^{3+} 2-2,5 мкг

Построение калибровочного графика. Для построения калибровочного графика применялся стандартный образец. В шесть мерных колб вместимостью 25 мл каждая помещали: 25; 50; 75; 100; 125; 150 мкл стандартного образца (*таблица В4.11, Приложения В*). В колбы добавляли по 2,5 мл буферного раствора с pH=1,8 и 1,0 мл 0,2%-ного раствора Арсеназо III, доводили объем до метки 0,01 М раствором HCl и тщательно перемешивали. Оптическую плотность раствора измеряли через 5 минут на спектрофотометре в кюветах с толщиной оптического слоя 10 мм при длине волны 655 нм. Снимали спектры поглощения комплекса лютеция с Арсеназо III. Результаты определения приведены в *таблице В4.11 (Приложение В)* и на рисунке 4.8. Видно, что оптическая плотность линейно возрастает в области количества лютеция от 0,28 до 1,7 10^{-8} моль.

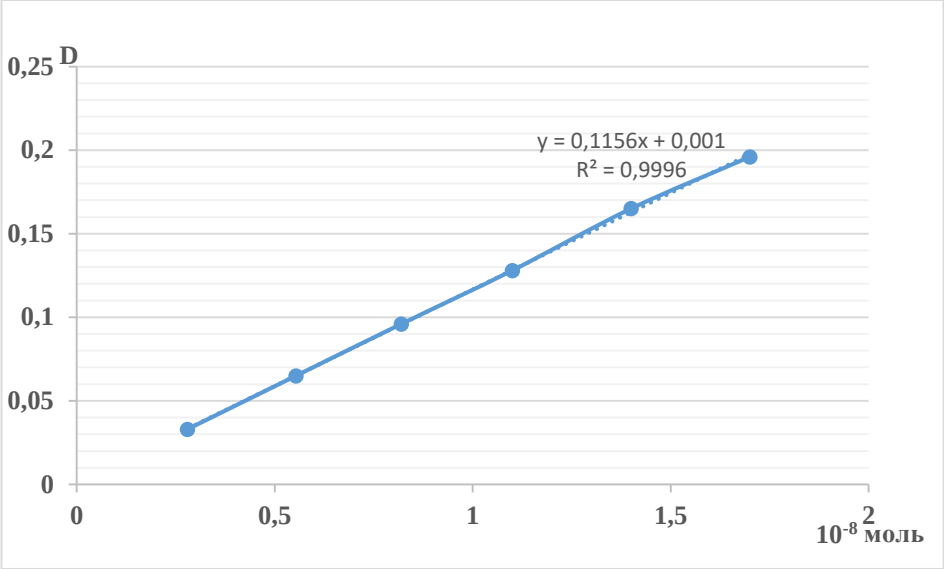

Рис.4.8. Градуировочный график зависимости оптической плотности раствора от количества лютеция

Определение предела обнаружения по величине стандартного отклонения сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика.

Предел обнаружения (ПО) находится по уравнению:

$$b=\alpha=0{,}0131$$

$$ПО = 3{,}0 \cdot S/b = 3{,}0 * \frac{0{,}004151}{0{,}1156} = 0{,}12 \text{ x } 10^{-8} \text{ моль}$$

где S – стандартное отклонение аналитического сигнала (в данном случае оптическая плотность лютеция в Арсеназо III); b – коэффициент чувствительности, представляющий собой отношение аналитического сигнала (d) к определяемой величине (n) (тангенс угла наклона калибровочной кривой).

Исходя из полученных результатов можно сделать вывод, что разработанный метод позволил проводить определение лютеций-иона с чувствительностью 0,2 мкг/см^3 и суммарной погрешностью измерения не более ±1,33% при доверительной вероятности 0,95, что обеспечивает определение удельной активности лютеция-177 в количестве 21,94 мКюри/мл.

Согласно требованиям НТД субстанции «Лютеций хлорид с лютецием-177, без носителя», используемая в медицинской практике для изготовления микроисточников и синтеза меченых радиофармпрепаратов удельная

активность лютеция-177 должна составлять не менее 50 Кюри/мг. Измерение оптической плотности анализируемого раствора препарата хлорида лютеция, меченого лютецием-177, проводили параллельно с измерением оптической плотности калибровочных проб.

Ход анализа. В два флакона с притертыми пробками, вместимостью 10 мл, вносили 50-80 мКи препарата лютеция хлорида, меченого лютецием-177, 0,5 мл буферного раствора, 0,2 мл 0,2%-ного раствора Арсеназо III и доводили объем 4,25-4,28 мл 0,01 М раствором HCl. По калибровочному графику определяли количество лютеций-ионов в аликвоте препарата с лютецием-177 (точка m_x).

Удельную активность рассчитывали по формуле (2.3.2):

$$\text{УА} = \frac{1{,}6 \times 0{,}05}{177 \times 1000 \times 0{,}426 \times 10^{-8}} = 106{,}1 \text{ Кюри/мг}$$

Исследования показали, что спектрофотометрическим методом можно определить удельную активность лютеция в препарате хлорида лютеция, меченого радионуклидом ^{177}Lu без носителя с высокой точностью (см. *таблицу В4.12, Приложение В).*

Определение смещения рассчитывается по формуле

$$\text{d} = \frac{|\bar{x} - x_{ref}|}{x_{ref}} \cdot 100\% = \frac{|106{,}1 - 109{,}7|}{109{,}7} \cdot 100\% = 3{,}28\ \%$$

где d – смещение, $\bar{x}$ – средние арифметические значения УА раствора лютеция хлорид с лютецием-177, без носителя; x_{ref} – опорное значение удельной активности лютеция-177 стандартного образца. Смещение определения составляет ±3,28%.

4.2.1. Определение степени мечения диэтилентриаминпентаацетатом радионуклида ^{177}Lu методом тонкослойной хроматографии

В полиэтиленовую пробирку вносили 100 мкл раствора $CaNa_3DTPA$ ($5\cdot10^{-6}$ моль/л) и 370 МБк ($5\cdot10^{-10}$ моль) препарата хлорида лютеция ^{177}Lu. Соотношение между ^{177}Lu : $CaNa_3DTPA$ составило 1:1 соответственно. Смесь тщательно перемешивали и помещали в термостат. Выдерживали в термостате 30 мин при температуре 37^{0}С. Затем на пластинку с тонким слоем силикагеля (Art. 5553, Merck) размером 15×140 мм, отступив от одного из краев на 15 мм (линия старта), наносили подготовленные смеси в таком количестве, чтобы можно было статистически достоверно зарегистрировать на радиометрической установке, по крайней мере, 0,5% от нанесенной активности. Экспериментальным путем выявлено, что нанесение 1 мкл (3,5 МБк) раствора является оптимальным. Пятно препарата высушивали и хроматографировали в течение 60 минут, используя в качестве подвижной фазы 0,1 М раствор цитрат натрия, приготовленный путем растворения 2,58 г цитрат натрия в 100 мл бидистиллированной воды pH 5,1-5,2 [89]. После того как фронт подвижной фазы дошел до линии финиша, их вынимали из камеры, высушивали при комнатной температуре, обклеивали с двух сторон полиэтиленовой пленкой с липким слоем. Первый и последний сантиметр пластинки отбрасывали. Затем размечали начиная со стороны стартовой линии на отрезки по 1 см, пронумеровывали и отрезали на части. Получали 12 отрезков для измерений.

Для проявленной хроматограммы определяли распределение активности ^{177}Lu:DTPA по ее длине на γ-радиометрическом устройстве Ludlum-2200. Перед измерениями замеряли фон 3 раза и усредняли. Далее каждый очередной отрезок хроматограммы помещали для измерения активности в γ-радиометрическое устройство. Время измерения каждого отрезка – 10 сек.

По соотношению площадей пиков, соответствующих основному

комплексу ^{177}Lu:DTPA и примесным $^{177}Lu^{3+}$ ионным формам вычисляли процент включения ^{177}Lu с ДТПА. Исходя из этого, удельную активность рассчитывали по формуле:

$$УА_{177Lu} = \frac{109{,}7 \times C_{177Lu:DTPA}}{C_0}$$

где УА – удельная активность препарата;109,7 – теоретическая максимальная удельная активность препарата, Кюри/мг; $C_{^{177}Lu:DTPA}$ – количество импульсов счета участка хроматограммы, содержащего ^{177}Lu: DTPA; C_0 – количество импульсов счета всей хроматограммы.

Определение удельной активности препарата $LuCl_3$ с ^{177}Lu без носителя в 0,04 М растворе HCl основано на способности образования комплекса иона $^{177}Lu^{3+}$ с комплексообразователем диэтилентриаминпентаацетатом (DTPA) в стехиометрическом соотношении.

Результаты и их обсуждение

Согласно требованиям к препарату, применяемым в медицинской практике, удельная активность для лютеция-177 должна составлять не менее 50 Кюри/мг.

График распределения активности ^{177}Lu:DTPA, построенный по результатам, приведенным в *таблице В4.13 (Приложение В),* приведен на рис.4.9. Как видно из рис.4.9, в указанном режиме хроматографирования R_f комплекса ^{177}Lu:DTPA составляет (0,5). Величина R_f несвязанных ионов $^{177}Lu^{3+}$ составляет (1,0).

В указанных условиях продвижение $^{177}Lu^{3+}$ ионов – 80-120 мм, продвижение комплекса ^{177}Lu:DTPA – 30-70 мм. Процентное соотношение активности включенных ионов $^{177}Lu^{3+}$ в комплекс ^{177}Lu:DTPA ко всей активности хроматограммы при мольном соотношении $^{177}Lu^{3+}$:DTPA 1:1 должно быть не менее 46%, что соответствует удельной активности 50 Кюри/мг. Рассчитанное значение степени мечения препарата хлорида лютеция-177 составило 81,8%.

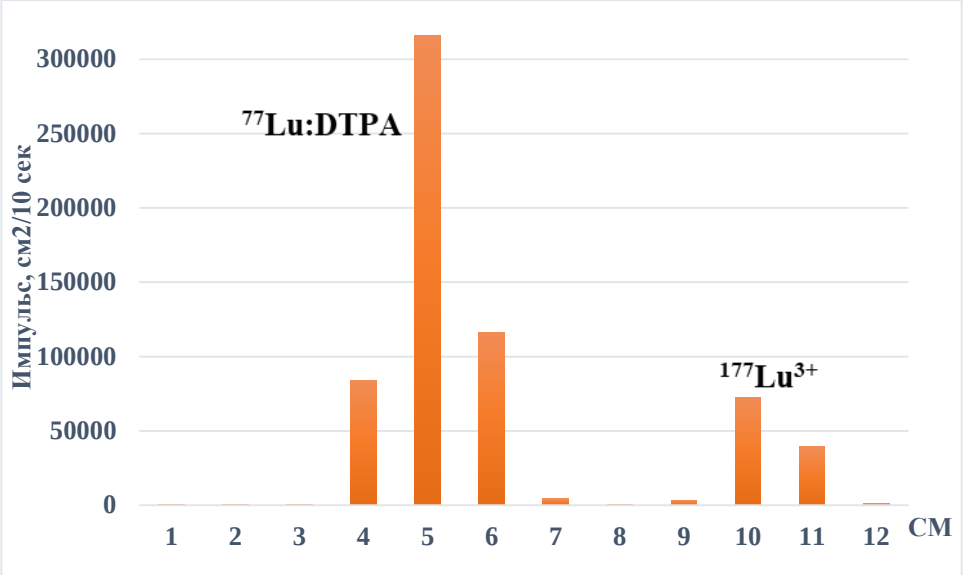

Рис.4.9. График распределения активности ^{177}Lu:DTPA по длине радиохроматограммы

Удельную активность препарата рассчитывали по формуле:

$$УА_{^{177}Lu} = \frac{109{,}7 \times C_{^{177}Lu:DTPA}}{C_0} = \frac{109{,}7 \times 522830}{639156} = 89{,}735 Ku / мг$$

Степень мечения радионуклидом лютеций-177 в форме лютеций хлорид с комплексообразователем диэтилентриаминпентаацетатом (ДТПА) по разработанной методике составила 81,8±0,067%.

Выводы по четвертой главе

Разработанные методики тонкослойной и бумажной хроматографии позволили определить радиохимическую чистоту препарата на основе радионуклида лютеция-177 на уровне 99,7±0,18 %.

Спектрофотометрическая методика определения удельной активности радионуклида лютеция-177 с использованием Арсеназо III позволила определить удельную активность препарата на уровне 106,1 Кюри/мг.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе проведенных исследований по диссертации на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по техническим наукам на тему: **«Разработка методов мониторинга качества радиофармацевтических препаратов на основе йода-125, йода-131 и лютеций-177»**, сделаны следующие выводы:

1. Исследования, проведенные по методам контроля чистоты и удельной активности радиофармпрепаратов на основе йода-125, йода-131 и лютеция-177 показали, что наиболее подходящими для этих целей в случае радионуклидов йода является метод бумажной хроматографии в электрофоретическом исполнении, а для лютеция-177 тонкослойная хроматография.

2. Электрофоретическое определение радиохимической чистоты радионуклида йод-125 и йод-131 позволило сократить время анализа на 30-40 минут и увеличить степень определения чистоты до 99,5 %.

3. Применение для определения радиохимической чистоты радионуклидов реактива Болтона-Хантера, растворов адренокортикотропингипоталамуса и лактопероксидазы позволило впервые исключить влияние холодного йода на определение чистоты продукта и определить степень сшивания с органическими макромолекулами.

4. Впервые использованная для определения удельной активности радионуклидов йода спектрофотометрическая методика позволила исключить влияние побочных продуктов и получить результаты близкие к теоретически расчитанным значениям удельной активности со смещением 2,2% для йод-125 и 2,7 % для йод-131.

5. Разработанная методика определения радиохимической чистоты радионуклида лютеций-177 с использованием тонкослойной хроматографии позволила определить радиохимическую чистоту препарата до 99,7 % с относительной погрешностью 0,048% и суммарной неопределенностью 0,09 %.

6. Разработанная спектрофотометрическая методика определения удельной активности радионуклида лютеция-177 с использованием Арсеназо III позволила определить удельную активность препарата на уровне 106,1 Кюри/мг со смещением на 3,28 %.

7. Разработанные методики прошли валидацию по методикам, предложенным ГУП «Узбекский центр аккредитации» и использованы при получении радионуклидов йода-125, йода-131 и лютеция-177 для производства радиофармацевтических препаратов для ядерной медицины.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Климанов В.А. Лучевая терапия пучками протонов, ионов, нейтронов и пучками с модулированной интенсивностью, стереотаксис, брахитерапия, радионуклидная терапия, оптимизация, гарантия качества. / Радиобиологическое и дозиметрическое планирование лучевой и радионуклидной терапии.: Учебное пособие. Часть 2.– М.: НИЯУ МИФИ, 2011. – 604 с.

2. Матвеев А.В. Моделирование кинетики радиофармпрепаратов с изотопами йода в задачах ядерной медицины // Компьютерные исследования и моделирование. – Ижевск (Россия), 2020. – Т. 12. – № 4. – С. 883–905.

3. Цыб А.Ф., Древаль А.В., Гарбузов П.И. Радиойодтерапия тиреотоксикоза.– М.: ГЕОТАР-Медиа, 2009. – С.160.

4. Матвеев А.В. Моделирование кинетики радиофармпрепаратов с изотопами йода в задачах ядерной медицины // Компьютерные исследования и моделирование. – Россия, 2020. – Т. 12. – № 4. – С. 883–905.

5. Цыб А.Ф. Радионуклидные методы лечения на современном этапе. Передовая лекция. – «Copyright ФГОУ «ГЦИПК» - ГУ-МРНЦ РАМН»: Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск (Россия), 2010. – С.1-8.

6. Климанов В.А. Ядерная медицина радионуклидная диагностика. Учебное пособие для академического бакалавриата. – Москва –Юрайт, 2019. – С.9-14.

7. Наркевич Б.Я., Долгушин М.Б., Крылов В.В., Мещерякова Н.А., Невзоров Д.И. Функциональная оптимизация радионуклидных пар в тераностикt рака предстательной железы. // Онкологический журнал. Ядерная медицина. – Москва (Россия), 2020. – Том 3. – № 1. – С. 38–56.

8. Бейли Д.Л., Таунсенд Д.В., Валк П.Е., Мэйзи М.Н. Позитронно-эмиссионная томография: фундаментальные науки. – Нью-Джерси: Спрингер-Верлаг, 2005. – С. 311-325.

9. Ларенков А.А. Получение препаратов ^{68}Ga высокой химической и радиохимической чистоты для позитронно-эмиссионной томографии: Дис. … канд. хим. наук. – Москва: Федеральный Медицинский Биофизический Центр Имени А.И. Бурназяна, 2015. – С.13-24.

10. Хмелев А.В. Анализ состояния радионуклидного обеспечения позитронной эмиссионной томографии // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2019. – Т. 64. – № 6. – С. 70–81.

11. Woesler B., Kuwert T., Morgenroth C. et al. Noninvasive grading of primary brain tumours: results of a comparative study between SPET with ^{123}I-α-methyl tyrosine and PET with ^{18}F-deoxyglucose // European Journal of Nuclear Medicine. – 1997. – Vol.24(4). – pp.428-34.

12. Kuczer D., Feussner A., Wurm R. et al. ^{123}I-IMT SPECT for evaluation of the response to radiation therapy in high grade gliomas: a feasibility study // The British Journal of Radiology. – 2007. – Vol.80(952). – pp.274-8.

13. Vander Borght T., Asenbaum S., Bartenstein P. et al. EANM Procedure guidelines for brain tumour imaging using labelled amino acid analogues // European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. – 2006. – Vol.33(11). – pp.1374-80.

14. Grosu A.L., Feldmann H., Dick S. et al. Implications of IMT-SPECT for postoperative radiotherapy planning in patients with gliomas // International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics. – 2002. – Vol.54(3). – pp.842-54.

15. Amin A., Moustafa H., Ahmed E. et al. Glioma residual or recurrence versus radiation necrosis: accuracy of pentavalent technetium-99m-dimercaptosuccinic acid [Tc-99m (V) DMSA] brain SPECT compared to proton magnetic resonance spectroscopy (1 H-MRS): initial results // Journal of Neurooncology. – 2012. – Vol.106(3). – pp.579-87.

16. Zechmann Ch.M., Afshar-Oromieh A., Armor T., et al. Radiation dosimetry and first therapy results with a ^{124}I/^{131}I-labeled small molecule (MIP-1095) targeting

PSMA for prostate cancer therapy // European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. – 2014. – Vol. 41. – pp.1280-92.
17. Kratochwil C., Fendle W.P., Eiber M., et al. EANM procedure guidelines for radionuclide therapy with 177Lu-labelled PSMA-ligands (177Lu-PSMA-RLT) // European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. – 2019. – Vol.46. – pp.2536-44.
18. Okamoto Sh., Thieme A., Allmann J., et al. Radiation Dosimetry for 177Lu-PSMA I&T in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Absorbed Dose in Normal Organs and Tumor Lesions // Journal of Nuclear Medicine. – 2017. – Vol. 58. – pp.445-50.
19. Цыб А.Ф., Мардынский Ю.С. Терапевтическая радиология: руководство для врачей. – М.: ООО «МК», 2010. – С. 552.
20. Van Dodewaard-de Jong J., Oprea-Lager D., Hooft L., et al. Radiopharmaceuticals for palliation of bone pain in patients with castration-resistant prostate cancer metastatic to bone: a systematic review // European Urology. –2015. – Vol. 70(3). – pp. 416-426.
21. Богородская М.А., Кодина Г.Е. Химическая технология радиофармацевтических препаратов. Учеб. пособие. – Москва: Федеральный Медицинский Биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА, 2010. – С. 310-316.
22. Приказ Минздрава РФ № 211Н «Об утверждении порядка изготовления радиофармацевтических лекарственных препаратов непосредственно в медицинских организациях» от 27.04.2015.
23. Mohammed A. E., Amal S.F., Ismail T.I., Mona O.S., Magda F.I. Preparation and molecular modeling of radioiodopropranolol as a novel potential radiopharmaceutical for lung perfusion scan // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2015. – Vol 7. – NO. 8.– pp.110-116.
24. Ahmed A.B., Abeer M.A., Afaf E.W., Shoukry S., Shoukry M. Radioiodination of Cephalexin with 125I and Its Biological Behavior in Mice // Pharmacology & Pharmacy. – 2012. – № 3. – pp. 97-102.

25. Manual for reactor produced radioisotopes. – IAEA-TECDOC-1340. – Austria, January 2003. – pp.75-111.
26. Mohamed Ahmed Elwany El-Gizawy. Comparative Studies on the Radiolabeling and Chromatographic Purification of Some Medically Important Compounds: Dissertation PhD. - Alexandria University: Faculty of Science, 2013. – pp. 62-64.
27. Ambade R.N., Shinde S.N., Khan M.S.A., Lohar S.P., Vimalnath K.V., Joshi P.V., Chakraborty S., Pillai M.R.A., Ashutosh D. Development of a dry distillation technology for the production of 131I using medium flux reactor for radiopharmaceutical applications // Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. – 2014. – Vol. 303(1). – pp.1-18.
28. Setiawan Duyeh, Nugraha Nabil Aulia, Hastiawan Iwan. Separation of Radioisotope Iodine-131 from Radiotellurium-131 using Dowex-1x8 resin column chromatography // Journal of Chemistry and Environment.– Indonesia, 2018. – Vol.22. – pp.240-244.
29. Целищев И.В., Савочкин Ю.П., Мельник М.И., Трепалина Т.Ф. Определение радиохимической и радионуклидной чистоты препарата ^{131}I // Радиохимия. – 2007. – Т. 49. – N 2, с. 159-162.
30. Скуридин В.С. Методы и технологии получения радиофармпрепаратов. Учебное пособие для студентов ВУЗов. – Томск: Томский политехнический университет, 2013. – С. 44-53.
31. Khajiev L.O., Sadikov I.I., Abdukayumov A.M., Rikhsiev A.Z. Method for Determining the Radiochemical Purity of Radiopharmaceuticals Based on Iodine-125, Iodine-131 and Samarium-153-oxabifor // International Journal of Emerging Trends in Engineering Research. - EverScience Publications (India), 2021. – Vol. 9, No. 3. – pp. 217-220.
32. Хажиев Л.О., Садиков И.И., Абдукаюмов А.М., Рихсиев А.З. Определение радиохимической чистоты и удельной активности Радионуклида I-125 без

носителя в виде йодида натрия // Вестник молодых ученых. – Ташкент, 2020. – №3-4 (4). – С.127-131

33. Comparative Evaluation of Therapeutic Radiopharmaceuticals. – Technical Reports Series No. 458. – Vienna (IAEA), 2007. – pp. 20-21.

34. Yousefnia H., Jalilian A.R., Abbasi-Davani F., Zolghadri S., Bahrami-Samani A., Ghannadi-Maragheh M., Mazidi M. Preparation and quality control of 177Lu-chitosan for radiosynovectomy // Iranian Journal of Nuclear Medicine. – 2014. – Vol. 22. – No1. – pp.1-6.

35. Das T., Guleria M., Parab A. Clinical translation of 177Lu-labeled PSMA-617: initial experience in prostate cancer patients // Nuclear Medicine and Biology. – 2016. – Vol 43. – No.5. – pp. 296–302.

36. Hermanto S., Haryuni R.D., Ramli M., Mutalib A., Hudiyono S. Synthesis and stability test of radioimmunoconjugate 177Lu-DOTA-F(ab′)2-trastuzumab for theranostic agent of HER2 positive breast cancer // Journal of Radiation Research and Applied Sciences. – 2016. – No.9. – pp. 441-448.

37. Бекман И.Н. Радиационная и ядерная медицина. Радиохимия. Том 4. – Москва, 2012. – С.190-198.

38. Климанов В.А., Беляев В.Н. Физика ядерной медицины. Часть 2. Учебное пособие. – Москва: Министерство образования и науки Российской Федерации Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", 2012. – 248 с.

39. Yarovoy A.A., Golubeva O.V., Dubov D.V., Skvortsov V.G. Personnel radiation exposure during modeling of brachytherapy of orbital tumors with iodine-125 micro-sources // Medical physics. – Moscow, 2011. – №3. – pp. 86-91.

40. Production techniques and quality control of sealed radioactive sources of palladium-103, iodine-125, iridium-192 and ytterbium-169. – IAEA-TECDOC-1512. – Vienna (IAEA), 2006. – pp. 39-43.

41. Тузов А.А. Возможности и перспективы радионуклидной продукции для ядерной медицины в АО «ГНЦ НИИАР» // Презентация НИИАР. –

Димитровград, 12 марта 2018. – С.4. – https://soyuzmash.ru/docs/prez/prez-esfarm-120318-3.PDF

42. Shukla R., Bansal V., Chaudhary M., Basu A., Bhonde R.R., Sastry M. Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: a microscopic overview // Langmuir. – 2005. – Vol. 21. – pp.10644–10654.

43. Shang T., Wang C.D., Ren L., Tian X.H., Li D.H., Ke X.B. Synthesis and characterization of NIR-responsive // Nanoscale Research Letters. – 2013. – Vol.8. – pp.4–11.

44. Brown S.D., Nativo P., Smith J.A., Stirling D., Edwards P.R., Venugopal B. Gold nanoparticles for the improved anticancer drug delivery of the active component of oxaliplatin // Journal of the American Chemical Society. – 2010. – Vol.132. – pp. 4678–4684.

45. Ye K., Qin J., Peng Z., Yang X., Huang L., Yuan F. Polyethylene glycol-modified dendrimer-entrapped gold nanoparticles enhance CT imaging of blood pool in atherosclerotic mice // Nanoscale Research Letters. – 2014. – Vol. 9. – pp.529–540.

46. Wang H., Zheng L., Guo R., Peng C., Shen M., Shi X. Dendrimer-entrapped gold nanoparticles as potential CT contrast agents for blood pool imaging // Nanoscale Research Letters. – 2012. – Vol.7. – pp.190–197.

47. Jeremic B., Aguerri A.R., Filipovic N. Radiosensitization by gold nanoparticles // Clinical and Translational Oncology. – 2013. – Vol. 15. – 593–601.

48. Петровский А.В., Амосова В.А., Черняев В.А., Автомонов Д.Е., Бухаркин Б.В., Шолохов В.Н., Рощин Д.А., Нечушкин М.И., Матвеев В.Б. Брахитерапия с использованием источников I-125 у больных группы умеренного риска // Злокачественные опухоли. – 2017. – Том7. – № 3. – С.38-44.

49. Ксензенко В.И., Стасиневич Д.С. Иод // Химическая энциклопедия: в 5 т. / Гл. ред. И. Л. Кнунянц. – М.: Советская энциклопедия, 1990. – Т. 2: Даффа–Меди. – С. 251-252. – 671 с.

50. Sawka A.M., Brierley J.D., Tsang R.W., Thabane L., Rotstein L., Gafni A., Straus S., Goldstein D.P. An updated systematic review and commentary examining the effectiveness of radioactive iodine remnant ablation in well-differentiated thyroid cancer // Endocrinology and metabolism clinics of North America. – 2008. – Vol.37. – pp.457–480.

51. Middendorp M., Grunwald F. Update on recent developments in the therapy of differentiated thyroid cancer // Seminars in Nuclear Medicine. – 2010. – Vol.40. – pp.145–152.

52. Luster M., Clarke S.E., Dietlein M., Lassmann M., Lind P., Oyen W.J., Tennvall J., Bombardieri E. Guidelines for radioiodine therapy of differentiated thyroid cancer // European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. – European association of nuclear medicine (EANM), 2008. – Vol.35. – pp.1941–1959.

53. Lee S.L. Radioactive iodine therapy // Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity. – 2012. – Vol. 19(5). – pp.420-428.

54. Reiners C., Hanscheid H., Luster M., Lassmann M., Verburg F.A. Radioiodine for remnant ablation and therapy of metastatic disease // Nature Reviews Endocrinology. – 2012. – Vol. 7. – pp.589–595.

55. Haymart M.R., Banerjee M., Yang D., Stewart A.K., Koenig R.J., Griggs J.J. The role of clinicians in determining radioactive iodine use for low-risk thyroid cancer // Cancer. – 2013. – Vol. 119. – pp. 259–265.

56. Ronald J., Weigel I., McDougall R. The role of radioactive iodine in the treatment of well-differentiated thyroid cancer // Surgical Oncology Clinics of North America. – 2006. – Vol.15. – pp. 625–638.

57. Van Nostrand D., Wartofsky L. Radioiodine in the treatment of thyroid cancer // Endocrinology and metabolism clinics of North America. – 2007. –Vol. 36. – pp. 807–822.

58. Voo S., Bucerius J., Mottaghy F.M. I-131-MIBG therapies //Methods. – 2011. – Vol. 55. – pp. 238–245.

59. Rufini V., Treglia G., Castaldi P., Perotti G., Giordano A. Comparison of metaiodobenzylguanidine scintigraphy with positron emission tomography in the diagnostic work-up of pheochromocytoma and paraganglioma: a systematic review // Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. – 2013. – Vol. 57. – pp. 122–133.
60. Rufini V., Treglia G., Perotti G., Giordano A. The evolution in the use of MIBG scintigraphy in pheochromocytomas and paragangliomas // Hormones (Athens). – 2013. – Vol. 12. – pp. 58–68.
61. Vallabhajosula S., Nikolopoulou A. Radioiodinated metaiodobenzylguanidine (MIBG): radiochemistry, biology, and pharmacology // Seminars in Nuclear Medicine. – 2011. – Vol. 41. – pp. 2324–333.
62. Grunwald F., Ezziddin S. 131I-metaiodobenzylguanidine therapy of neuroblastoma and other neuroendocrine tumors // Seminars in Nuclear Medicine. – 2010. – Vol. 40. – pp. 153-163.
63. Василенко И.Я. Радиоактивный йод // Энергия: экономика, техника, экология. – М.: изд. Наука, 2003. – №5. – С. 57–62.
64. Кодина Г.Е., Красикова Р.Н. Методы получения радиофармацевтических препаратов и радионуклидных генераторов для ядерной медицины. – М., 2014. – С. 60.
65. De Araujo E.B., Caldeira Filho J.S., Nagamati L.T., Muramoto E., Colturato M.T., Couto R.M., Pujatti P.B., Mengatti J., Silva C.P.G. A comparative study of 131I and 177Lu labeled somatostatin analogues for therapy of neuroendocrine tumours // Applied Radiation and Isotopes. – 2009. – Vol. 67. – . 227–233.
66. Болдырев П.П., Курочкин А.В., Нуритдинов Р.Ф., Прошин М.А., Чувилин Д.Ю., Яшин Ю.А. Электрохимический способ получения радионуклида Lu-177 высокой удельной активности // Вестник Московского университета. Сер. 2. Химия. –2016. –Т. 57. – № 3. – С.184-190.
67. Le Van S., Morcos N., Zaw M., Pellegrini P., Greguric I. Alternative chromatographic processes for no-carrier added 177Lu radioisotope separation //

Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. – 2008. – Vol. 277. – No3. – pp. 663–673.
68. Новиков С.Г., Беринцев А.В., Алексеев А.С., Светухин В.В., Жуков А.В., Фомин А.Н., Кузнецов Р.А., Городецкий В.Г., Карболин П.В., Предеина М.А., Ившин С.А., Ильин К.И., Марков Д.В. Разработка технологии производства трихлорида лютеция-177: Инженерные аспекты // Современные наукоемкие технологии. – 2018. – № 9. – С. 81-87.
69. Baum R.P., Kluge A.W., Kulkarni H., Schorr-Neufing U., Niepsch K., Bitterlich N., Echteld C.J. [(177) Lu-DOTA] (0)-D-Phe(1)-Tyr (3)-Octreotide ((177)Lu-DOTATOC) for peptide receptor radiotherapy in patients with advanced neuroendocrine tumours: A phase-ii study // Theranostics. – 2016. – Vol. 6(4). – pp. 501–510.
70. Медведева А.А., Чернов В.И., Усынин Е.А., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Лушникова Н.А. Использование 177Lu-ПСМА для радионуклидной терапии у пациентов с кастрационно-резистентным раком предстательной железы // Сибирский онкологический журнал. – 2021. – № 20(3). – С. 115–123.
71. Наркевич Б.Я., Долгушин М.Б., Крылов В.В., Мещерякова Н.А., Невзоров Д.И. Функциональная оптимизация радионуклидных пар в тераностики рака предстательной железы // Онкологический журнал. Ядерная медицина. – 2020. – Т. 3. – №1. – С. 38-56.
72. Ezgi Ilan, Mattias Sandstrom, Cecilia. Wassberg, Anders Sundin, Ulrike Garske-Roman, Barbro Eriksson, Dan Granberg, and Mark Lubberink. Dose Response of pancreatic Neuroendocrine Tumors Treated with peptide Receptor Radionuclide Therapy Using 177Lu-DOTATATE. Nucl Med. February 2015; 56 (2): -pp.177-182
73. Manual for reactor produced radioisotopes. – IAEA-TECDOC-1340. –Austria, 2003. – pp.75-111.
74. Зукау В.В. Возможность получения I-125 в реакторной петле на исследовательском реакторе ИРТ-Т // Современные техника и технологии: сборник трудов XV Международной научно-практической конференции

студентов, аспирантов и молодых ученых, Томск, 4-8 мая 2009 г.: в 3 т. – Томск: Изд-во ТПУ, 2009. – С.50-51.

75. Патент РФ G21G 1/02. Устройства для преобразования химических элементов с помощью электромагнитного и корпускулярного излучения или путем бомбардировки частицами, например, образование радиоактивных изотопов: в ядерных реакторах / Курина И.С., Хаваев Н.Н., Долгов В.В., Попов В.В., Сметанин Э.Я. – Физико-энергетический институт им. акад. А.И.Лейпунского (Россия), 20.11.1998.

76. Wal'a Al-jubeh, Ansam Shaheen, and Othman Zalloum. Radioiodine I-131 for Diagnosing and Treatment of Thyroid Diseases. Applied Physics Department, College of Applied Sciences, Palestine Polytechnic University Hebron, Palestine:2012. P.1-6.

77. Богородская М.А., Кодина Г.Е. Химическая технология радиофармацевтических препаратов. Учеб. пособие. – Москва: Федеральный Медицинский Биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА, 2010. – С. 190-193.

78. Кодина Г.Е., Красикова Р.Н. Методы получения радиофармацевтических препаратов и радионуклидных генераторов для ядерной медицины. – Москва: Издательский дом МЭИ, 2014. – С.55-57.

79. Akhmedov J.A., Usarov Z.O., Abdukayumov A.M., Rikhsiev A.Z., Sherov O.O. Chromatographic method of separation of radionuclide lutetium-177, carrier free from macro-quantities of ytterbium // International engineering journal for research & development. – India, 2022. – $N_0$1. – pp.165-169.

80. Ali Bahrami-Samani, Akbar Anvari, Amir Reza Jalilian, Simindokht Shirvani-Arani, Hassan Yousefnia, Mahmoud Reza Aghamiri and Mohammad Ghannadi-Maragheh. Production, Quality Control and Pharmacokinetic Studies of ^{177}Lu-EDTMP for Human Bone Pain Palliation Therapy Trials // Iranian Journal of Pharmaceutical Research. – 2012. – No.11(1). – P.137-144.

81. Тарасов В.А., Романов Е.Г., Кузнецов Р.А. Сравнительный анализ схем реакторной наработки лютеция-177 // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2013. – Т. 15. – №4(5). – С. 1084-1090.

82. Новиков С.Г., Беринцев А.В., Алексеев А.С., Светухин В.В., Жуков А.В., Фомин А.Н., Кузнецов Р.А., Городецкий В.Г., Карболин П.В., Предеина М.А., Ившин С.А., Ильин К.И., Марков Д.В. Разработка технологии производства трихлорида лютеция-177: Инженерные аспекты // Современные наукоемкие технологии. – 2018. – № 9. – С. 81-87.

83. Садиков И.И. Нейтронно-активационный анализ высокочистых веществ и технологических материалов: Дис. … докт. тех. наук. – Ташкент: ИИПЛТ АН РУз, 2018. – С.47.

84. Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации. Неопределенность измерения. ГОСТ 34100.3-2017/ISO/IEC Guide 98-3:2008. -Москва, 2018. –С.23-27.

85. Министерство здравоохранения российской федерации. Статистическая обработка результатов химического эксперимента. ОФС.1.1.0013.15. -Россия, 2018. –С.18-20.

86. Khajiev L.O., Sadikov I.I., Abdukayumov A.M., Rikhsiev A.Z. Method for Determining the Radiochemical Purity of Radiopharmaceuticals Based on Iodine-125, Iodine-131 and Samarium-153-oxabifor // *International Journal of Emerging Trends in Engineering Research*. – Ever Science Publications (India), 2021. – Vol. 9, No. 3. – pp. 217-220.

87. Хажиев Л.О., Садиков И.И., Абдукаюмов А.М., Рустамов Н.М. Определение радиохимической чистоты и радионуклидной чистоты йодида натрия, меченого радионуклидом I-125 без носителя // *Доклады Академии наук Республики Узбекистан*. – Ташкент: Академия наук РУз, 2022. – №2. – С. 55-60.

88. Хажиев Л.О., Садиков И.И., Абдукаюмов А.М., Рихсиев А.З. Определение радиохимической чистоты и удельной активности Радионуклида I-125 без

носителя в виде йодида натрия // Вестник молодых ученых. – Ташкент, 2020. – №3-4 (4). – С.127-131

89. Хажиев Л.О., Садиков И.И., Абдукаюмов А.М., Усаров З.О. Изучение степени связывания радионуклида йод-125 с различными биологическими макромолекулами // *Universum: химия и биология.* – Москва: Международный центр науки и образования (Россия), 2021. – №11(89). – С.57-60.

90. Khajiev L.O., Sadikov I.I., Abdukayumov A.M., Usarov Z.O. Determination of radiochemical purity and specific activity of radionuclide lutetium-177 chloride without carrier/ *Uzbek Journal of Physics.* – Tashkent: Institute of Ion-Plasma and Laser Technologies Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 2022. – Vol.24. – №1. – pp.55-61.

СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ, СИМВОЛОВ И ТЕРМИНОВ

D – коэффициент распределения

DTPA- диэтилентриаминпентауксусная кислота

IMT- йод-а-метилтирозин

LOD- Levels of Detail - уровни детализации в моделировании

LOQ- Limit of Quantification – предел количественного определения

PSMA- простатический специфический мембранный антиген (prostate-specific membrane antigen)

R_f- (relative to front)- величина, характеризующая положение хроматографической зоны анализируемого вещества относительно фронта элюента после проведения разделения.

АКТГ- адренокортикотропингипоталамус

Б-Х- Болтона-Хантера (3-(4-гидроксифенил) пропионовой кислоты N-гидроксисукцинимидный эфир)

БХ- бумажная хроматография

ДОС- диапазон определяемых содержаний

ДОТА- 1,4,7,10- тетраазоциклододекан-1,4,7,10- тетраил-уксусная кислота

ДОФА- 3,4-дигидроксифенилаланин

КТ- компьютерная томография

ЛП- лактопероксидаза

МИБИ- метоксиизобутилизонитрил

МРТ- магнитно-резонансная томография

ОИГ- о-йодгиппуровая кислота

ОФЭКТ – однофотонной эмиссионной компьютерной томографии

ПКО- предел количественного определения

ПО - предел обнаружения

ПР- произведение растворимости

ПФ – подвижная фаза

ПЭТ- позитронно-эмиссионная томография

РИТ- радиоиммунотерапия

РМГ- рекомендации по межгосударственной стандартизации

РНД – радионуклидная диагностика

РНТ- радионуклидная терапия

РПЖ- рак предстательной железы

РФЛП – радиофармацевтический лекарственной препарат

РФП – радиофармацевтический препарат

РХП- радиохимические примеси

РХЧ – радиохимическая чистота

РЩЖ- рак щитовидной железы

СКО- среднее квадратичное отклонение

ТСХ- тонкослойная хроматография

УА- удельная активность

ФДГ- фтордезоксиглюкоза

ХЛТ - хлорамин-Т

ХП- хроматографическая пластинка

Э.З. – электронный захват

ЯМ – ядерная медицина

d_i – разность $X_i - \bar{X}$

d- смещения

$\bar{X}$ –среднее значение

X_{ref}-опорное значение

НТД – нормативно- техническая документация

Приложение А

Методы и объекты исследования

Таблица А2.1

Критерий Кохрена. Критические значения для доверительной вероятности P = 0,95

f	v = n – 1				
	1	2	3	4	5
2	0,999	0,975	0,939	0,906	0,877
3	0,967	0,871	0,798	0,746	0,707
4	0,906	0,768	0,684	0,629	0,590
5	0,841	0,684	0,598	0,544	0,506
6	0,781	0,616	0,532	0,480	0,445
7	0,727	0,561	0,480	0,431	0,397
8	0,680	0,516	0,438	0,391	0,360
9	0,638	0,478	0,403	0,358	0,329
10	0,602	0,445	0,373	0,331	0,303
11	0,570	0,417	0,348	0,308	0,281
12	0,541	0,392	0,326	0,288	0,262
13	0,515	0,371	0,307	0,271	0,243
14	0,492	0,352	0,291	0,255	0,232
15	0,471	0,335	0,276	0,242	0,220
16	0,452	0,319	0,262	0,230	0,208
17	0,434	0,305	0,250	0,219	0,198
18	0,418	0,293	0,240	0,209	0,189
19	0,403	0,281	0,230	0,200	0,181
20	0,389	0,270	0,220	0,192	0,174
21	0,377	0,261	0,212	0,185	0,167
22	0,365	0,252	0,204	0,178	0,160
23	0,354	0,243	0,197	0,172	0,155
24	0,343	0,235	0,191	0,166	0,149
25	0,334	0,228	0,185	0,160	0,144
26	0,325	0,221	0,179	0,155	0,140
27	0,316	0,215	0,173	0,150	0,135
28	0,308	0,209	0,168	0,146	0,131
29	0,300	0,203	0,164	0,142	0,127
30	0,293	0,198	0,159	0,138	0,124
31	0,286	0,193	0,155	0,134	0,120
32	0,280	0,188	0,151	0,131	0,117
33	0,273	0,184	0,147	0,127	0,114
34	0,267	0,179	0,144	0,124	0,111
35	0,262	0,175	0,140	0,121	0,108
36	0,256	0,172	0,137	0,118	0,106
37	0,251	0,168	0,134	0,116	0,103
38	0,246	0,164	0,131	0,113	0,101
39	0,242	0,161	0,129	0,111	0,099
40	0,237	0,158	0,126	0,108	0,097

где *f*- число серий опытов; *n* - число измерений в серии; +*v* - число степеней свободы (*n-1*).

Таблица А2.2

Коэффициент охвата при различной доверительной вероятности

P,%	50	68,27	90	95	95,45	99	99,73
α	0,674	1,0	1,64	1,96	2,0	2,58	3,0

Приложение Б

Аналитический контроль радиофармацевтического препарата на основе радионуклида йод-125 и йод-131

Таблица Б3.1

Результаты измерений РХЧ препарата натрия йодида с йодом-125 методом ТСХ (n=6, P=0.95)

Фон (количество импульсов за 10 секунд без полоски) 200			
№ отрезка ХП	Количество импульсов	*№ отрезка ХП*	*Количество импульсов*
1	**1050**	6	**13652**
2	**1597**	7	**35579**
3	**1031**	8	**23487**
4	978	9	320
5	917		
Сумма импульсов в пике, без фона		$\Sigma_{пик}$	**72718±2,9**
Сумма импульсов всей полоски, без фона		$\Sigma_{общ}$	**78611±2,5**
Радиохимическая чистота		РХЧ, %	**92,5 ±0,85%**

Примечание: s^2-дисперсия ($\Sigma_{пик} - 8{,}41$; $\Sigma_{общ} - 6{,}25$), s-стандартное отклонение ($\Sigma_{пик} - 2{,}9$; $\Sigma_{общ} - 2{,}5$), ΔX – предельная погрешность, $t\,(P, f)$ – критерий Стьюдента – 2,57.

Таблица Б3.2

Результаты измерений РХЧ препарата йодида натрия с йодом-131 методом ТСХ (n=6, P=0.95)

Фон (количество импульсов за 10 секунд без полоски) 200			
№ сегмента ХП	Количество импульсов	№ сегмента ХП	*Количество импульсов*
1	**2247**	6	**1502**
2	256	7	**296828**
3	296	8	**23696**
4	309	9	284
5	298	10	302
Сумма импульсов в пике, с вычетом фона		$\Sigma_{пик}$	**321426±5,82**
Сумма импульсов всей полоски, с вычетом фона		$\Sigma_{общ}$	**324018±5,82**
Радиохимическая чистота		РХЧ, %	**99,2±0,2 %**

Примечание: s^2-дисперсия ($\Sigma_{пик} - 33{,}87$; $\Sigma_{общ} - 33{,}87$), s-стандартное отклонение ($\Sigma_{пик} - 5{,}82$; $\Sigma_{общ} - 5{,}82$), $\pm\Delta X$ – предельная погрешность, $t\,(P, f)$ – критерий Стьюдента – 2,57.

Таблица Б3.3

Результаты измерений РХЧ препарата йодида натрия с йодом-131 методом БХ (n=6, P=0.95).

Фон (количество импульсов за 10 секунд без полоски) 200			
№ отрезка ХП	*Количество импульсов*	*№ отрезка ХП*	*Количество импульсов*
1	**1659**	6	**1016**
2	**597**	7	**257866**
3	**331**	8	**16578**
4	308	9	258
5	206	10	257
Сумма импульсов в пике, с вычетом фона		$\Sigma_{пик}$	**274860±12**
Сумма импульсов всей полоски, с вычетом фона		$\Sigma_{общ}$	**277076±12,2**
Радиохимическая чистота		РХЧ, %	**99,2±0,2 %**

Примечание: s^2-дисперсия ($\Sigma_{пик} - 144$; $\Sigma_{общ} - 148{,}84$), s-стандартное отклонение ($\Sigma_{пик} - 12$; $\Sigma_{общ} - 12{,}2$),$\pm\Delta X$ – предельная погрешность, $t\,(P, f)$ – критерий Стьюдента – 2,57.

Таблица Б3.4

Результаты измерений РХЧ препарата йодида натрия с йодом-125 электрофоретическим методом на приборах Ludlum-2200 и X-123 (Amptek) (n=6, P=0.95). Время измерения 10 сек., значение фона-200 импульсов

Ludlum-2200				*X-123 (Amptek)*			
№ отрезка	*Имп.*	*№ отрезка*	*Имп.*	*№ отрезка*	*Имп*	*№ отрезка*	*Имп*
1	228	8	202	1	**37**	8	16
2	216	9	205	2	16	9	**184**
3	227	10	**1016**	3	12	10	**1502**
4	**228**	11	**16578**	4	20	11	**29682**
5	**331**	12	**25786**	5	**179**	12	**23696**
6	**239**	13	**15785**	6	**91**	13	**11724**
7	209	14	208	7	17	14	15
Сумма импульсов в пике, с вычетом фона, $\Sigma_{пик}$			58365$\pm$**2,1**	Сумма импульсов в пике, с вычетом фона, $\Sigma_{пик}$			66788$\pm$**1,47**
Сумма импульсов всей полоски, с вычетом фона, $\Sigma_{общ}$			58658$\pm$**2,1**	Сумма импульсов всей полоски, с вычетом фона, $\Sigma_{общ}$			67191$\pm$**3,0**
Радиохимическая чистота, РХЧ, %			99,5±0,4%	Радиохимическая чистота, РХЧ, %			99,4±0,35%

Примечание: s^2-дисперсия (Ludlum – 2200: $\Sigma_{пик} - 4{,}41$; $\Sigma_{общ} - 4{,}41$; X – 123 (Amptek)$\Sigma_{пик} - 2{,}16$; $\Sigma_{общ} - 9$), s-стандартное отклонение (Ludlum – 2200: $\Sigma_{пик} - 2{,}1$; $\Sigma_{общ} - 2{,}1$; X – 123 (Amptek): $\Sigma_{пик} - 1{,}47$; $\Sigma_{общ} - 3{,}0$), $\pm\Delta X$ – предельная погрешность, $t\,(P, f)$ – критерий Стьюдента – 2,57.

Таблица Б3.5

Результаты измерений РХЧ препарата йодида натрия с йодом-131 электрофоретическим методом (n=6, P=0.95)

Фон (количество импульсов за 10 секунд без полоски) 200			
№ сегмента ХП	*Количество импульсов, n=5*	*№ сегмента ХП*	*Количество импульсов, n=5*
1	316	8	304
2	260	9	316
3	284	10	**3060**
4	**430**	11	**19308**
5	**4326**	12	**850100**
6	**438**	13	**180423**
7	352	14	261
Сумма импульсов в пике, с вычетом фона		$\Sigma_{пик}$	**1052091±4,1**
Сумма импульсов всей полоски, с вычетом фона		$\Sigma_{общ}$	**1057378±4,1**
Радиохимическая чистота		РХЧ, %	**99,5±0,2 %**

Примечание: s^2-дисперсия ($\Sigma_{пик} - 16{,}81$; $\Sigma_{общ} - 16{,}81$), s-стандартное отклонение ($\Sigma_{пик} - 4{,}1$; $\Sigma_{общ} - 4{,}1$), $\pm\Delta X$ – предельная погрешность, $t(P, f)$ – критерий Стьюдента – 2,57.

Таблица Б3.6

Результаты измерений РХЧ препарата йодида натрия с йодом-125 электрофоретическим методом (n=6, P=0.95)

Фон (количество импульсов за 10 секунд без полоски) 200			
№ отрезка ХП	*Количество импульсов n=6*	*№ отрезка ХП*	*Количество импульсов n=6*
1	218	8	202
2	206	9	205
3	207	10	**1160**
4	**218**	11	**15786**
5	**355**	12	**25687**
6	**263**	13	**15578**
7	208	14	206
Сумма импульсов в пике, с вычетом фона		$\Sigma_{пик}$	**57411±2,9**
Сумма импульсов всей полоски, с вычетом фона		$\Sigma_{общ}$	**57699±2,5**
Радиохимическая чистота		РХЧ, %	**99,5** ±0,4%

Примечание: s^2-дисперсия ($\Sigma_{пик} - 8{,}41$; $\Sigma_{общ} - 6{,}25$), s-стандартное отклонение ($\Sigma_{пик} - 2{,}9$; $\Sigma_{общ} - 2{,}5$), $\pm\Delta X$ – предельная погрешность, $t(P, f)$ – критерий Стьюдента – 2,57.

Таблица Б3.8

Определение селективности метода измерением РХЧ препарата при различных значениях pH

При pH=10,5				*При pH-8,5*			
№	*РХЧ*	X_I-$X_{ср}$	$(X_I-X_{ср})^2$	*№*	*РХЧ*	X_I-$X_{ср}$	$(X_I-X_{ср})^2$
1	99,5	0,18	0,0324	1	99,39	0,21	0,0441
2	99,67	0,01	0,0001	2	99,35	0,25	0,0625
3	99,7	-0,02	0,0004	3	99,42	0,18	0,0324
4	99,56	0,12	0,0144	4	99,58	0,02	0,0004
5	99,57	0,11	0,0121	5	99,37	0,23	0,0529
6	99,55	0,13	0,0169	6	99,38	0,22	0,0484
7	99,54	0,14	0,0196	7	99,57	0,03	0,0009
8	99,57	0,11	0,0121	8	99,59	0,01	1E-04
9	99,66	0,02	0,0004	9	99,55	0,05	0,0025
10	99,5	0,18	0,0324	10	99,39	0,21	0,0441
$X_{ср}$	99,6	Σ	0,1084	$X_{ср}$	99,48	Σ	0,2442
f	9			f	9		
s^2	0,012044			s^2	0,027133		
s_1	0,109747			s_2	0,164722		
n_1	10						

Таблица Б3.9

Критические значения критерия t-Стьюдента

f	*Доверительная вероятность*			*f*	*Доверительная вероятность*		
	P=95%	*P=99%*	*P=99,9%*		*P=95%*	*P=99%*	*P=99,9%*
1	12,71	63,60		21	2,08	2,83	3,82
2	4,3	9,93	31,6	22	2,07	2,82	3,79
3	3,18	5,84	12,94	23	2,07	2,81	3,77
4	2,78	4,60	8,61	24	2,06	2,80	3,75
5	2,57	4,03	6,86	25	2,06	2,79	3,73
6	2,45	3,71	5,96	26	2,06	2,78	3,71
7	2,37	3,50	5,41	27	2,05	2,77	3,69
8	2,31	3,36	5,04	28	2,05	2,76	3,67
9	2,26	3,25	4,78	29	2,04	2,76	3,66
10	2,23	3,17	4,59	30	2,04	2,75	3,65
11	2,20	3,11	4,44	40	2,02	2,70	3,55
12	2,18	3,06	4,32	50	2,01	2,68	3,50
13	2,16	3,01	4,22	60	2,00	2,66	3,46
14	2,15	2,98	4,14	80	1,99	2,64	3,42
15	2,13	2,95	4,07	100	1,98	2,63	3,39
16	2,12	2,92	4,02	120	1,98	2,62	3,37
17	2,11	2,90	3,97	200	1,97	2,60	3,34
18	2,10	2,88	3,92	500	1,96	2,59	3,31
19	2,09	2,86	3,88	∞	1,96	2,58	3,29
20	2,09	2,85	3,85				
f	p-0,05	p-0,01	p-0,001	*f*	p-0,05	p-0,01	p-0,001
	Уровень значимости				Уровень значимости		

Таблица Б3.10

Измерение РХЧ препарата с различной активностью

Нанесенная активность, МБк	Радиохимическая чистота, %	Число измерений, *n*
0,37	99,3	10
0,555	99,4	10
0,74	99,5	10
1,11	99,6	10
1,48	99,7	10
1,85	99,8	10
Коэффициент корреляции, *r*	*0,998*	
Коэффициент детерминации, R^2	0,996% В 99,6 % случаев изменения *x* приводят к изменению *y*. Точность подбора уравнения регрессии – 99,6 %	

Таблица Б3.11

Результаты теста «Внутрилабораторная прецизионность», выполненного при валидации методик определения радиохимической чистоты препарата «Раствор йодида натрия с йодом-125, без носителя»

№	День	Ф.И.	Результаты измерения		$(X_1-X_2)^2$	$X_{ср}$	$X_{ср}^2$
			X_1	X_2			
1	25.01.2022	Аналитик-1	99,62	99,59	0,0009	99,605	9921,1561
2	25.01.2022	Аналитик-1	99,6	99,58	0,0004	99,59	9918,1681
3	26.01.2022	Аналитик-2	99,52	99,48	0,0016	99,5	9900,2500
4	26.01.2022	Аналитик-2	99,35	99,45	0,0100	99,40	9880,3600
5	27.01.2022	Аналитик-1	99,55	99,5	0,0025	99,525	9905,2256
6	27.01.2022	Аналитик-1	99,48	99,54	0,0036	99,510	9902,2401
7	28.01.2022	Аналитик-2	99,33	99,4	0,0049	99,365	9873,4032
8	28.01.2022	Аналитик-2	99,35	99,42	0,0049	99,385	9877,3782
p		8					
$T_1 = \Sigma X_{ср}$						795,880	
$T_2 = \Sigma X_{ср}^2$							79178,181
$T_3 = \Sigma(x_1 - x_2)^2$					0,02880		
$S_r^2 = T_3/2p$					0,0018	S_r	0,0424264069
						RSD_r(%)	0,043%
S_L^2=(p× $T_2 - T_1^2$)/(p× $(p-1)$)-$S_r^2/2$					0,0076		
$S_R^2 = S_L^2 + S_r^2$					0,0094	S_R	0,096953597
						RSD_R (%)	0,097%
r					0,12	m=T_1/p	99,485
R					0,274226184		

Таблица Б3.12

Результаты расчета радиохимической чистоты наносимой пробы раствора йодида натрия с йодом-125, без носителя

Активность препарата, МБк	*Радиохимическая чистота препарата, X_i*	*Число измерений, n*	**Стандартное отклонение, s*
0,37	99,1	10	0,0142
0,555	99,15	10	
0,74	99,25	10	
1,11	99,35	10	
1,48	99,48	10	
1,85	99,6	10	
Коэффициент корреляции, *r*	*0,998*		
Коэффициент детерминации, R^2	0,996% В 99,6% случаев изменения *x* приводят к изменению *y*. Точность подбора уравнения регрессии – 99,6%		

Таблица Б3.13

Результаты измерений Аналитик-2, полученные через 30 минут после измерений Аналитик-1

m	*Активность нанесенной пробы, МБк*	*РХЧ препаратов X_i*	*di*	*di^2*	*f,(m-1)*	*S стандартное отклонения*
Аналитик №1						
1	1,85	99,59	-0,01	0,0001	9	0,0125
2		99,6	0	0		
3		99,61	0,01	1E-04		
4		99,59	-0,01	0,0001		
5		99,59	-0,01	0,0001		
6		99,62	0,02	0,0004		
7		99,58	-0,02	0,0004		
8		99,61	0,01	1E-04		
9		99,61	0,01	1E-04		
10		99,6	0	0		
$\overline{X}$		99,6	Σ	0,0014		
Аналитик №2						
1	1,85	99,51	-0,04	0,0016	9	0,08
2		99,45	-0,1	0,01		
3		99,61	0,06	0,0036		
4		99,46	-0,09	0,0081		
5		99,57	0,02	0,0004		
6		99,62	0,07	0,0049		
7		99,44	-0,11	0,0121		
8		99,65	0,1	0,01		
9		99,63	0,08	0,0064		
10		99,56	0,01	0,0001		

m	*Активность нанесенной пробы, МБк*	*РХЧ препаратов X_i*	*di*	*di^2*	*f,(m-1)*	*S стандартное отклонения*
$\overline{X}$		99,55	Σ	0,0572		

Таблица Б3.14

Результаты расчета радиохимической чистоты наносимой пробы раствора йодида натрия с йодом-125, без носителя

Активность препараты, МБк	Радиохимическая чистота препарата, X_i	Число измерений, *n*
0,37	99,1	10
0,74	99,25	10
1,11	99,35	10
1,48	99,48	10
1,85	99,6	10
Коэффициент корреляции, *r*	*0,998*	
Коэффициент детерминации, R^2	0,996 % В 99,6 % случаев изменения *x* приводят к изменению *y*. Точность подбора уравнения регрессии – 99,6 %	

Таблица Б3.15

Расчет неопределенности трех параллельных результатов испытаний валидационного протокола методики определения радиохимической чистоты препаратов с йодом-125

№	X_1	X_2	X_3	$X_{ср}$	uA	Δ= 10%	$uB=\Delta/\sqrt{3}$	u	u_c
1	25	30	32	29	2,082	2,9	1,6743	2,671	0,00998
2	10	8	15	11	2,082	1,1	0,635	2,1764	0,00813
3	9	7	14	10	2,082	1	0,57735	2,16	0,00807
4	16	21	23	20	2,082	2	1,1547	2,38	0,00889
5	8	12	10	10	1,1547	1	0,57735	1,29	0,00482
6	9	8	13	10	1,5275	1	0,57735	1,633	0,0061
7	1	1	1	1	0	0,1	0,057735	0,0577	0,00022
8	3	4	8	5	1,5275	0,5	0,2887	1,554	0,00581
9	368	380	371	373	3,6056	37,3	21,5352	21,835	0,000319
10	24560	24545	24557	24554	4,5826	2455,4	1417,626	1417,63	0,019684
11	1625	1645	1641	1637	6,11	163,7	94,51	94,71	0,00138
12	5	9	10	8	1,5275	0,8	0,462	1,596	0,00596
РХЧ= (9+10+11)*100/(1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12)									

Таблица Б3.16

Определение селективности метода измерением РХЧ препарата при различных значениях pH

При pH-11				*При pH-8,5*			
№	*РХЧ*	X_I-$X_{ср}$	$(X_I-X_{ср})^2$	*№*	*РХЧ*	X_I-$X_{ср}$	$(X_I-X_{ср})^2$
1	99,4	-0,1	0,01	1	99,39	-0,05	0,0025
2	99,37	-0,13	0,0169	2	99,37	-0,07	0,0049
3	99,6	0,1	0,01	3	99,52	0,08	0,0064
4	99,46	-0,04	0,0016	4	99,48	0,04	0,0016
5	99,47	-0,03	0,0009	5	99,53	0,09	0,0081
6	99,62	0,12	0,0144	6	99,38	-0,06	0,0036
7	99,54	0,04	0,0016	7	99,5	0,06	0,0036
8	99,63	0,13	0,0169	8	99,39	-0,05	0,0025
9	99,46	-0,04	0,0016	9	99,45	0,01	0,0001
10	99,45	-0,05	0,0025	10	99,39	-0,05	0,0025
$X_{ср}$	99,5	Σ	0,0764	$X_{ср}$	99,44	Σ	0,0358
f	9			f	9		
s^2	0,008489			s^2	0,03978		
s_1	0,092135			s_2	0,06307		
n_1	10			n_2	10		

Таблица Б3.17

Измерение РХЧ препарата с различной активностью

Нанесенная активность, МБк	Радиохимическая чистота, %	Число измерений, *n*
0,37	99,0	10
0,555	99,1	10
0,74	99,2	10
1,11	99,4	10
1,48	99,56	10
1,85	99,7	10
Коэффициент корреляции, *r*	*0,997*	
Коэффициент детерминации, R^2	0,9947% В 99,47 % случаях изменения *x* приводит к изменению *y*. Точность подбора уравнения регрессии – 99,47 %	

Таблица Б3.18

Результаты теста «Внутрилабораторная прецизионность», выполненного при валидации методик определения радиохимической чистоты препарата «Раствор йодида натрия с йодом-131, без носителя»

No	Дата	Ф.И.	x_1	x_2	$X_{ср}$= (x1+x2)/2	$(X_{ср})^2$	(x_1-x_2)	$(x_1 – x_2)^2$
1	19.01.2022	Аналитик1	99,6	99,58	99,590	9918,1681	0,02	0,0004
2	19.01.2022	Аналитик1	99,59	99,56	99,575	9915,1806	0,03	0,0009
3	20.01.2022	Аналитик2	99,52	99,44	99,480	9896,2704	0,08	0,0064
4	20.01.2022	Аналитик2	99,5	99,42	99,460	9892,2916	0,08	0,0064
5	21.01.2022	Аналитик1	99,55	99,5	99,525	9905,2256	0,05	0,0025
6	21.01.2022	Аналитик1	99,48	99,43	99,455	9891,2970	0,05	0,0025
p=		6						
T_1=Σxx					**597,085**			
T_2=$ΣX_{ср}^2$						**59418,433**		
T_3=$Σ(x_1-x_2)^2$							**0,01910**	
s_r^2=**T_3**/2p					0,001592	**s_r**	**0,039895697**	
						RSD_r(%)	0,040%	
s_L^2=(p×**T_2**-**T_1^2**)/(p×(p-1))-s_r^2/2					0,002638			
s_R^2= s_L^2+ s_r^2					0,00423	**s_R**	**0,06503845**	
						RSD_R (%)	0,065%	
r,					**0,11284**	m=**T_1**/p	99,51416667	
R,					**0,18396**			

Таблица Б3.19

Результаты расчета радиохимической чистоты наносимой пробы, раствор йодида натрия с йодом-131, без носителя

Активность препарата, МБк	*Радиохимическая чистота препарата, X_i*	*Число измерений, n*	**Стандартное отклонение, s*
0,37	99,0	10	0,022
0,555	99,1	10	
0,74	99,2	10	
1,11	99,4	10	
1,48	99,56	10	
1,85	99,7	10	
Коэффициент корреляции, *r*	*0,997*		
Коэффициент детерминации, R^2	0,9947 В 99,47% случаев изменения *x* приводят к изменению *y*. Точность подбора уравнения регрессии – 99,47%		

Таблица Б3.20

Результаты измерений Аналитик-2, полученные через 30 минут после измерений Аналитик-1

m	Активность нанесенной пробы, МБк	РХЧ препаратов X_i	di	di^2	f,(m-1)	S стандартное отклонение
Аналитик №1						
1	1,85	99,64	0,06	0,0036	9	0,0476
2		99,54	-0,04	0,0016		
3		99,61	0,03	0,0009		
4		99,55	-0,03	0,0009		
5		99,54	-0,04	0,0016		
6		99,50	-0,08	0,0064		
7		99,61	-0,03	0,0009		
8		99,56	-0,02	0,0004		
9		99,63	0,05	0,0025		
10		99,62	0,04	0,0016		
$\overline{X}$		99,58	Σ	0,0204		
Аналитик №2						
1	1,85	99,52	-0,03	0,0009	9	0,057155
2		99,5	-0,05	0,0025		
3		99,61	0,06	0,0036		
4		99,52	-0,03	0,0009		
5		99,57	0,02	0,0004		
6		99,51	-0,04	0,0016		
7		99,64	0,09	0,0081		
8		99,5	-0,05	0,0025		
9		99,63	0,08	0,0064		
10		99,5	-0,05	0,0025		
$\overline{X}$		99,55	Σ	0,0294		

Таблица Б3.21

Результаты расчета радиохимической чистоты наносимой пробы, раствора йодида натрия с йодом-131, без носителя

Активность препарата МБк	Радиохимическая чистота препарата, X_i	Число измерений, *n*
0,37	99,0	10
0,74	99,2	10
1,11	99,4	10
1,48	99,56	10
1,85	99,7	10
Коэффициент корреляции, *r*	*0,997*	
Коэффициент детерминации, R^2	0,9938% В 99,38 % случаев изменения *x* приводят к изменению *y*. Точность подбора уравнения регрессии – 99,38 %	

Таблица Б3.22

Расчет неопределенности трех параллельных результатов испытаний валидационного протокола методики определения радиохимической чистоты препаратов с йодом-131

№	X_1	X_2	X_3	$X_{ср}$	uA	$\Delta = 10\%$	$uB=\Delta/\sqrt{3}$	u	u_c
1	2534	1608	2205	2116	271	211,6	122,15	297,3	0,01948
2	5890	4354	3630	4625	666,3	462,5	267	717,8	0,02755
3	495	508	913	639	137,2	63,9	36,9	142	0,03771
4	49758	56674	46273	50902	3056,5	5090,2	2939	4240	0,01070
5	319415	417355	392715	376495	29413	37649,5	21737	36573,5	0,01037
6	892747	759757	937827	893444	53452	86344,4	49851	73090	0,01121
7	493437	97243	40664	210448	142434	21045	12150	142951	0,02007
8	21528	2435	3489	9151	6196	915	528,3	6219	0,041
9	200	230	210	213	8,82	21	12,32	15,15	0,00303
РХЧ= (4+5+6+7+8)*100/(1+2+3+4+5+6+7+8+9)									

Таблица Б3.23

Зависимость оптической плотности стандартного раствора йодида калия от концентрации йода (n=6, P= 0,95)

Номер колбы	1	2	3	4	5
Объем раствора KI с $1x10^{-4}$ моль/л, мл	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25
Количество I^-, x 10^{-8} моль	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5
Оптическая плотность, d	0,023± 0,0027	0,045± 0,0024	0,065 ±0,0027	0,085 ±0,0028	0,105 ±0,0014
s^2	$6{,}76\times 10^{-6}$	$5{,}29\times 10^{-6}$	$6{,}76\times 10^{-6}$	$7{,}29\times 10^{-6}$	$1{,}69\times 10^{-6}$
s	0,0026	0,0023	0,0026	0,0027	0,0013
СКО	0,00236				
r	0,9995				
ПО, 10^{-8} моль	0,19				
ДОС, 10^{-8} моль	0,5-2,5				
ОП	11,7%	5,3%	4,15%	3,3%	1,33%

Примечание: s^2-дисперсия, s- стандартное отклонение, r- коэффициент корреляция, ПО-предел обнаружения, ДОС- диапазон определяемых содержаний, ОП-относительная погрешность, $\pm\Delta X$ – предельная погрешность, $t\,(P, f)$ – критерий Стьюдента – 2,57.

Таблица Б3.24

Результаты измерений удельной активности йода-125 (n=6, P= 0,95)

№	1	2	3	4	5	6	Средний
A_V, мКи/мл	1300	1300	1300	1300	1300	1300	1300
V, мл	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
d, нм	0,03	0,032	0,026	0,024	0,025	0,031	0,028± 0,0035
n,10^{-8} моль	0,655	0,698	0,567	0,524	0,546	0,676	0,611± 0,0775

A_V- объемная активность, V- объем раствора реагента, взятый для анализа, в миллилитрах, d-оптическая плотность испытуемого раствора, n- количество йода, s^2-0,001156, s-0,034, t-2,57.

Таблица Б3.25

Зависимость оптической плотности стандартного раствора йодида калия от концентрации йода (n=6, P=0,95)

Номер колбы	1	2	3	4	5
Объем исходного раствора (KI 1x10^{-5} M), мл	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8
Количество йода, 10^{-8} моль	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0
Оптическая плотность, d	0,048 ±0,000663	0,09 ±0,0007	0,19 ±0,00147	0,29 ±0,00148	0,4 ±0,00148
s^2	$3{,}99\times 10^{-7}$	$4{,}51\times 10^{-7}$	$1{,}96\times 10^{-6}$	$1{,}988\times 10^{-6}$	$1{,}999\times 10^{-6}$
s	0,000632	0,000672	0,0014	0,00141	0,001414
СКО	0,00585				
r	0,999				
ПО, 10^{-8} моль	0,193				
ДОС, 10^{-8} моль	0,5-4,0				
ОП, %	1,38	0,8	0,77	0,51	0,37

Таблица Б3.26

Результаты измерений удельной активности йода-131(n=6, P= 0,95)

№	1	2	3	4	5	6	Средний
A_v, мКи/мл	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000
V, мл	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125
d, нм	0,063	0,062	0,062	0,065	0,064	0,065	0,0635±0,0012
n,10^{-8} моль	0,63	0,62	0,62	0,65	0,64	0,65	0,635±0,012

Примечания: A_v- объемная активность, V- объем раствора реагента, взятый для анализа, в миллилитрах, d-оптическая плотность испытуемого раствора, n- количество йода, s^2-$1{,}5\times 10^{-6}$, s-0,001225, t- 2,57.

Таблица Б3.27

Результаты измерений мечения радионуклида йода-125,
без носителя с различными биологическими макромолекулами (n=6, P=0.95)

Фон (количество импульсов за 10 секунд без полоски) 200			
№ отрезка ХП	**Наименование биологической макромолекулами**		
	АКТГ с ХЛТ	**БХ с ХЛТ**	**АКТГ с ЛП**
	Количество импульсов		
1	**10182**	**10141**	**11447**
2	**64346**	**53770**	**46587**
3	**29495**	**11734**	**20463**
4	**4549**	**2188**	**3308**
5	306	388	315
6	257	220	289
7	281	267	276
8	320	240	231
9	**1031**	**261**	**466**
10	**3070**	**656**	**1410**
11	**1150**	**229**	**265**
12	210	215	218
Сумма импульсов в пике, с вычетом фона, $\Sigma_{пик}$	**107772**$\pm$2,3	**77033**$\pm$2,4	**81005**$\pm$2,97
Сумма импульсов всей полоски, с вычетом фона, $\Sigma_{общ}$	**112797**$\pm$2,1	**77909**$\pm$2,4	**82875**$\pm$2,4
***D*св, %**	**95,5 ±0,188%**	**98,8±0,137%**	**97,7±0,137 %**

Примечание: s^2-дисперсия (1. АКТГ с ХЛТ ($-5{,}29$; $\Sigma_{общ} - 4{,}41$), 2. БХ с ХЛТ ($\Sigma_{пик} - 5{,}76$; $\Sigma_{общ} - 5{,}76$), 3. АКТГ с ЛП ($\Sigma_{пик} - 8{,}82$; $\Sigma_{общ} - 5{,}76$)), s-стандартное отклонение 1. АКТГ с ХЛТ ($-2{,}3$; $\Sigma_{общ} - 2{,}1$), 2. БХ с ХЛТ ($\Sigma_{пик} - 2{,}4$; $\Sigma_{общ} - 2{,}4$), 3. АКТГ с ЛП ($\Sigma_{пик} - 2{,}97$; $\Sigma_{общ} - 2{,}4$), $\pm\Delta X$ – предельная погрешность, $t\,(P, f)$ – критерий Стьюдента – 2,57.

Приложение В

Аналитический контроль радиофармацевтического препарата на основе радионуклида лютеция-177

Таблица В4.1

Результаты измерений РХЧ препарата хлорида лютеция-177, без носителя методом ТСХ (n=6, P=0.95)

Фон (количество импульсов за 10 секунд без полоски) 200			
№ сегмента ХП	*Количество импульсов*	*№ сегмента ХП*	*Количество импульсов*
1	2556	7	248
2	433	8	295
3	301	9	**524**
4	286	10	**12320**
5	317	11	**659911**
6	299	12	**369854**
Сумма импульсов в пике, с вычетом фона		$\Sigma_{пик}$	**1041809±7,0**
Сумма импульсов всей полоски, с вычетом фона		$\Sigma_{общ}$	**1044944±3,0**
Радиохимическая чистота		РХЧ, %	**99,7±0,18 %**

Примечание: s^2-дисперсия ($\Sigma_{пик} - 49$; $\Sigma_{общ} - 9$), s-стандартное отклонение ($\Sigma_{пик} - 7$; $\Sigma_{общ} - 3$), $\pm\Delta X$ – предельная погрешность, $t(P, f)$ – критерий Стьюдента – 2,57.

Таблица В4.2

Результаты измерений РХЧ препарата хлорида лютеция-177, без носителя методом БХ (n=6, P=0.95)

Фон (количество импульсов за 10 секунд без полоски) 200			
№ сегмента ХП	Количество импульсов	№ сегмента ХП	Количество импульсов
1	**62428**	6	216
2	**726**	7	217
3	202	8	208
4	208	9	**231**
5	206	10	**301**
Сумма импульсов в пике, с вычетом фона		$\Sigma_{пик}$	**62754±2,97**
Сумма импульсов всей полоски, с вычетом фона		$\Sigma_{общ}$	**62943±2,4**
Радиохимическая чистота		РХЧ, %	**99,7±0,26 %**

Примечание: s^2-дисперсия ($\Sigma_{пик} - 8{,}82$; $\Sigma_{общ} - 5{,}76$), s-стандартное отклонение ($\Sigma_{пик} - 2{,}97$; $\Sigma_{общ} - 2{,}4$), $\pm\Delta X$ – предельная погрешность, $t(P, f)$ – критерий Стьюдента – 2,57.

Таблица В4.4

Определение селективности метода измерением РХЧ препарата при различных значениях pH

При pH-1,5				При pH-2,5			
№	РХЧ	X_I-$X_{ср}$	$(X_I-X_{ср})^2$	№	РХЧ	X_I-$X_{ср}$	$(X_I-X_{ср})^2$
1	99,75	-0,05	0,0025	1	99,74	-0,09	0,0081
2	99,67	0,03	0,0009	2	99,6	0,05	0,0025
3	99,75	-0,05	0,0025	3	99,72	-0,07	0,0049
4	99,76	-0,06	0,0036	4	99,58	0,07	0,0049
5	99,67	0,03	0,0009	5	99,61	0,04	0,0016
6	99,65	0,05	0,0025	6	99,6	0,05	0,0025
7	99,74	-0,04	0,0016	7	99,7	-0,05	0,0025
8	99,77	-0,07	0,0049	8	99,62	0,03	0,0009
9	99,66	0,04	0,0016	9	99,6	0,05	0,0025
10	99,58	0,12	0,0144	10	99,73	-0,08	0,0064
$X_{ср}$	99,7	Σ	0,0354	$X_{ср}$	99,65	Σ	0,0368
f	9			f	9		
s^2	0,003933			s^2	0,004089		
s_1	0,062716			s_2	0,063944		
n_1	10			n_2	10		

Таблица В4.5

Измерение РХЧ препарата с различной активностью

Нанесенная активность, мКи	Радиохимическая чистота, %	Число измерений, *n*
0,01	99,1	10
0,02	99,25	10
0,025	99,32	10
0,03	99,42	10
0,04	99,58	10
0,05	99,7	10
Коэффициент корреляции, *r*	*0,998*	
Коэффициент детерминации, R^2	0,9964% В 99,64 % случаях изменения *x* приводят к изменению *y*. Точность подбора уравнения регрессии – 99,64 %	

Таблица В4.6

Результаты теста «Внутрилабораторная прецизионность», выполненного при валидации методик определения радиохимической чистоты препарата «Лютеция хлорид ($^{177}LuCI_3$) с ^{177}Lu, без носителя»

No	**Дата**	**Ф.И.**	**x_1**	**x_2**	**$X_{ср}$= (x1+x2)/2**	**$(X_{ср})^2$**	**(x_1-x_2)**	**$(x_1-x_2)^2$**
1	11.01.2022	Аналитик1	99,7	99,68	99,690	9938,0961	0,02	0,0004
2	11.01.2022	Аналитик1	99,68	99,65	99,665	9933,1122	0,03	0,0009
3	12.01.2022	Аналитик2	99,62	99,58	99,600	9920,1600	0,04	0,0016
4	12.01.2022	Аналитик2	99,65	99,6	99,625	9925,1406	0,05	0,0025
5	13.01.2022	Аналитик1	99,62	99,6	99,610	9922,1521	0,02	0,0004
6	13.01.2022	Аналитик1	99,6	99,56	99,580	9916,1764	0,04	0,0016
p=		6						
T_1=Σxx					**597,770**			
T_2=$\Sigma X_{ср}^2$						**59554,837**		
T_3=$\Sigma(x_1-x_2)^2$							**0,00740**	
s_r^2=**T_3**/2p					0,000617	**s_r**	**0,024832774**	
						RSD_r(%)	0,025%	
s_L^2=(p×**T_2**-**T_1^2**)/(p×(p-1))-s_r^2/2					0,001418			
s_R^2= s_L^2+ s_r^2					0,002035	**s_R**	**0,045110974**	
						RSD_R (%)	0,045%	
r,					**0,07024**	m=**T_1**/p	99,62833333	
R,					**0,12759**			

Таблица В4.7

Результаты расчета радиохимической чистоты наносимой пробы раствора «Лютеция хлорид с лютеций-177, без носителя»

Разбавленная объемная активность, мКи/мл	Нанесенная активность, мКи	РХЧ, X_i	РХЧ, X_c	$(X_i - X_c)^2$	Стандартное отклонение, *s*
10	0,01	99,1	99,10055	$3{,}03\times10^{-7}$	0.01465
20	0,02	99,25	99,2541	$1{,}68\times10^{-5}$	
25	0,025	99,32	99,33088	0,000118	
30	0,03	99,42	99,40765	0,000153	
40	0,04	99,58	99,5612	0,000353	
50	0,05	99,7	99,71475	0,000218	
Коэффициент корреляции, *r*		*0,998*	Σ	0,000859	
Коэффициент детерминации, R^2		0,9964% В 99,64% случаях изменения *x* приводят к изменению *y*. Точность подбора уравнения регрессии – 99,64%			

Таблица В4.8

Результаты измерений Аналитик-2, полученные через 30 минут после измерений Аналитик-1

m	Активность нанесенной пробы, МБк	РХЧ препаратов X_i	di	di^2	*f,(m-1)*	S стандартное отклонение
Аналитик №1						
1	1,85	99,67	-0,03	0,0009	9	0,04967
2		99,75	0,05	0,0025		
3		99,75	0,05	0,0025		
4		99,62	-0,08	0,0064		
5		99,65	-0,05	0,0025		
6		99,74	0,04	0,0016		
7		99,64	-0,06	0,0036		
8		99,72	0,02	0,0004		
9		99,73	0,03	0,0009		
10		99,73	0,03	0,0009		
$\overline{X}$		99,7	Σ	0,0222		
Аналитик №2						
1	1,85	99,71	0,05	0,0025	9	0,045216
2		99,66	0	0		
3		99,72	0,06	0,0036		
4		99,64	-0,02	0,0004		
5		99,6	-0,06	0,0036		
6		99,71	0,05	0,0025		
7		99,63	-0,03	0,0009		
8		99,64	-0,02	0,0004		
9		99,6	-0,06	0,0036		
10		99,69	0,03	0,0009		
$\overline{X}$		99,66	Σ	0,0184		

Таблица В4.9

Результаты расчета радиохимической чистоты наносимой пробы раствора «Лютеция хлорид с лютеций-177, без носителя»

Нанесенная активность, мКи	Радиохимическая чистота, %	Число измерений, *n*
0,01	99,1	10
0,02	99,25	10
0,025	99,32	10
0,03	99,42	10
0,04	99,58	10
0,05	99,7	10
Коэффициент корреляции, *r*	*0,998*	
Коэффициент детерминации, R^2	0,9964 В 99,64 % случаев изменения *x* приводят к изменению *y*. Точность подбора уравнения регрессии – 99,64 %	

Таблица В4.10

Расчет неопределенности трех параллельных результатов испытаний валидационного протокола методики определения радиохимической чистоты препаратов с лютецием-177

№	X_1	X_2	X_3	$X_{ср}$	uA	Δ= 10%	uB=$\Delta/\sqrt{3}$	u	u_c
1	609099	603326	606158	606194.3	1666,62	60619,4	34998,65	35038,3	0,01586
2	11766	7623	9694	9694.333	1195,98	969,43	559,7	1320,47	0,01523
3	2405	1974	2189	2189.333	124,42	218,93	126,4	177,362	0,00055
4	1066	1053	1059	1059.333	3,7565	105,93	61,16	61,276	0,00006
5	231	278	255	254.667	13,5687	25,47	14,7	20,0	0,00324
6	364	368	370	367.333	1,764	36,73	21,2	21,28	0,0002
7	300	274	284	286	7,572	28,6	16,51	18,165	0,0005
8	220	215	225	220	2,887	22	12,7	13,026	0,00083
9	716	750	683	716.333	19,342	71,63	41,36	45,657	0,00524
РХЧ= (9+10+11)*100/(1+2+3+4+5+6+7+8+9+10+11+12)									

Таблица В4.11

Зависимость оптической плотности стандартного раствора хлорида лютеция от количества лютеция (n=6, P=0,95)

Номер колбы	1	2	3	4	5	6
Объем исходного раствора (с=0,02 мг/мл), мкл	25	50	75	100	125	150
Количество лютеция, 10^{-8} моль	0,28	0,554	0,82	1,1	1,4	1,7
Оптическая плотность, d	0,033 ±0,00044	0,065 ±0,00075	0,096 ±0,00042	0,128 ±0,00075	0,165 ±0,00068	0,196 ±0,0015
s^2	$1,76\times 10^{-7}$	$5,04\times 10^{-7}$	$1,6\times 10^{-7}$	$5,155\times 10^{-7}$	$4,199\times 10^{-7}$	$1,999\times 10^{-6}$
s	0,00042	0,00071	0,0004	0,000718	0,000648	0,001414
СКО	0,004151					
r	0,9998					
ПО, 10^{-8} моль	0,12					
ДОС, 10^{-8} моль	0,28-1,7					
ОП, %	1,33	1,15	0,44	0,586	0,412	0,765

Примечания: s^2-дисперсия, s- стандарт отклонения, r- коэффициент корреляции, ПО- предел обнаружения, ДОС- диапазон определяемых содержаний, ОП- относительная погрешность, $\pm\Delta x$- предельная погрешность, t(P,*f*)- критерий Стьюдента-2,57.

Таблица В4.12

Результаты измерений удельной активности лютеция-177 (n=6, P= 0,95)

№	1	2	3	4	5	6	Средний
A_V, мКи/мл	1600	1600	1600	1600	1600	1600	1600
V, мл	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
d, нм	0,05	0,052	0,0485	0,0495	0,049	0,051	0,05± 0,00136
n,10^{-8} моль	0,426	0,4264	0,4277	0,4359	0,4218	0,4182	0,426± 0,0063

Примечания: A_V- объемная активность, V- объем раствора реагента, взятый для анализа, в миллилитрах, d-оптическая плотность испытуемого раствора, n- количество лютеция, s^2-$3,6\times 10^{-5}$, s-0,006, t- 2,57.

Таблица В4.13

Результаты измерений степени мечения препарата лютеция хлорида с лютеций-177 методом тонкослойной хроматографии (n=6, P=0.95)

Фон (количество импульсов за 10 секунд без полоски) 200			
№ отрезка ХП	*Количество импульсов n=5*	*№ отрезка ХП*	*Количество импульсов n=5*
1	327	7	**4379**
2	436	8	546
3	471	9	**3503**
4	**84227**	10	**72510**
5	**316102**	11	**39061**
6	**116342**	12	**1252**
Сумма импульсов в пике 177Lu:DTPA, без фона		$\Sigma_{пик}$	**522830±5,45**
Сумма импульсов всей полоски, без фона		$\Sigma_{общ}$	**639156±2,73**
Включения		Вкл, %	**81,8±0,067 %**

Примечание: s^2-дисперсия ($\Sigma_{пик} - 29{,}7$; $\Sigma_{общ} - 7{,}45$), s-стандартное отклонение (для $\Sigma_{пик} - 5{,}45$; $\Sigma_{общ} - 2{,}73$), $\pm\Delta X -$ предельная погрешность, $t\,(P, f) -$ критерий Стьюдента $- 2{,}57$.