

RADIOFARMACEUTYKI W INSTYTUCIE CHEMII I TECHNIKI JĄDROWEJ

Radiopharmaceuticals in Institute of Nuclear Chemistry and Technology

Rafał Walczak, Paweł Halik, Weronika Gawęda,
Łucja Dziawer, Magdalena Gumieła

Streszczenie: Instytut Chemii i Techniki Jądrowej jest jedną z nielicznych placówek w Polsce, w których prowadzone są badania nad otrzymywaniem nowych radiofarmaceutyków. Prace w tym zakresie prowadzi Pracownia Badań i Syntezy Radiofarmaceutyków pod kierownictwem prof. dr hab. Aleksandra Bilewicza. Tematyka prowadzonych badań jest ukierunkowana na opracowanie nowych metod produkcji radionuklidów oraz sposobów ich dostarczenia do miejsc zmian patologicznych w organizmie człowieka. W artykule przedstawiono opisy badań realizowanych przez doktorantów tej Pracowni w ramach prac doktorskich. Wśród tych prac należy wymienić nanonośniki dla emiterów promieniowania alfa, badania nad inhibitorami cholinesteraz, nowe metody wytwarzania ^{99m}Tc i ^{43}Sc czy produkcję radiofarmaceutyków teranostycznych.

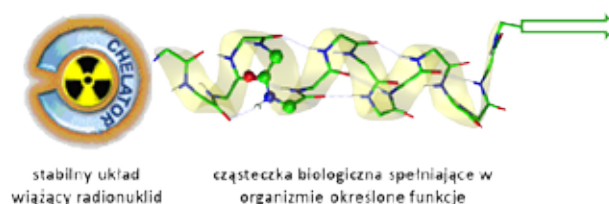
Abstract: The Institute of Nuclear Chemistry and Technology is one of the few institutions in Poland, where research on the acquisition of new radiopharmaceuticals is being conducted. The work in this area is carried out by the Laboratory of Research and Synthesis of Radiopharmaceuticals under the supervision of prof. dr hab. Aleksander Bilewicz. The research is focused on the development of new methods of radionuclide production and methods of their delivery to pathological changes in the human body. The article presents descriptions of research carried out by doctoral students as part of their theses. These include the nanocarriers for alpha-emitters, the study of cholinesterase inhibitors, new methods for the production of ^{99m}Tc and ^{43}Sc , as well as the production of teranostatic radiopharmaceuticals.

Słowa kluczowe: radiofarmaceutyki, SPECT, PET, nanotechnologia, cholinesteraza, teranostyka

Keywords: radiopharmaceuticals, SPECT, PET, nanotechnology, cholinesterase, teranostics

Wstęp

Radiofarmaceutyki są to związki biologicznie czynne zawierające w swojej strukturze wybrany radionuklid (rys. 1). Składają się z trzech podstawowych elementów: radionuklidu, wektora mającego powinowactwo do kumulowania się w patologicznie zmienionych tkankach oraz dwufunkcyjnego łącznika, którego zadaniem jest trwale związanie radionuklidu z wektorem. W zależności od rodzaju emitowanego promieniowania radiofarmaceutyki mogą być stosowane w celach diagnostycznych lub terapeutycznych. Emitery promieniowania α , β^- i elektronów Augera – czyli cząstek deponujących dużą energię na krótkim dystansie, stosowane są w celach terapeutycznych. Natomiast emitery promieniowania γ lub β^+ wykorzystywane są w celach diagnostycznych. Obecne badania nad radiofarmaceutykami skierowane są na poszukiwania specyficznych wektorów do celowanej radioterapii oraz nowych, bardziej wydajnych metod produkcji radionuklidów.



Rys. 1. Schemat budowy radiofarmaceutyku (opracowanie własne)

Fig. 1. Radiopharmaceutical structure

W Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej w zakładzie Radiochemii i Chemii Jądrowej badania w zakresie produkcji i zastosowania radiofarmaceutyków rozpoczęły się pod koniec lat 90. XX w. Aktualnie prace te realizują naukowcy z Pracowni Syntezy i Badań Radiofarmaceutyków pod kierownictwem prof. dr hab. Aleksandra Bilewicza. Początkowe działania zespołu pracowni skupiały się na opracowaniu nowych generatorów radionuklidów, które mogą znaleźć zastosowanie w medycynie nuklearnej. Był to generator $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ (wykorzystano w nim selektywny dla Sr^{2+} kwas poliatymonowy) [1], oraz generator $^{115}\text{Cd}/^{115m}\text{In}$ [2] i $^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$, w którym zastosowano

zsyntezowany dwutlenek manganu w formie kryptomelanu, wykazujący wyjątkowo wysoką selektywność w stosunku do jonów Rb^+ [3]. Opracowano też nowy, bardzo wydajny generator alfa emitera ^{225}Ac z ^{229}Th . Drugą ścieżką badań było opracowanie trwałej metody przyłączania radionuklidów do cząsteczek biologicznie aktywnych.

Obecnie zakres prowadzonych prac jest o wiele szerszy. Podstawowym tematem badań jest poszukiwanie nowych i wydajniejszych metod produkcji radionuklidów do otrzymywania radiofarmaceutyków diagnostycznych i terapeutycznych. Metody te najczęściej opierają się na reakcjach cyklotronowych np. $^{100}Mo(p,2n)^{99m}Tc$ [4], $^{209}Bi(\alpha,2n)^{211}At$ [5], $^{42}Ca(d,n)^{43}Sc$ [6], lub wykorzystują nowe formy generatorów radionuklidów np. $^{232}U/^{224}Ra/^{212}Pb/^{212}Bi$. Drugim tematem prac jest poszukiwanie nowych nośników i biomolekuł naprowadzających dla radiofarmaceutyków. Badania te skupiają się w dużej mierze wokół tematyki nanotechnologii. Wśród nanonośników można wymienić m.in. nanozeolity [7], nanocząstki ferrytu barowego znakowane ^{223}Ra lub nanocząstki złota jako nośniki ^{211}At [8].

Większość badań prowadzonych w Pracowni Syntezy i Badań Radiofarmaceutyków realizowana jest przez doktorantów w ramach krajowych i zagranicznych projektów badawczych. W dalszej części artykułu zostaną przedstawione prace aktualnie prowadzone przez młodych naukowców.

Radiofarmaceutyki diagnostyczne

Cyklotronowe otrzymywanie i wydzielanie ^{99m}Tc

Diagnostyka obrazowa z wykorzystaniem radiofarmaceutyków diagnostycznych oparta jest zasadniczo na tomografii emisyjnej pojedynczego fotonu (SPECT) oraz pozytonowej tomografii emisyjnej (PET). Przy projektowaniu radiofarmaceutyków wykorzystywanych w badaniach SPECT, potencjalne zastosowanie mają zarówno radioizotopy występujące w postaci prostych jonów jak i radioizotopy związane z określonymi cząsteczkami biologicznie aktywnymi, umożliwiającymi selektywne gromadzenie się w określonych strukturach narządowych.

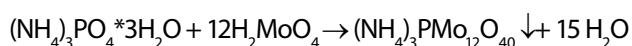
Najważniejszą rolę w rozwoju medycyny nuklearnej wciąż odgrywa radioizotop technetu ^{99m}Tc ; szacuje się, że w skali światowej rocznie przeprowadza się ok. 70% badań diagnostycznych [9] z użyciem ^{99m}Tc . Wynika to z niemal idealnej charakterystyki jądrowej tego radionuklidu (dostatecznie długi czas połowicznego rozpadu równy 6 godzin, niska emitowana energia 140 keV, możliwość podania jednorazowo bezpiecznej dawki rzędu 740-1110 MBq) [10,11]. Ten radioizotop jest używany do wytwarzania związków stosowanych do badania funkcjonowania wielu ludzkich organów – serca (^{99m}Tc -MIBI), nerek (^{99m}Tc -EDTA, ^{99m}Tc -DTPA, Glucoscan), wątroby i dróg żółciowych (pochodne ^{99m}Tc -IDA), szkieletu kostnego

(^{99m}Tc -MDP), mózgu (^{99m}Tc -HMPAO) [12]. Diagnostyka medyczna z wykorzystaniem ^{99m}Tc jest szeroko stosowana również w Polsce. O tak szerokim rozpowszechnieniu tego radionuklidu decyduje jego dostępność oraz względnie niski koszt produkcji; ^{99m}Tc jest pozyskiwany z przenośnych generatorów technetowych, będących wysoce wyspecjalizowanym wyrobem medycznym dostarczanym do zakładów medycyny nuklearnej. Jako izotop macierzysty wykorzystuje się molibden-99 (^{99}Mo) wyodrębniany z produktów rozszczepienia uranu-235 (^{235}U). Molibden w generatorze jest osadzony w kolumnie chromatograficznej wypełnionej tlenkiem glinu. Przez złożo przepuszcza się roztwór soli fizjologicznej, eluując ^{99m}Tc (w postaci jonów $^{99m}TcO_4^-$), będący produktem rozpadu macierzystego izotopu ^{99}Mo .

Na świecie tylko kilku producentów dostarcza ^{99}Mo . Niestety od kilku lat rosnące zapotrzebowanie na ten izotop nie może być w pełni zaspokojone, co limituje liczbę badanych pacjentów. Produkcja izotopów zarówno do celów badawczych, jak i medycznych jest prowadzona w dwunastu reaktorach na świecie. Większość z tych obiektów ma ponad 50 lat i trzeba się liczyć z ich czasowym wyłączeniem. Kanadyjski National Research Universal (NRU) w Chalk River i holenderski High Flux Reactor (HFR) pokrywa 80% światowego zapotrzebowania na molibden-99 [8] – zamknięcie NRU zostało zaplanowane na marzec 2018 r. [13], co może skutkować poważnymi zakłóceniami w dostawach ^{99}Mo , ograniczając tym samym liczbę procedur medycznych z użyciem ^{99m}Tc . Poważną przeszkodą w przyszłej produkcji ^{99}Mo , jest także przechodzenie z wysokowzbogaconego uranu na uran niskowzbogacony [14]. Dlatego też na atrakcyjności zyskują inne możliwości produkcji ^{99}Mo (poza reaktorem jądrowym) wśród nich fotorozszczepienie ^{235}U , naświetlanie wysokoenergetycznym promieniowaniem γ tarczy ^{100}Mo oraz bezpośrednia cyklotronowa produkcja ^{99m}Tc [1].

Od 1971 r. znana była metoda bezpośredniej produkcji ^{99m}Tc w cyklotronie – $^{100}Mo(p,2n)^{99m}Tc$ [15]. Ze względu na łatwą dostępność generatorów technetu-99m nie poświęcano zbyt wiele uwagi w literaturze alternatywnym metodom otrzymywania ^{99m}Tc [16]. W obliczu kryzysu molibdenowego (w latach 2007-2010), w którego czasie nastąpiło nieskoordynowane wyłączenie najbardziej wydajnych reaktorów stosowanych do otrzymywania ^{99}Mo (NRU i HFR) [1], Międzynarodowa Agencja Energii Atomowej w Wiedniu uruchomiła w latach 2012-2016 projekt, w którego realizację było zaangażowanych 13 państw w tym Japonia, Stany Zjednoczone, Kanada oraz Polska. Obok Narodowego Centrum Badań Jądrowych – Ośrodka Radioizotopów POLATOM uczestniczył w tym projekcie również IChTJ. Celem projektu było sprawdzenie, czy metoda bezpośredniej produkcji ^{99m}Tc w wyniku bombardowania protonami wzbogaconego molibdenu [$^{100}Mo(p,2n)^{99m}Tc$] ma potencjał aplikacyjny i może zaspokoić zapotrzebowanie

na ^{99m}Tc na wypadek przerw w dostawach ^{99}Mo . Aby to sprawdzić wykonano, szereg badań obejmujących m.in. pomiary przekrojów czynnych w funkcji energii protonów, wytworzenie wydajnej tarczy z ^{100}Mo (odpornej mechanicznie o grubości pozwalającej na swobodną penetrację wiązki), wydzielenie ^{99m}Tc z tarczy oraz odzysk ^{100}Mo po zakończeniu procesu. Poziom wzbogacenia handlowo dostępnego ^{100}Mo kształtuje się na poziomie 99,54% (Isoflex) 97,39% (Trace) [7]. Dobór optymalnych parametrów naświetlania nie jest prosty i jednoznaczny; im wyższa energia protonów, tym wyższa wydajność produkcji ^{99m}Tc , ale także wyższe ryzyko powstawania innych radionuklidów. Autorzy prac [17,18] obliczyli, że optymalna energia protonów zapewniająca maksymalną możliwą wydajność produkcji ^{99m}Tc przy minimalnej ilości zanieczyszczeń radionuklidowych mieści się w zakresie 16-19 MeV. Autorzy pracy Lebeda i Pruszyński dowiedli, że korzystne jest także napromieniowanie tarczy ^{100}Mo protonami o energii w zakresie 19-24 MeV [19]. Zmiana technologii produkcji technetu-99m wymusiła również poszukiwanie nowych metod separacji; najczęściej wykorzystuje się odmienną retencję jonów molibdenianowych i nadtechnecjanowych na złożach, aczkolwiek stosowane są także techniki ekstrakcyjne, termochromatografia i wytrącanie molibdenu w postaci osadu. Wybór metody separacji musi uwzględniać konieczność odzyskania molibdenu w formie metalicznej, który jest drogim materiałem. Z powodu krótkiego okresu połowicznego zaniku technetu-99m wymagany jest szybki przerób napromieniowanej tarczy. Technet jako pierwiastek o dodatnim potencjale standardowym ($E^\circ = +0,400\text{ V}$) nie roztwarza się w kwasie solnym, ulega natomiast działaniu kwasu azotowego (V) i wody królewskiej [5]. W żadnym ze znanych sposobów otrzymywania radionuklidu ^{99m}Tc metodą cyklotronową nie stosowano wydzielenia molibdenu w postaci trudnorozpuszczalnego heteropolikwasu fosfomolibdenianu amonowego. Fosfomolibdenian amonowy powstaje w reakcji:



Sposób otrzymywania ilości radionuklidu ^{99m}Tc wystarczających do celów diagnostycznych, według prezentowanej koncepcji polega na tym, że naświetloną w cyklotronie protonami, metaliczną tarczę molibdenu-100, zawierającą materiał tarczowy oraz radionuklid ^{99m}Tc , poddaje się reakcji roztwarzania w kwasie azotowym (V), po czym dodaje się NH_4NO_3 i $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$, wytrącając osad fosfomolibdenianu amonowego. Najniższe stężenie molibdenu (poniżej 0,4 mg/ml) w roztworze z nad osadu, uzyskano wówczas, gdy reakcję wytrącania prowadzono w temperaturze 80°C przez 30 min, a następnie przez kolejne 30 min w temperaturze pokojowej, w środowisku 10% azotanu amonowego przy zastosowaniu 2-krotnego nadmiaru stechiometrycznego $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Pomiary metodą atomowej spektrometrii absorp-

cyjnej (ASA) pokazały, że 99% molibdenu zostaje związana w postaci osadu. Zastosowana metoda produkcji ^{99m}Tc jest znacznie prostsza w stosunku do innych proponowanych rozwiązań i pozwoli na łatwy odzysk materiału tarczowego. Wytrącony osad fosfomolibdenianu amonowego jest rozkładany termicznie do tlenku molibdenu i zredukowany wodorem do metalicznego molibdenu. Kolejną zaletą opracowanej metody jest fakt, że bezpośrednio można znakować technetem niektóre związki lipofilowe. Mieszaninę reakcyjną przepuszcza się przez kolumnę Sep-pak celem wyizolowania kompleksu, który zatrzymuje się na złożu, a wszelkie zanieczyszczenia łącznie ze śladami molibdenu przechodzą swobodnie przez kolumnę.

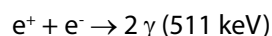
W przypadku hydrofilowych wektorów pozostałe w roztworze śladowe ilości molibdenu muszą zostać usunięte przed ich znakowaniem. Do tego celu spośród przebadanych złożeń najlepiej nadają się kolumny C18 z naniesionym polietylenoglikolem i złoża AnaLig® Tc-02PS (IBC Technology), działające na zasadzie molekularnego dopasowania. Następnie frakcja zawierająca technet jest przepuszczana przez kationit (Dowex-50) w celu usunięcia jonów Na^+ i kierowana na kolumnę z tlenkiem glinu w celu załadowania i przeprowadzenia do roztworu soli fizjologicznej. Cała procedura zajmuje nieco ponad trzy godziny. Badania na surogatach potwierdziły możliwość adaptacji powyższej metody wydzielenia cyklotronowego ^{99m}Tc . Uzyskaliśmy wysokie wydajności znakowania ^{99m}Tc (uzyskanym po wydzieleniu według procedury opisanej powyżej) następujących związków: ^{99m}Tc (Hynic-Substancja P)(trycyna) $_2$, MIBI, HMPAO, DTPA, EDTA.

Proponowana metoda produkcji może stać się długoterminowym rozwiązaniem przy wykorzystaniu istniejącej infrastruktury niskoenergetycznych cyklotronów, w pełni zaspokajając lokalny rynek.

Powyższe badania były realizowane w ramach Programu Badań Stosowanych, „Alternatywne metody produkcji technetu-99m”, umowa nr PBS1/A9/2/2012. wraz z Narodowym Centrum Badań Jądrowych Ośrodek Radioizotopów POLATOM oraz Środowiskowym Laboratorium Ciężkich Jonów Uniwersytetu Warszawskiego.

Otrzymywanie radiofarmaceutyków opartych na radionuklidach skandru dla pozytonowej tomografii emisyjnej

Powszechnie wykorzystywaną metodą diagnostyki w medycynie nuklearnej jest PET (Pozytonowa tomografia emisyjna). Radionuklidy w niej stosowane są emiterami cząstek β^+ - pozytonów. Pozyton (e^+) niemal natychmiast oddziałuje z pierwszym napotkanym elektronem, ulegając anihilacji wedle reakcji:



W wyniku anihilacji powstają dwa kwanty promieniowania gamma o energiach 511 keV przemieszczające się wzdłuż tego samego kierunku, ale w przeciwnych stronach. Tak wytworzone promieniowanie zdolne jest przeniknąć otaczającą tkankę i może zostać zarejestrowane przez detektory - gamma kamery. Zarejestrowane sygnały są następnie przetwarzane przez wyspecjalizowane oprogramowanie, które generuje obraz przestrzennego rozmieszczenia radionuklidu w ciele pacjenta.

Obecnie na szeroką skalę w diagnostyce PET stosowane są radiofarmaceutyki oparte na radionuklidach ^{18}F ($t_{1/2} = 109,8$ min) np. ^{18}F FDG i ^{68}Ga ($t_{1/2} = 67,6$ min) np. ^{68}Ga -DOTA-TATE. ^{18}F FDG jest analogiem glukozy, który kumuluje się w miejscach, gdzie metabolizm glukozy jest najintensywniejszy, czyli między innymi w szybko rozwijających się komórkach nowotworowych. Przy użyciu tego radiofarmaceutyku nie da się jednak określić typu nowotworu. Dodatkowo nie wszystkie nowotwory wychwytyją FDG (np. nowotwory neuroendokrynne układu pokarmowego). To ograniczenie wymusza na naukowcach poszukiwanie nowych radionuklidów, które trwale przyłączają się do biologicznie aktywnych cząstek. Takim radionuklidem jest ^{68}Ga , uzyskiwany z generatora radionuklidowego $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$. Wadą ^{68}Ga jest jego krótki czas połowicznego rozpadu, co uniemożliwia produkcję radiofarmaceutyków na nim opartych poza miejscem ich stosowania. Także cena generatora jest bardzo wysoka. Przekłada się to na zwiększenie kosztów całego zabiegu, ponieważ każde centrum diagnostyczne wykorzystujące radiofarmaceutyki z ^{68}Ga musi zakupić generator oraz posiadać pracownię syntezy i oczyszczania radiofarmaceutyków.

Efektywną alternatywą dla ^{68}Ga są radionuklidy skandu - ^{43}Sc ($t_{1/2} = 3,89$ h) i ^{44}Sc ($t_{1/2} = 3,93$ h). Ich produkcja może być przeprowadzona metodami cyklotronowymi np. w reakcjach $^{44}\text{Ca}(p,n)^{44}\text{Sc}$, $^{40}\text{Ca}(\alpha,p)^{43}\text{Sc}$, $^{42}\text{Ca}(d,n)^{43}\text{Sc}$ [20], przy czym pierwsza i trzecia reakcja została zaproponowana w laboratorium. Dłuższy czas połowicznego rozpadu umożliwia syntezę radiofarmaceutyków opartych na ^{43}Sc i ^{44}Sc w ośrodku cyklotronowym, a następnie ich transport do centrów posiadających skanery PET nawet w odległości 200 km.

Chemia skandu sprawia, że jego wydzielenie z tarcz CaCO_3 naświetlonych w cyklotronie oraz znakowanie i oczyszczanie biomolekuł naprowadzających są etapami prostymi do zrealizowania, a procedury laboratoryjne można zautomatyzować i przenieść na skalę produkcyjną. Pierwszym etapem przygotowania radiofarmaceutyków opartych na radionuklidach skandu jest jego wydzielenie z tarcz CaCO_3 naświetlonych w cyklotronie. W tym celu tarcza najpierw rozpuszcza się w 0,1 M kwasie solnym, a następnie roztwór jest alkalizowany wodą amoniakalną. W alkalicznym środowisku jony skandu tworzą nierozpuszczalne związki, natomiast jony wapnia pozostają rozpuszczone w roztworze. Do ich rozdzielania stosowane są filtry z teflonową membraną o porach średnicy 0,2 μm , na których związki skandu są zatrzymywane. Następnie skand wmywany jest z filtra 0,5 M HCl i nakładany na kolumnę z żywicą kationowymienną Dowex 50, co ma na celu

doczyszczanie roztworu z kationów innych metali oraz dostosowanie środowiska roztworu na odpowiednie do znakowania biomolekuł naprowadzających. Z żywicy jony skandu wymywane są roztworem buforu octanowego o pH 4,5. Po tych operacjach roztwór zawierający radioaktywny skand jest gotowy do dalszych etapów związanych ze znakowaniem wektorów. Do tej pory w Pracowni Syntezy i Badań Radiofarmaceutyków IChTJ z powodzeniem wyznakowano radionuklidami skandu trzy biomolekuły naprowadzające, które znajdują zastosowanie w diagnostyce zmian nowotworowych. Pierwszą z nich jest stosowana już na szeroką skalę biomolekuła DOTA-(Tyr³)-octreotate (DOTA-TATE), będąca analogiem hormonu somatostatyny. Nadekspresja receptorów tego hormonu występuje w guzach neuroendokrynnych np. układu pokarmowego. Druga biomolekuła to DOTA-Substancja P, pochodna neuropeptydu, dla którego nadekspresja receptora została zaobserwowana w komórkach glejakowych. Szeroko zakrojone prace nad zastosowaniem Substancji P w diagnostyce i terapii nowotworów prowadzone są pod kierownictwem prof. dr hab. med. Leszka Królickiego w Samodzielnym Publicznym Centralnym Szpitalu Klinicznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego również we współpracy z IChTJ. Trzecią biomolekułą naprowadzającą jest unikatowe nanociało będące częścią dużego przeciwciała monoklonalnego. Jako fragment dużej cząsteczki wykazuje o wiele szybszą farmakokinetykę w ludzkim organizmie zachowując jednocześnie powinowactwo do specyficznych nowotworów. Obecnie badane nanociało posiada powinowactwo do receptorów ludzkiego czynnika wzrostu naskórka typu 2 (HER-2), których nadekspresja występuje między innymi w komórkach nowotworu piersi lub jajnika.

Duży zakres różnorodnych biomolekuł naprowadzających, prosta metoda obróbki chemicznej i możliwości produkcyjne powodują, że prace badawcze nad zastosowaniem radionuklidów skandu do produkcji radiofarmaceutyków prowadzone są na coraz szerszą skalę, a otrzymywane wyniki rokują pozytywnie na ich komercyjnie użycie.

Badania realizowane są w ramach projektu „Otrzymywanie radiofarmaceutyków opartych na radionuklidach skandu dla pozytonowej tomografii emisyjnej” finansowanym przez NCBiR, projekt numer PBS3/A9/28/2015.

Inhibitory cholinesteraz oraz antagonisty receptora NK-1 znakowane ^{68}Ga i $^{99\text{m}}\text{Tc}$

Wieloletnim zagadnieniem opracowywanym w Pracowni Syntezy i Badań Radiofarmaceutyków IChTJ są znakowane izotopami ^{68}Ga i $^{99\text{m}}\text{Tc}$ inhibitory cholinesteraz bazujące na strukturze takryny. Związki te dedykowane są do obrazowania metodami PET i SPECT zmian poziomu acetylo- i butyrylocholinerazy w neuronalnych przestrzeniach synaptycznych w diagnostyce chorób neurodegeneracyjnych takich jak choroba Alzheimera.

We współpracy z Zakładem Chemii Farmaceutycznej, Analizy Leków i Radiofarmacji Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi udało się otrzymać i przebadać serie homogeniczne potencjalnych diagnostyków, z których wyłonione zostały dwa związki o najlepszych parametrach fizykochemicznych i właściwościach biologicznych *in vitro*. Uzyskane przez nas pochodne (takryna z dołączonym kompleksem DOTA chelatującym ^{68}Ga oraz takryna z dołączonym kompleksem HYNIC chelatującym $^{99\text{m}}\text{Tc}$) utrzymują stabilność powyżej 90% w osoczu ludzkim i płynie mózgowo rdzeniowym przez okres minimum czterech czasów połowicznego rozpadu każdego z izotopów, oraz wykazują odpowiednio dwukrotnie, oraz trzykrotnie lepszą zdolnością inhibicji enzymu acetylocholinoestrazy niż obserwuje się to w przypadku takryny, stosowanej klinicznie w chorobie Alzheimera jeszcze na przełomie XX i XXI w. Prowadzone obecnie badania przedkliniczne umożliwią opisanie profili farmakokinetycznych i farmakodynamicznych zsyntezowanych związków, co zweryfikuje możliwość zastosowania klinicznego otrzymanych w pracowni potencjalnych radiodiagnostyków zmian neurodegeneracyjnych układu cholinergicznego.

Nowatorskim podejściem do problematyki obrazowania rozwoju i efektywności chirurgicznego leczenia glejaka złośliwego jest zastosowanie znakowanych molekuł o przeciwnym działaniu do wcześniej wspomnianej Substancji P. Są to związki wykazujące działanie antagonisty dla receptorów NK-1, receptorów dla endogennej Substancji P. W wyniku rozwoju zmiany nowotworowej, na powierzchni komórek obserwuje się zwiększoną obecność receptorów NK-1 w porównaniu do ich fizjologicznego poziomu. Fakt ten może posłużyć jako kryterium do rozpoznania postępujących już patologii, nie tylko na przykładzie glejaka, ale większości rodzajów nowotworów w zaawansowanym stadium.

Zainteresowanie antagonistami receptora NK-1 zostało zaproponowane jako odpowiedź na trudności występujące podczas stosowania radiodiagnostyków bazujących na pochodnych Substancji P. Pochodne te wykazywały wrażliwość na ludzkie peptydazy obecne w osoczu oraz powolną kinetykę wewnątrztkankową po podaniu miejscowym. Niepeptydowe antagonisty receptora NK-1 cechują się większą stabilnością w płynach biologicznych oraz z uwagi na mniejszą masę cząsteczkową i większą lipofilowość, teoretycznie powinny tworzyć diagnostyki o szybszej kinetyce wiązania z celem molekularnym. Jednym z najlepiej poznanych antagonistów receptora NK-1 jest aprepitant — lek o zarejestrowanym wskazaniu klinicznym w zapobieganiu nudnościom i wymiotom związanym z chemioterapią przeciwnowotworową o dużym i umiarkowanym ryzyku. Jest to związek o wysokiej selektywności i dużym powinowactwie do receptora NK-1, większym niż endogenna Substancja P, oraz o dosyć dobrze poznanej farmakokinetyce i toksyczności.

Od początku 2017 r. w pracowni prowadzone są prace nad funkcjonalizowaniem struktury znanych antagonistów receptora NK-1, w celu uzyskania po-

tencjalnych radiodagnostyków do obrazowania nowotworów glejaka złośliwego. Badania opierają się na wykorzystaniu w procesie otrzymywania diagnostyków izotopu ^{68}Ga , powszechnie dostępnego w zakładach medycyny nuklearnej.

Projekty realizowane są w ramach finansowania statutowego Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej oraz projektu OPUS Narodowego Centrum Nauki "Radiofarmaceutyki oparte na antagonistach receptora neurokininowego-1 do diagnostyki i terapii nowotworu mózgu – glejaka wielopostaciowego" nr 2017/25/B/NZ7/01896

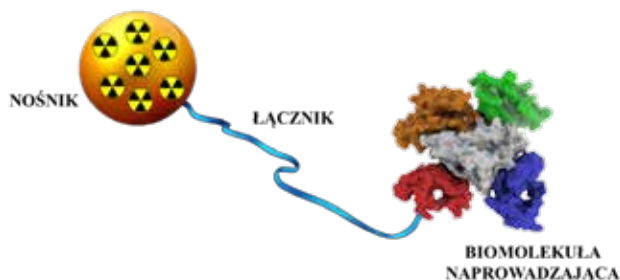
Radiofarmaceutyki terapeutyczne

Choroby nowotworowe obok chorób krążenia obecnie stały się jedną z najczęstszych przyczyn zgonów na świecie. Niestety za ogromnym postępem w diagnostyce chorób nowotworowych nie podąża skuteczne leczenie. W przypadku leków przeciwnowotworowych, aby leczenie było efektywne, lek musi pokonać wszystkie wewnętrzne bariery w organizmie i dotrzeć do komórek nowotworowych, przy minimalnej utracie aktywności w krwioobieg. Ponadto, po dotarciu do chorej tkanki lek powinien selektywnie zniszczyć komórki nowotworowe z jak najmniejszym oddziaływaniem na komórki zdrowe. Nanotechnologia to dziedzina, która może zapewnić jednocześnie skuteczną i bezpieczną terapię przeciwnowotworową.

Obecnie coraz większym zainteresowaniem cieszy się idea celowanej terapii radionuklidowej, polegająca na wykorzystaniu radiofarmaceutyków znakowanych emiterami cząstek α i β . Dużo uwagi poświęca się znalezieniu skutecznego sposobu leczenia rozsznanych guzów nowotworowych we wczesnym stadium rozwoju oraz mikroprzerzutów, sposobu, który w dużej mierze oparty jest na zastosowaniu α emiterów. Cząstki alfa, oprócz krótkiego zasięgu w tkance (tylko kilka pojedynczych komórek, ok. 60 μm) charakteryzują się wysoką wartością liniowego współczynnika przekazu energii (LET = ok. 100 keV/ μm) oraz wysoką radiotoksycznością, która jest związana z powodowaniem dwuniciowych pęknięć łańcucha DNA w jądrze komórkowym. Dzięki zastosowaniu α emiterów w medycynie możliwe jest uzyskanie wysokiej efektywności niszczenia chorobowo zmienionych tkanek z jednoczesną niską szkodliwością dla zdrowych komórek otaczających nowotwór [21]. Z ponad stu radionuklidów, które są emiterami cząstek α , tylko kilka z nich ma właściwości pozwalające na zastosowanie ich w medycynie. Tymi radionuklidami są: ^{212}Bi ($t_{1/2} = 60$ min), ^{213}Bi ($t_{1/2} = 46$ min), ^{211}At ($t_{1/2} = 7$ h), ^{223}Ra ($t_{1/2} = 11,4$ dnia) i ^{225}Ac ($t_{1/2} = 10$ dni).

Jednym z najbardziej obiecujących emiterów α pod względem optymalnych właściwości radioterapeutycznych jest izotop ^{211}At . Jego czas życia wynosi ok. 7 h, co jest wystarczającym czasem na dotarcie leku do celu, jak również istotna cecha — wysoka wartość liniowego przekazu energii LET, świadcząca o dużym efekcie terapeutycznym. Problemem, którego rozwiązanie przyspa-

rza najwięcej trudności w zastosowaniu tego izotopu, jest znalezienie odpowiedniego nośnika z możliwością trwałego i stabilnego przyłączenia go do biomolekuly. W omawianej koncepcji proponujemy wykorzystać bardzo wysokie powinowactwo ciężkich atomów halogenów do atomów złota. Zakładamy, że astat podobnie jak jod będzie tworzył silne wiązania kowalencyjne z powierzchnią metalicznego złota (rys. 2).



Rys. 2. Schemat radiofarmaceutyku z nanocząstką złota

Fig. 2. Scheme of a radiopharmaceutical with a gold nanoparticle (opracowanie własne)

Zaproponowany przez zespół pracowni radiofarmaceutyk według powyższej koncepcji składa się z nanocząstki złota, pełniącej funkcję nośnika izotopu połączonej z biomolekulą naprowadzającą, za pomocą łącznika zawierającego w swoim składzie mostek disiarczkowy. Jako molekuly naprowadzające, wykorzystuje się przeciwciała monoklonalne, białka lub ich fragmenty o wysokim powinowactwie do receptorów obecnych na powierzchni komórek nowotworowych, umożliwiających specyficzne działanie leku.

Atrakcyjnym radionuklidem pod kątem zastosowania w α terapii jest również ^{223}Ra . Jego czas półrozpadu (11,4 dnia) pozwala na efektywne znakowanie nawet dużych przeciwciał monoklonalnych o powolnej farmakokinetyce. Znaczącym atutem ^{223}Ra jest możliwość pozyskiwania go z generatora $^{227}\text{Ac}/^{223}\text{Ra}$ (macierzysty izotop ^{227}Ac może być łatwo otrzymywany w reaktorze w wyniku reakcji $^{226}\text{Ra}(n,\gamma)^{227}\text{Ra}$ i późniejszego rozpadu β^-). Dodatkowo ^{223}Ra , w postaci soli chlorku radu, to obecnie jedyny alfa radiofarmaceutyk komercyjnie dostępny na rynku (Xofigo®, Bayer). Został on zatwierdzony przez Amerykańską Administrację do Spraw Żywności i Leków (FDA – Food and Drug Administration) do leczenia paliatywnego przerzutów nowotworowych do kości. Rad jako pierwiastek z II grupy układu okresowego jest selektywnie absorbowany w kościach przez swoje chemiczne podobieństwo do wapnia.

Niestety ^{223}Ra jako przedstawiciel wapniowców nie tworzy wystarczająco stabilnych związków kompleksowych, co znacznie ogranicza możliwość jego zastosowania w celowanej terapii radionuklidowej z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych. Problem braku związków kompleksujących może rozwiązać zastosowanie nieorganicznych nanocząstek, w których wnętrzu radionuklid ^{223}Ra zostałby „zamknięty”. W Pracowni Syntezy i Badań Radiofarmaceutyków IChTJ przeprowadzane są badania nad syntezą i zasto-

sowaniem nanocząstek ferrytu barowego ($\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$), które pełniłyby funkcję stabilnego nośnika nie tylko dla ^{223}Ra , ale również powstających w wyniku jego rozpadu izotopów pochodnych (^{219}Rn , ^{215}Po , ^{211}Pb , ^{211}Bi , ^{207}Tl , ^{207}Pb). Ponadto, wykorzystanie nanocząstek umożliwi przyłączenie do nich biomolekuł naprowadzających, które zapewniają pożądaną kumulację radiofarmaceutyku w komórkach nowotworowych.

Nanocząstki ferrytu barowego posiadają właściwości magnetyczne, co dodatkowo pozwala na ich zastosowanie w zjawisku hipertermii, która polega na niszczeniu zmian nowotworowych za pomocą temperatury (podgrzanie do 41–43 °C). W takiej terapii wprowadzone do guza magnetyczne nanocząstki poddawane są działaniu zmiennego pola magnetycznego, przez co podgrzewają się, stając lokalnym źródłem ciepła. Poprzez odpowiednio dobraną amplitudę i częstotliwość pola magnetycznego można spowodować lokalne podniesienie temperatury nanocząstek wprowadzonych w miejsce zmiany nowotworowej.

Dzięki zastosowaniu jednoczesnej hipertermii i celowanej α terapii spodziewany jest synergiczny efekt, który zwiększy skuteczność leczenia zmian nowotworowych.

Badania te są finansowane z projektu NCN, OPUS „Radiobiokoniugaty nanocząstek magnetycznych dla jednoczesnej celowanej radioterapii i hipertermii” nr UMO-2016/21/B/ST4/02133 oraz NCN „Nanocząstki złota, siarczku złota pokrytego złotem i tlenku tytanu modyfikowanego tellurem jako nośniki At-211 w celowanej terapii promieniowaniem alfa” nr 2013/11/B/ST4/00516.

Radiofarmaceutyki teranostyczne

Kompleksowym zastosowaniem radiofarmaceutyków jest tzw. terapia teranostyczna. Łączy ona w sobie diagnostykę, leczenie i kontrolę jego postępu przy zastosowaniu radiofarmaceutyków opartych na wybranych parach radionuklidów. Nuklidy te posiadają podobne lub identyczne właściwości chemiczne, lecz są emiternami różnego rodzaju promieniowania. Zbliżone właściwości chemiczne pozwalają na przyłączenie radionuklidów do tego samego typu wektora, dzięki czemu radiofarmaceutyk terapeutyczny i diagnostyczny mają identyczną kinetykę transportu w ludzkim organizmie. Nad tym zagadnieniem trwają intensywne prace na całym świecie, jak i w IChTJ.

Najczęściej proponowane pary teranostycznych radionuklidów to emitery promieniowania β^- jako terapeutyki i β^+ stosowane w celach diagnostycznych. Przykłady takich par zamieszczono w Tabeli 1.

Tabela 1. Przykłady par teranostycznych

Table 1. Examples of teranostic pairs

Radionuklid diagnostyczny	Promienowanie	Radionuklid terapeutyczny	Promienowanie
^{64}Cu	β^+	^{67}Cu	β^-
^{99m}Tc	γ	^{188}Re	β^-
$^{43/44}\text{Sc}$	β^+	^{47}Sc	β^-

W Pracowni Badań i Syntezy Radiofarmaceutyków IChTJ trwają obecnie prace nad jedną parą radiofarmaceutyków teranostycznych, znakowanych radionuklidami ^{43}Sc i ^{47}Sc . Prace te są zaawansowane i skupiają się obecnie na opracowaniu wydajnego sposobu otrzymywania ^{47}Sc , dla którego będzie można zastosować metody nuklidu to reakcja cyklotronowa $^{48}\text{Ca}(p,2n)^{47}\text{Sc}$ [22] oraz generator $^{47}\text{Ca}/^{47}\text{Sc}$, przy czym ^{47}Ca dla generatora jest otrzymywany w reakcji cyklotronowej $^{48}\text{Ca}(p,d)^{47}\text{Ca}$. Dzięki wykorzystaniu tarcz wykonanych z węglanu wapnia, do wydzielania skandu z materiału tarczowego można zastosować wcześniej opisaną metodę filtracyjną.

Badania te są finansowane przez projekt MAEA „Therapeutic radiopharmaceuticals labelled with new emerging radionuclides (^{67}Cu , ^{186}Re , ^{47}Sc)” oraz grantu współfinansowanego MNiSW „Cyklotronowa metoda otrzymywania ^{47}Sc i opracowanie metody jego przyłączenia do przeciwciał monoklonalnych”.

Podsumowanie

Tematyka badań prowadzonych w Pracowni Syntezy i Badań Radiofarmaceutyków od wielu lat jest nakierowana na obecnie panujące w nauce trendy oraz zapotrzebowania płynące ze strony klinicystów. Wszystkie realizowane projekty są odpowiedzią na zapotrzebowanie światowej medycyny nuklearnej, głównie w zakresie diagnostyki i leczenia zmian nowotworowych. Jednocześnie poszukiwane są nowe potencjalne zastosowania radiofarmaceutyków np. obrazowanie infekcji bakteryjnych w zespole stopy cukrzycowej lub zmian zachodzących w mózgu pod wpływem choroby Alzheimera. Nowe kierunki badań pozwolą na dalszy rozwój Pracowni, co w przyszłości może przełożyć się na poprawę warunków leczenia zmian nowotworowych w lokalnych ośrodkach medycyny nuklearnej.

Rafał Walczak,
Paweł Halik,
Weronika Gawęda,
Łucja Dziawer,
Magdalena Gumiel,
Instytut Chemii i Techniki Jądrowej,
Warszawa

Literatura:

- [1] A. Bilewicz, Separation of ^{90}Y from ^{90}Sr on crystalline antimonite acid, *Radiochim. Acta*, 69, 137-140
- [2] B. Bartoś, A. Bilewicz, Separation of In^{3+} from Cd^{2+} on crystalline antimonite acid. ^{115}Cd - $^{115\text{m}}\text{In}$ generator, (1995) *J. Radioanal. Nucl. Chem. Lett.*, 201, 89-96
- [3] B. Bartoś, A. Bilewicz, R. Delmas, C. Neskovic, Synthesis and ion exchange properties of various forms of manganese dioxide for cations of the I and II groups, (1997), *Solv. Extr. Ion Exch.*, 15, 533-546
- [4] M. Gumiel, J. Dudek, A. Bilewicz, New precipitation method for isolation of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ from irradiated ^{100}Mo target, (2016), *J. Radioanal. Nucl.*, 310, 1061-1067
- [5] M. Pruszyński, A. Bilewicz, M.R. Zalutsky Preparation of $\text{Rh}[16\text{aneS4-diol}]^{211}\text{At}$ and $\text{Ir}[16\text{aneS4-diol}]^{211}\text{At}$ Complexes as Potential Precursors for Astatine Radiopharmaceuticals. Part I: Synthesis, (2008), *Bioconjugate Chem.*, 19, 958-965
- [6] A. Bilewicz, R. Walczak, A. Majkowska-Pilip, Sposób otrzymywania diagnostycznej ilości radionuklidu ^{43}Sc (P-415874).
- [7] A. Piotrowska, E. Leszczuk, F. Bruchertseifer, A. Morgenstern, A. Bilewicz, Functionalized NaA nanozeolites labeled with $^{224,225}\text{Ra}$ for targeted alpha therapy, (2013), *J. Nanopart. Res.*, 15, 2082
- [8] Ł. Dziawer, P. Koźmiński, S. Męczyńska-Wielgosz, M. Pruszyński, M. Łyczko, B. Wąs, G. Celichowski, J. Grobelny, J. Jastrzębski and A. Bilewicz, Gold nanoparticle bioconjugates labelled with ^{211}At for targeted alpha therapy (2017), *RSC Adv.*, 7, 41024-41032
- [9] J. L. Parus, R. Mikołajczak, Kryzys w produkcji $^{99\text{m}}\text{Mo}$ -przebieg sytuacji światowej i w Polsce, (2010), *PTJ*, 3, 30-34
- [10] E. Deutsch, K. Libson, Recent Advances in Technetium Chemistry: Bridging Inorganic Chemistry and Nuclear Medicine, (1984), *Comments Inorg. Chem.*, 3, 83-103
- [11] M. J. Clarke, L. Podbielski, Medical Diagnostic Imaging with Complexes of $^{99\text{m}}\text{Tc}$, (1987), *Coord. Chem. Rev.*, 78, 253-331
- [12] K. Samochocka, Radiochemia w medycynie nuklearnej: radiofarmaceutyki, (1999), *Wiadomości Chemiczne*, 53, 661-699
- [13] <https://www.nature.com/news/reactor-shutdown-threatens-world-s-medical-isotope-supply-1.20577>, odczyt na dzień 13.04.2018
- [14] J. L. Parus, R. Mikołajczak, Produkcja technetu-99m w cyklotronach medycznych (alternatywne metody produkcji technetu-99m), (2014), *PTJ*, 3, 19-22
- [15] I. E. Beaver, H.B. Hupf, Production of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ on a medical cyclotron; a feasibility study, (1971), *Journal of Nuclear Medicine*, 12, 739-741
- [16] B. Guérin, S. Tremblay, S. Rodrigue, J. A. Rousseau, V. Dumulon-Perreault, R. Lecomte, J. E. van Lier, A. Zyuzin, E. J. van Lier, Cyclotron production of $^{99\text{m}}\text{Tc}$: An Approach to the medical Isotope Crisis, (2010), *J Nucl Med.*, 51, 13N-16N
- [17] A. Celler, X. Hou, F. Bénard, T. Ruth, Theoretical modeling of yields for proton-induced reactions on natural and enriched molybdenum targets. (2011), *Phys Med Biol.*, 56, 5469-5484
- [18] X. Hou, A. Celler, J. Grimes, F. Bénard, T. Ruth. Theoretical dosimetry estimations for radioisotopes produced by proton-induced reactions on natural and enriched molybdenum targets, (2011), *Phys Med Biol.*, 56, 5469-5484
- [19] Lebeda O., Pruszyński M., (2010) New measurement of excitation functions for (p,x) reactions on natMo with special regard to the formation of $^{95\text{m}}\text{Tc}$, $^{96\text{m}+g}\text{Tc}$, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ and ^{99}Mo , *Appl. Radiat. Isot.*, 68, 2355-2365
- [20] Walczak, R., Krajewski, S., Szkliniarz, K., Sitarz, M., Abbas, K., Choiniński, J., Jakubowski A., Jastrzębski J., Majkowska A., Simonelli F., Stolarz A., Trzcińska A., Zipper W., Bilewicz, A. (2015), Cyclotron production of ^{43}Sc for PET imaging. *EJNMMI Physics*, 2, 33. <http://doi.org/10.1186/s40658-015-0136-x> 2, 33.
- [21] M.R. Zalutsky, D.A. Reardon, O. R. Pozzi, G. Vaidyanathan, D.D. Bigner, *Nucl.* (2007) Targeted alpha-particle radiotherapy with ^{211}At -labeled monoclonal antibodies, *Med. Biol.* 2007, 34, 779-785.
- [22] R. Misiak, R. Walczak, B. Wąs, M. Bartyzel, J. W. Mieliski, A. Bilewicz, (2017) ^{47}Sc production development by cyclotron irradiation of ^{48}Ca , *J Radioanal Nucl Chem*, 2017, 313, 429-434